

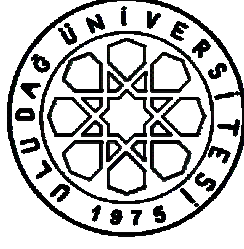
T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

**BURSA BÖLGESİNDEKİ SÜT SIĞIRI İŞLETMELERİNDE MASTİTİSE KARŞI  
HIPRAMASTIVAC İLE AŞILAMANIN PROFİLAKTİK ETKİSİ**

**Abdülkadir KESKİN**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2005**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

**BURSA BÖLGESİNDEKİ SÜT SIĞIRI İŞLETMELERİNDE MASTİTİSE KARŞI  
HIPRAMASTIVAC İLE AŞILAMANIN PROFİLAKTİK ETKİSİ**

**Abdülkadir KESKİN**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Danışman: Doç. Dr. Kamil SEYREK-İNTAŞ**

**Bursa-2005**

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
BULGULAR.....	34
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	58
EK.....	69
KAYNAKLAR.....	70
TEŞEKKÜR.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	79

## ÖZET

Çalışmada polivalan bir mastitis aşısının (Hipramastivac®) saha şartlarında etkinliğinin araştırılması amaçlandı. Daha önce aşı uygulanmamış dört farklı işletmedeki 218 adet sağmal süt sığırı iki gruba ayrılarak aşı (n: 111) ve kontrol grupları (n: 107) oluşturuldu. Çalışma başlangıcında ineklerin bireysel Somatik Hücre Sayıları (SHS), California Mastitis Test (CMT) bulguları ve klinik mastitis vakaları belirlendi. Aşılama sonrası hayvanlar altı ay boyunca takip edilerek yukardaki bulgular yönünden aylık periyotlarda muayene edildi. CMT(+3) ve klinik mastitisli meme loblarından bakteriyolojik incelemeler için süt numuneleri alındı. Çalışma sonunda aşı grubunun somatik hücre sayısı ve CMT'ne göre subklinik mastitis oranı kontrol grubuna göre bir miktar düşük olmakla birlikte, gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemsiz bulundu ( $P>0,05$ ). Aşı grubunda toplam klinik mastitis %26,1, kontrol grubunda %18,7 olarak saptandı. Ancak gruplar arasındaki fark önemsiz bulundu ( $P>0,05$ ). CMT(+3) pozitif meme loplardan alınan süt numunelerinde aşı ve kontrol grubunda sırasıyla %11,5 ve %15,6 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) belirlendi. Tek kültür ve miks enfeksiyonlar şeklinde memede saptanan toplam *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) enfeksiyonu aşı grubunda %6,0 kontrol grubunda %4,3 olarak saptandı. Toplam Koagulaz Negatif Stafilokok (KNS) enfeksiyonu kontrol grubunda %6,2 aşı grubunda %9 olarak tespit edildi. Ancak *S. aureus*, *S. uberis* ve KNS enfeksiyonu bakımından gruplar arasında fark belirlenemedi. Aşının diğer komponentlerinin ilgili diğer bakterilere karşı koruma sağlayıp sağlamadığı değerlendirilemedi. Sonuç olarak; aşı grubunda meydana gelen klinik mastitislerin yangı derecesinin daha az ve iyileşme sürecinin daha hızlı olduğu kanısı uyanmakla birlikte, kullanılan polivalan mastitis aşısının mastitise karşı istenen düzeyde etkili olmadığı kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** İnek, mastitis, aşılama

## SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the efficacy of a commercial polyvalent mastitis vaccine (Hipramastivac®) under field conditions. In four different dairy farms, 218 dairy cattle that previously received any mastitis vaccine, were separated into vaccine (n: 111) and control groups (n: 107). In the beginning of the study, individual Somatic Cell Count (SCC) and California Mastitis Tests (CMT) scores of animals and clinical mastitis cases were detected. After vaccination, animals were examined monthly for clinical findings mentioned above during six months. Milk samples were taken from udder quarters with CMT (+3) scores and clinical mastitis for bacteriological examination. At the end of the study, although subclinical mastitis according to SCC and CMT scores of vaccine group was lower than the control group, this was not statistically ( $P>0,05$ ). Clinical mastitis was found to be at the rate of %26,1 and %18,7 in the vaccine and control groups. This difference was not also significant ( $P>0,05$ ). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was isolated at the percentage of 11,5 and 15,6 in the vaccine and control groups, respectively, from milk samples of udder quarters with CMT (+3) scores. *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) in as pure culture and mix culture were detected from the vaccine and control groups as %6,0 and %4,3 respectively. Total *Coagulase Negative Staphylococcus* (CNS) infection were diagnosed in the vaccine and control groups as %9 and %6, respectively. This differences was not also significant between groups considering *S. aureus*, *S. uberis* and CNS infection. It was not evaluated whether to ensure the protection against to bacteria related to other vaccine components. However, clinical mastitis that occurred in vaccine group seem to be had fewer inflammation degree and more rapid recovery period. It was concluded that polyvalent mastitis vaccine has not enough effective against mastitis.

**Key words:** Cow, mastitis, vaccination

## GİRİŞ

Uzun yıllardır mastitisin kontrolünde bir çok yöntem ve programlar geliştirilmesine rağmen, mastitis hala süt inekçiliğini ve endüstrisini tehdit eden en önemli hastalıktır (1-4). Bu yüzyılın başında mastitise karşı meme savunma sistemi hakkında yeni bilgilerin edinilmesiyle birlikte, meme savunma sisteminin güçlendirilmesinin, mastitisi önlemede ve insidensini azaltmada önemli bir rol oynayacağı belirlenmiştir. Savunma sisteminin güçlendirilmesi, meme bezine patojenlerin yerleşmesini engelleyebildiği gibi enfeksiyon şekillenmiş meme bezinde yangının şiddeti ve iyileşme süreleri üzerine önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır (5-11).

Süt sığırlarında mastitise karşı aşılama ile kan ve sütte antikor düzeylerinin artırılması ve bu titrenin devamlılığını sağlayarak meme patojenlerine karşı immun tepki oluşturulması amaçlanmaktadır (5-61). Aşı antijenine karşı oluşan antikorlar meme bezindeki nötrofil ve makrofajlar tarafından yapılan fagositozda opsonin olarak rol oynarlar. Ayrıca bakterilerin adezyon faktörlerinin ve üretilen toksinlerin nötralize edilmesini sağlayarak, meme bezi savunma sistemine yardımcı olurlar (5, 7, 14-16, 18, 19, 22, 34-41, 43, 49). 1900'lerde koyun, keçi ve ineklerde mastitise karşı başlayan aşılama çalışmalarında çoğunlukla istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Bunda sütte yüksek titrede antikor oluşturmadaki başarısızlık, aşılama yöntemlerinin uygulanmasındaki eksiklikler ve tecrübesizlikler, meme bezi immunolojisi ve bakterilerin spesifik immunolojik virulens faktörleri hakkındaki bilgi eksikliği etkili olmuştur (5, 10, 13, 65). Fakat son yirmi yıl içerisinde meme bezi immunolojisi ve bakterilerin spesifik immunolojik yapıları hakkında daha geniş bilgiye sahip olunmasıyla birlikte daha etkili aşılar geliştirilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda aşı içeriği de değişmiştir. Aşı antijeni olarak sadece hücresel komponentler değil aynı zamanda eksopolisakkaritler, toksinler ( $\alpha$  toksin,  $\beta$  toksin, protein A, lipopolisakkarit, protein X), adezyon molekülleri kullanılmaya başlanılmıştır. Aşı antijeniyle beraber adjuvantlar da (dekstran sülfat, Freud complete ve incomplete adjuvantı, sitokinler) aşı içeriğine ilave edilmektedir (10, 17-19, 21, 34-36, 38-41, 43). Ancak geliştirilen bir çok aşıya rağmen hala tam olarak arzu edilen sonuçlar elde edilememiştir. Neden olarak, mastitise yol açan patojenlerin ve onlara ait virulens faktörlerinin sayısının çok fazla olması, mikroorganizmaların farklı suşlarının mevcudiyeti ve bakterilerin heterojenik bir yapıya sahip olmaları gösterilmektedir. Çoğu bakteri türlerinin immunolojik yönden çok farklı suşları bulunmaktadır (13, 31, 62, 63).

Aşılamalar genellikle *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) ve *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi mastitise yol açan major mastitis ajanlarına karşı yapılmıştır. Özellikle üzerinde durulan mikroorganizma türü *S. aureus*'tur. *S. aureus*'un yol açtığı hem klinik hem de subklinik mastitis, sütçü sürülerde en önemli problemdir (1-4, 6, 15, 16, 64). Bazı araştırmacılar *S. aureus* aşısı ile aşılamayı takiben meme içi *S. aureus* enfeksiyonunun prevalansını kontrol grubuna göre daha az tespit ederken (6), bazıları da aşılama sonrası şekillenen klinik mastitisin yangısal şiddetini aşılamayla azaltıldığını belirlemişlerdir (10, 15). Başka bir çalışmada, uygulanan aşının sadece aşı içeriğindeki antijene karşı değil aynı zamanda *S. aureus*'un yaygın patojenik suşlarına karşı bir koruma sağladığı bildirilmektedir. Kullanılan aşıyla deneysel enfeksiyon sonrasında *S. aureus*'a karşı aşı %70'lik bir koruma sağlandığı ve yangısal reaksiyonun şiddetinin de azaltıldığı belirlenmiştir (11).

Diğer bakterilere nazaran koliformlara karşı yapılan aşılamalarda hem deneysel hem de saha çalışmalarında olumlu sonuçlar alınmaktadır. Koliform mastitislerin klinik semptomlarının şiddeti *E. coli* J5 aşısı ile azaltılabilmektedir. *E. coli*'ye karşı üretilmiş olan Bakterin J5 mastitis aşısı sadece *E. coli*'ye değil, aynı zamanda diğer koliform bakterilere karşı da etkilidir. Bakterin J5 içerisindeki *E. coli* Rough (Rc) mutant bir *E. coli* suşudur. J5 aşılama sonucunda, antikolar hücre duvarındaki lipid A ve bazı yaygın core polisakkaritler içeren core antijenlere karşı üretilirler. Core antijenik yapılar Gram negatif bakteriler arasında aynı antijenik yapıya sahiptir ve buda koliformlar arasında çapraz bir bağışıklığın oluşmasına neden olmaktadır (23, 24, 28, 49, 51). J5'e karşı üretilen antikolar hem bakteriyi opsonize ederken aynı zamanda lipopolisakkariti nötralize etmektedirler (54). Bir saha çalışmasında, kuru dönemde *E. coli* J5 ile aşılamının inekleri doğum sırasında meme içi *E. coli* enfeksiyonundan ve klinik koliform mastitisten koruyamadığı saptanmıştır. Ancak şekillenen klinik mastitisin klinik formunun kontrol grubuna göre daha az olduğu ve iyileşme sürecinin daha kısa olduğu belirlenmiştir (49).

Çalışmamızda literatürlerde özellikle aşının saha şartlarında denenen çalışmalardaki karşıt görüşler göz önünde bulundurularak ülkemizde aşının saha etkinliği araştırılması planlanmıştır (6, 15, 16, 42-44, 63). Türkiye'de mastitise karşı üretilen bir aşı bulunmamaktadır. Kullanılan aşılar yurt dışında üretilmekte ve Türkiye'ye ithal edilmektedir. Aşı içeriğindeki antijenler aşının üretildiği ülkedeki klinik ve subklinik mastitis vakalarından izole edilen mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Bu yüzden aşı antijeni üretilen ülkeye, bölgeye hatta sürüye spesifik olacaktır (43, 44, 48). Yapılan bazı çalışmalarda sürüden izole edilerek yapılan aşılarla bile olumlu sonuçlar alınmamaktadır.

Örneğin düveler ve inekler üzerinde *S. aureus*'a karşı yapılan iki farklı sürüye spesifik aşı ile yapılan çalışmada kontrol ve aşı grupları arasında klinik mastitis oranı, SHS ve memede *S. aureus* enfeksiyonu yönünden bir fark tespit edilememiştir. Yazarlar buldukları sonuçlarla sürüye spesifik aşı uygulamalarının mastitise karşı bir koruma sağlamadığını vurgulamaktadırlar (43, 44). Ancak yine başka bir sürü spesifik aşı çalışmasında, aşı uygulamasından sonra *S. aureus*'la enfekte meme loblarının iyileşme oranı %27 olarak belirlenirken, kontrol grubu hayvanlarda bu oran %5 civarında saptanılmıştır (48). Bu veriler sürü spesifik aşının etkinliği hususunda çelişkiler doğurmaktadır. Bu sonuçlar ithal edilen aşuların uygulanmasından sonra aşuların koruma etkinliğinin olup olmayacağı konusunda önemli soru işaretleri oluşturmaktadır.

Bugüne kadar bilimsel olarak çalışılan aşuların çoğunluğu tek bir bakteri ve bu bakteriye ait toksin, hücre komponenti veya virulens faktörünü içeren aşılardır (7-12, 14-19, 21-45, 47-51, 65-67). Hipramastivac gibi içeriğinde birden fazla bakteri içeren aşular üzerindeki çalışmalar oldukça kısıtlıdır (6, 46, 63). Bu tür aşuların farklı yürütme ve yönetime sahip işletmelerde koruma etkinliği tam olarak belirlenememiştir. Çalışmamızda İspanya'da üretilip Türkiye'ye ithal edilen kombine bir aşının (Hipramastivac®) dört farklı işletmede, farklı yönetim ve farklı sağımlarına sahip işletmelerde etkinliği araştırılmıştır. Kombine bir aşı, mastitise neden olan bakterilerin sayısının fazla olmasından dolayı tercih edilmiştir. Aynı zamanda Hipramastivac'ın seçiminde; Türkiye'de ticari olarak piyasada olması ve bölgemizde yaygın bir şekilde kullanılması göz önünde bulundurulmuştur. Aşı içeriğinde inaktive edilmiş *E. coli*, *S. aureus* (*S. aureus*'un TC5 ve TC8 suşları), *Staphylococcus pyogenes* (*S. pyogenes*), *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactia* (*S. dysgalactiae*), *S. uberis*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Arconabacterium pyogenes* (*A. pyogenes*) antijenleri vardır.

Bu çalışmada polivalan bir mastitis aşısının (Hipramastivac®) saha şartlarında etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Daha önce aşı uygulanmamış dört adet ticari işletmede hayvanlar aşı ve kontrol grubuna ayrılarak 6 ay boyunca takip edilmiş, aşı ve kontrol grupları arasında SHS, CMT bulguları, klinik mastitis sıklığı ve bakteriyolojik bulgular karşılaştırılarak aşı etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mastitis

Süt ineği yetiştiriciliğinin temel sorunlarından biri olan mastitis, süt ineklerinde meydana getirdiği verim düşüklüğü, sütün kalitesindeki değer kaybı, sütün satış değerindeki azalma, ilaç ve tedavi giderleri, mastitisli hayvanların elden çıkarılması nedeniyle ekonomik kayıplara yol açan bir hastalıktır (1-4). Mastitis dünyada üretim kaybına neden olan hastalıklar içerisinde ise % 38'lik bir yere sahiptir (69).

Bir işletmenin hayvanları muayene edildiğinde, her yüz hayvanın 2-4'ünde klinik mastitis görülmesinin normal olduğu bildirilmektedir (1-3). Gelişmiş ülkelerde klinik mastitisin bir yılda her yüz inekte en fazla 25'inde karşılaşılabildiği kabul edilmektedir. Bu sayının 15'e indirilmesi hedef gösterilmektedir. Düşük Somatik Hücre Sayısı'na (SHS) sahip, yüksek süt verimli ve iyi bir bakım-beslenme düzeyine sahip sürülerde klinik mastitis düzeyi oldukça yüksek seviyede görülebilmektedir (70, 71). Klinik mastitislerin işletmeye maliyeti beklenildiğinden daha fazla olmaktadır. Örneğin orta şiddette tek bir meme lobunun etkilendiği klinik mastitiste maliyet 35 sterlin, birden fazla meme lobunun etkilendiği şiddetli klinik mastitislerde 260 sterlin olurken ölümle sonuçlanan klinik mastitis vakalarında ise maliyetin 1000 sterlinden daha fazla olduğu bildirilmektedir. Ortalama inek başına klinik mastitisin maliyetinin 70-90 sterlin olduğu belirtilmektedir (72). Bu kayıpları üretimin azalması, tedavi süresince sütün kullanılmaması, fazladan iş gücü, tedavi ve veteriner hekim masrafları ile hayvanın mastitisten ölmesi oluşturmaktadır (1-4, 72).

Subklinik mastitis, sütte artan SHS ve mikroorganizma varlığı ile tanımlanır (70) ve meme loplarda %3-26 oranında süt kaybına sebep olur (1). Subklinik mastitisler zamanla klinik forma dönüşebilir. Hayvan damızlık değerini kaybeder ve bu sebeple maddi değeri azalır. Subklinik mastitis memede ve sütte gözle fark edilebilen bir değişiklik oluşturmadığından teşhisi konulup kısa sürede hijyenik önlemler alınmaması halinde inekler arasında çok çabuk yayılırlar ve bu nedenle subklinik mastitis bireysel problem olmaktan daha çok bir sürü problemi olarak karşımıza çıkar (73). Bireysel olarak sağlıklı inekte meme loplardaki ortalama SHS'sı 200 000 hücre/ml olarak kabul edilmektedir. Süt Toplama Tankı Somatik Hücre Sayısı da (STTSHS) sürü için subklinik mastitis durumunu gösterir. Avrupa için STTSHS'sı 400 000 hücre/ml normal kabul

edilirken, bu rakam Kanada için 500 000 hücre/ml'dir (70). Türk gıda kodeksinde göre ise, çiğ sütteki hücre miktarı 500 000 hücre/ml'den aşağı olmalıdır (74).

### 2.1.1. Etiyoloji

Süt sığırlarını mastitise karşı duyarlı hale getiren çeşitli faktörler vardır. Bunlar hayvana bağlı faktörler, etiyolojik ajanlar ve çevre faktörleri olarak üç grupta toplanırlar. Bu üç gruptaki faktörler birbiriyle etkileşerek mastitisi meydana getirirler (1-4, 70, 75).

İrk, yaş, laktasyon dönemi, süt verimi, memenin yapısı gibi faktörler hayvana bağlı olan faktörlerdir (1-4, 64, 76-78). Diğer etiyolojik faktör ise, hayvanın bulunduğu çevredir. Sütçü işletmelerde ahır ve barınakların yapısı, büyüklüğü, şekli, yataklık olarak kullanılan maddelerin tipleri, havalandırma, ışıklandırma memeleri bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlı kılan faktörlerdendir. Bakım koşullarının yetersizliği meme bezi savunmasının azalmasına neden olmaktadır. Barındırma koşullarının mastitis oluşumunda %25 oranında etkili olduğu bildirilmektedir (75). Dışkı ve idrarla kontamine sığır altlıklarında *E. coli* ve *S. uberis* oldukça yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Hayvanın dinlenmek için yattığı zamanlarda meme bezi bakterilerle direkt olarak temas halindedir (79). Serbest sistemde (beton zemin) atlık kullanılmadan ineklerin %20'sinde, atlık kullanıldığı takdirde sadece %8' inde mastitis görülmüştür. Bağlamalı durak sisteminde de atlık kullanılmakla mastitis sıklığı %30 oranında düşürülmüştür (2).

Mastitislerin en önemli yapıcı nedeni mikroorganizmalardır. Mastitisi genellikle bakteriler meydana getirmesine rağmen bazen mantarlar, mayalar ve viruslar da hastalığın oluşumunda rol oynarlar. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda mastitis etkeni olarak yaklaşık iki yüz kadar mikroorganizma tespit edilmiştir (24, 62). Son yirmi yılda mastitis etkenlerinin epidemiyolojileri değişmiştir. *S. agalactiae*' nın prevalansı azalırken *S. aureus*, çevresel patojenler (Koliformlar ve *S. uberis* v.b.) ve Koagulaz Negatif Stafilokokların prevalansında artma görülmektedir. Bununla birlikte mastitislerin %95'ini *S. aureus*, *E. coli*, *S. uberis*, *S. agalactia*, *S. dysgalactiae*, *Mycoplasma bovis* ve *A. pyogenes* oluşturmaktadır. Farklı mevsimler ve değişik yetiştirme şartlarında yapılan çalışmalara göre Gram pozitif bakteriler ilk sırayı almakta ve özellikle mastitislerin % 60-80'ini *S. aureus* tek başına oluşturmaktadır (62). Koagulaz negatif stafilokoklar (*S. capitis*, *S. simülans*, *S. coheni*, *S. caprae*, *S. chromogenes*, *S. saprofiticus*, *S. epidermis*, *S. warnei* ve *S. caseolyticus*), *Pseudomonas* ve *Proteus* türleri uygun olmayan şartlarda daha çok subklinik enfeksiyon yaparlar (62).

### 2.1.2. Mastitis Tedavisi

Mastitis tedavisinde antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmasından bu yana, mastitis insidensinde hemen hemen hiçbir gerileme olmamıştır. Örneğin *S. aureus* mastitislerinde yapılan antibiyotik tedavisinde bakteriyolojik olarak iyileşme şansı bazen %15'in altında kalabilmektedir (79). Mastitis tedavisinde başarıyı, mastitislerin çoklu bir etiyolojiye sahip olması kısıtlamaktadır. Ayrıca mevcut antibiyotiklere dirençli hale gelen suşların oranındaki süratli artışı, uygun antibiyotiğin seçimindeki hatalar, ilaçların uygun yol ve dozda verilmemesi, memede şekillenen bozukluklar nedeniyle ilacın bez doku içerisinde gerekli noktalara ulaşmaması gibi nedenlerle sağaltımda yeterince sonuç alınmamaktadır (1, 2, 4). Ayrıca mastitisin bazı formlarında antibiyotik etkinliğinin zayıf olması daha kötü durumlara yol açabilmektedir. Antibiyotik ve taşıt maddeleri direkt olarak meme savunma sisteminin en önemli unsuru olan fagositik hücre fonksiyonlarını inhibe ederler. Yapılan antibiyotik tedavisi yalnızca süt içerisindeki mevcut bakterileri öldürürken intrasellüler bakterilere karşı etkisiz kalabilmektedir. Örneğin *S. aureus* gibi nötrofil içerisinde yaşamını sürdüren bakterilere karşı antibiyotikler etkisiz kalabildiği gibi, nötrofillerin'de fagositik fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir. Fagositer hücre içinde antibiyotik etkisinden kurtulan bakteriler mastitis için sürekli bir rezervuar olmaktadır (57, 80, 81).

Tedavi seçeneğini kısıtlayan bu gibi faktörlerden dolayı mastitise karşı yeni uygulamalar geliştirilmiştir. Bunlar; mastitise karşı koruma ve kontrol programlarıdır (2, 78). İyi bir mastitis kontrol programı 3 temel noktayı kapsamaktadır. Bunlar, mevcut enfeksiyonların eliminasyonu, yeni enfeksiyonlardan koruma, meme sağlığı durumunun izlenmesidir (4, 78). Koruma ve kontrol programlarındaki pratik uygulamalar ise şunlardır; uygun bir sağım yönteminin kullanılması; sağım ekipmanlarının yapımının fonksiyon ve bakımının düzenli olması, sağım kurallarına uygun bir sağım prosedürü, kuru döneme geçişte ineklerin kontrolü ve sağaltımı; laktasyon döneminde etkin mastitis tedavisi ve tedaviye cevap vermeyen kronik enfekte hayvanların sürüden çıkartılmasıdır (57, 78, 80). Örneğin sağım öncesi meme hijyeni çevresel bakterilerin kontrolünde etkili olurken, sağım sonrası meme hijyeni bulaşıcı mikroorganizmaların kontrolünde etkili olmaktadır ve sağım sonrası yapılan teat-dipping meme enfeksiyonlarını % 50 oranında azaltabilmektedir (68). Kuru dönem tedavisi ile mevcut olan enfeksiyonlar %70-80 oranında elimine edilmekte ve yeni enfeksiyon rastlantılarını da %50-75 oranında azalmaktadır (78). Ayrıca *S. aureus* gibi kronik enfekte inekler ile *Pseudomonas*, *Mycoplasma* ve *Nocardia* saptanan ineklerin sürüden uzaklaştırılması sürü sağlığı

açısından önemlidir (4). Diğer taraftan koruma ve kontrol programları ile kaydedilen önemli aşamalara karşın süt sığırı yetiştiriciliğinde mastitis hala önemini korumaktadır.

## **2.2. Meme Dokusunun Savunma Mekanizmaları**

Meme bezi anatomik, kimyasal, hücresel ve humoral savunma faktörlerini ihtiva eden primer ve sekonder savunma mekanizmaları tarafından korunur. Primer savunma mekanizmaları patojenlerin meme başı kanalından meme bezine girişini engellerler. Sekonder savunma mekanizmaları, meme bezi içerisinde yer alan kimyasal, hücresel ve immünolojik öğeleri içeren kompleks bir sistemdir. Primer savunma engelini geçerek meme içerisine giren patojenlerin yok edilmesi görevini üstlenirler (82 ).

Meme bezi savunma sistemi immünolojik açıdan doğal ve spesifik immunité olmak üzere 2 bölümde incelenmektedir (62, 68, 75-77, 83-85).

Doğal immunité non-spesifik tepki olarak da bilinir. Enfeksiyonun erken zamanlarında predominant savunmadır. Non-spesifik tepki hazırdır ve enfeksiyon bölgesine hızlı bir şekilde aktive olur, bununla birlikte tekrar aynı antijenle karşılaşıldığı da bağışıklık artmaz ve bu tepki aynı seviyededir. Bundan dolayı bir anımsama mekanizmasına sahip değildir. Doğal savunma mekanizması elemanları; meme başı kanalının fiziksel bariyeri, makrofajlar, nötrofiller, doğal öldürücüler (NK) ve belirli eriyebilir maddelerdir (77, 84, 86).

Buna karşın edinilmiş veya spesifik immun sistem, antijenlerin seçici eliminasyonunu yapan, onlara karşın spesifik antikor ve/veya T hücre klonları üretebilen ve antijenle tekrar karşılaşıldığında verilen immun tepkinin artacağı bir savunma sistemidir (76, 84, 86, 87). Patojenik ajanların tanınmasında antikorlar, makrofajlar ve çeşitli lenfoid populasyonları birbirlerine bağlı olarak hareket ederler. Belirli anı lenfositleri sayesinde spesifik immunité patojenin tekrar girmesiyle immun tepkiyi artırır. Meme bezinde hem doğal hem de spesifik savunma faktörleri mastitiste karşın koruma sağlayabilmek için koordineli çalışmaktadır (84, 86).

### **2.2.1. Anatomik Savunma**

Mikroorganizmalar meme bezine girebilmek için ductus papillarisini geçmek zorundadırlar. Bu nedenle meme başı kanalı bakterilerin memeye girmesini engelleyen fiziksel bir bariyerdir (68, 75, 85). Meme başının dilate olduğu durumlarda, ascendes enfeksiyon riski artmaktadır. Özellikle sağımı izleyen 2 saat içerisinde, meme başı kanalı

kısmen açıktır. Bu dönem enfeksiyon için kritik dönem olması itibarıyla, sağım sonrası teat-dipping uygulamaları, enfeksiyon riskini azaltmaktadır (4, 85).

Normal ve fonksiyonel durumdaki ductus papillaris kısmen veya tamamen keratin ile kaplıdır (68, 75). Keratinin birikmesi bakterilerin meme bezine girmesini engelleyecek tarzda meme başı kanalını tıkar, özellikle kuru dönemde tam bir tıkanıklık sağlar (77). Bu madde ductus papillarisini oluşturan çok katlı epitel tarafından üretilir. Keratin, mekanik olarak bir engel oluşturmasının yanında bakteriyostatik özellikte lipid ve proteinleri de içerir. Mystrik asit, palmitoleik asit, linoleik asit gibi esterleşmiş ve esterleşmemiş yağ asitleri meme keratini içinde bulunmakta ve bunlar bakteriyostatik olarak görev yapmaktadır (85). Meme başı kanalındaki keratinin bozulması halinde meme içi enfeksiyonlara direnç azalır. Doğuma yakın zamanda memede artan kolostrum ve süt miktarı meme içerisindeki basıncı artırır. Bu basınçtan dolayı meme başı dilate olur ve meme sekresyonu sızabilir, mastitis insidensi artar (68, 77, 85, 88).

Ayrıca bakteri hücre duvarının değişmesine ve bunların osmotik basınca daha duyarlı hale gelmesine neden olan meme başındaki düşük molekülü ubiquitin gibi katyonik proteinler, fizyolojik pH değerinde, pozitif elektrik yüküne sahiptir ve aynı pH değerindeki negatif yüklü mastitis patojenlerini elektostatik olarak bağlar. Değişen osmotik basınç bakterilerin ölümüne sebep olur (76, 85). Bu proteinler özellikle *S. aureus* ve *S. agalactiae* gibi bakterilerin lizisinde önemli rol oynar (85).

Meme başı kanalı, sağımlar arasında sıkı kapanmayı sağlayan ve bakterilerin meme bezine girişini engelleyen sfinkter kaslarını içerir. Sfinkter kaslarında gevşeme yada bir yaralanma memede mastitis riskini artırır (2-4).

Ductus papillaris'in meme başı sinusuna açıldığı bölgede yer alan ve meme başı kanalını kapayarak mikroorganizmaların girişini engelleyen Fursternberg rozeti diğer bir önemli anatomik yapıdır. Fursternberg rozetini oluşturan mukoza uzantılarının hemen altında yer alan nodüler lenfoid doku meme başı savunmasında önemli bir rol oynar. Yine sağım sırasında sütün, ductus papillaris'i yıkaması da mikroorganizmaların eliminasyonu yönünden olumlu bir faktördür (4, 88).

### **2.2.2. Hücresel Savunma**

Memenin hücresel savunma hattını nötrofiller, makrofajlar, lenfositler ve doğal öldürücü hücreler oluşturur. Bu hücreler kemik iliğinde üretilirler, meme alveollerine ve meme başı kanallarına yerleşirler (75). Hücresel savunmanın en önemli fonksiyonu fagositozdur. Fagositoz, memenin birincil savunma mekanizmasıdır ve fagositik hücreler

tarafından; bakteri, nekrotik doku ve tümör hücreleri gibi yabancı partiküllerin tanınma, yutulma ve sindirilme sürecidir. Nötrofiller ve makrofajlar, sütteki hücrelerin %80-90'ını oluşturan temel fagositlerdir (76, 89).

Nötrofiller tarafından yapılan fagositoz bakteriyel enfeksiyonlara karşı memenin en etkili savunmasıdır. Fagositoz şekillenmesi için nötrofillerin bakterileri tanınmasında komplement komponentleri ve antikorlar önemli rol oynar. Bakteriler nötrofillerin yüzeyine tutunduğu zaman hidroksil radikalleri, superoksit, hidrojen peroksit gibi güçlü oksidantlar serbest bırakılarak bakteriler sindirilirler. Bu güçlü oksidantlar sadece bakteri değil aynı zamanda çevredeki dokuya da zarar verirler. Sindirme işleminden ve kimyasalların serbest bırakılmasından sonra görevlerini tamamlayan nötrofiller ölürler. Yangıda bir sonraki aşama damar endotellerindeki porlardan makrofajların yangı bölgesine göç etmesidir (76, 90). Fagositoz sırasında bakteriler peroksidaz, lizozim, çeşitli hidrolitik enzimler ve laktoferrin gibi bir çok oksijene bağlı olmayan reaktantlarla öldürülürler. Fagositik yeteneklerine ek olarak nötrofiller mastitise neden olan çok sayıda patojenleri öldürebilen küçük antibakteriyel peptidleri ve defensinleri de üretebilmektedir (76, 89).

Nötrofillerin yüzeyinde oldukça fazla fonksiyonel reseptörler mevcuttur. Nötrofillerin epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan ve bunlar arasında göçü kolaylaştıran L-selektin ve  $\beta_2$ -integrin adezyon molekülleri vardır. Nötrofiller yüzeyinde İmmunglobulin G (IgG) ve IgM' in Fc komponentleri ve komplementin C3b komponenti için membran reseptörleri bulunur. Bu reseptörler nötrofiller öldüğünde makrofajlar tarafından yıkımlanır. Nötrofillerin çok çekirdekli olması makrofajlara göre epitel hücreleri arasında kolay hareket etmesini sağlar. Nötrofillerin sitoplazmasında çeşitli granüller mevcuttur. Bunlardan azurofilik granüller, miyeloperoksidaz salgılaması açısından önemlidir. İçerisinde hidrojen peroksid bulunan miyeloperoksidaz bakteriler için oldukça öldürücüdür (76, 90).

Makrofajlar sağlıklı sütte hakim hücre tipidir, bakterileri parçalar, fagosite eder ve immun sistemi antijenlere karşı uyarırlar (85). Makrofajların fagositik hızı spesifik patojenler için opsonik antikorların var olması halinde önemli derecede artar. Yağ, kazein ve diğer süt elemanlarının sindirimi rastgele olduğu için makrofajlar fagositozda kan lökositlerinde olduğu kadar etkili değildir. Spesifik olmayan savunmaların başındaki rollerine ek olarak makrofajların antijen işlenmesi ve sunumunda kilit rolleri vardır (76, 90). Makrofajlar bakteri ile ilk karşılaşan ve meme savunması ile ilgili hücrelere bilgi aktaran hücrelerdir. Fagosite edilen bakterilerden gelen antijenler makrofajlar içinde

işlemden geçer ve major histokompetibilite kompleks ( MHC ) sınıf 2 molekülleri ile birlikte membran yüzeyinde sunulur. Bu MHC sınıf 2 molekülleri, yabancı antijenleri tanımları için lenfositler tarafından talep edilen poliformik membran molekülleridir (76).

Makrofajlar, lenfositlerin fonksiyonlarını yönetirler, çeşitli sitokinler ve diğer mediatörleri salgılayarak yangısal reaksiyonu kontrol altında tutarlar. Makrofajlar yangısal sürecin başlamasını belirlerler ve süt kanalları gibi önemli primer savunma bölgelerinde yer alırlar. Makrofajlar için uyarıcı faktörler, mikroorganizmalar, mikrobiyal toksinler, yangısal ürünler, antijen-antikor kompleksi ve lenfokinlerdir. Erken postpartum dönemde makrofajların fagositoz ve bakterisidal etkileri azalmaktadır (76). Gebeliğin son haftalarında makrofajların sayısı meme bezinde önemli derecede artarken, meme sekresyonunda opsonik aktivitenin azalmasından dolayı fagositoz yetenekleri de o derece azalmıştır. Bunun nedeni hem makrofajlar hem de nötrofiller aracılığıyla fagositozu kolaylaştıran IgM azalması nedeniyledir. Ayrıca doğum öncesi dönemde makrofajlar tarafından MHC sınıf 2' nin sergilenmesi veya sayısı azalır bu da zayıf antijen sunumuna neden olur ve meme bezi lenfositlerin daha zayıf spesifik immun tepki oluşturmalarına neden olur (77).

Etkili spesifik bir bağışıklığın oluşabilmesi için hem antijen sunan hücrelerin hem de lenfositlerin karşılıklı olarak iş birliği içerisinde olması gerekmektedir. Lenfositler, invaziv patojenler için spesifik olan membran reseptörleri içeren, antijenleri tanıyan bağışıklık sistemi hücreleridir. İşlev ve protein ürünleri farklı olan iki ayrı lenfosit alt grubu vardır. Bunlar T ve B lenfositlerdir. Bu iki alt sınıf lenfositlerinden T lenfositleri ayrıca CD4+ (T-helper) lenfositleri ve  $\alpha\beta$  T lenfositleri (T sitotoksik) ve  $\gamma\delta$  T lenfositlerini (T-baskılayıcı) içeren CD8+ lenfositlerine ayrılmaktadır. Laktasyon döneminde ve doku yerine bağlı olarak bu hücrelerin yüzdeleri önemli derecede değişebilir (76). Meme bezi lenfositlerinin %45'ini T lenfositler, %20'sini B lenfositler oluşturmaktadır (85, 88).

B lenfositlerin primer rolü invaziv patojenlere karşı spesifik antikorlar üretmektir. Makrofaj ve nötrofillerden farklı olarak, B lenfositler spesifik patojenleri tanımak için hücre yüzey reseptörlerini kullanırlar. B lenfositler aynı zamanda makrofaj ve dendritik hücreler gibi MHC sınıf II molekülleriyle birlikte antijeni işleyebilir ve T helper lenfositlerine antijen sunumu yapabilirler. İşlenmiş antijenin sunumu sırasında T lenfositler tarafından salgılanan interleukin-2 (IL-2), antikor yada anı hücrelerini üreten B lenfositlerin proliferasyon ve diferasyonunu sağlar. T lenfositlerden farklı olarak, B lenfositlerin yüzdeleri laktasyon aşamaları arasında oldukça sabit kalır (77).

T-helper (CD4+) lenfositler, belli bazı sitokinleri üretebilir ve bu sitokinler sayesinde B ve T lenfositleri, makrofajları ve bağışıklık tepkisine katılan diğer hücreleri uyarabilirler. Diğer hücre tipi Sitotoksik T lenfositler ise meme bezinin enfeksiyonlara duyarlılığını artırabilecek olan yaşlı yada hasara uğramış salgı hücrelerini temizleyerek çöpçü gibi hareket ederler. Baskılayıcı T hücrelerinin ise immun savunma mekanizmasını kontrol ve modüle ettikleri bildirilmektedir. Bu hücreler epitel hücre yüzeylerine göç ederler ve yaygın olarak dolaşıma katılmazlar, başlıca görevlerinin epitel yüzeylerin korunması olduğu bildirilmektedir. Baskılayıcı T hücrelerin fonksiyonlarının laktasyonun dönemine göre değiştiği belirtilmektedir. Laktasyonun orta döneminde elde edilen bu hücreler sitotoksik aktivite gösterirken, postpartum dönemde elde edilen hücrelerin ise baskıcı tipte olduğu belirlenmiştir (76, 77).

### 2.2.3. Sıvısal Savunma Faktörleri

Çözülebilir savunma; antikorların dışında memenin kimyasal savunması, hücresel veya immunolojik olmayan, ancak her ikisiyle de ilişkili sekonder mekanizmalardır.

Laktoferrin; meme bezinin glandüler epitel hücreleri ve polimorf çekirdekli nötrofiller'deki spesifik granüllerden sentezlenen, 80kDA ağırlığında, demiri bağlayıcı bir glikoproteindir (83, 89, 91). Bu proteinin biyolojik fonksiyonu antibakteriyel, immunomodülatör ve antiinflamatuvar olmasıdır (89). Özellikle kuru dönemde, involü olan memelerde konsantrasyonu yaklaşık 100 kat artar (3, 85). Demir bağlayıcı özelliğiyle bakterilerin çoğalması için temel element olan demiri bağlayarak bakteriler tarafından kullanılmasını engeller (68). Bu özelliğinden dolayı belli bazı bakteri suşlarını direkt olarak öldürebilir veya bakteri direncini zayıflatır. Bakterilerin üremesini durduğu gibi bakterilerin antibiyotiklere karşı hücre membran permeabilitesini artırır. Laktoferrin özellikle Gram negatif bakteriler üzerine antibakteriyel bir etkiye sahiptir. Ruminantlarda *E. coli* ve *Klebsiella pneumonia*'nın yol açabileceği enfeksiyonun önlenmesinde laktoferrin ve spesifik IgG<sub>1</sub> antikorları sinerjik hareket ederler. Bazı bakteriler süperoksit radikallerini inaktive eden bir enzim olan dismutase üreterek fagositozdan kaçabilmektedir. Laktoferrin bu enzimi inaktive ederek böyle bakterilerin fagositozunda önemli bir rol oynar. Laktoferrin makrofajların, lenfositlerin ve nötrofil fonksiyonlarının modülasyonu ve regülasyonunda da aktif bir rol oynar (76, 77).

Klinik mastitis olaylarında laktoferrin konsantrasyonu oldukça yüksektir. Özellikle *Mycoplasma bovis* ve *S. aureus* klinik mastitisinde Koagülaz Negatif Stafilokokkal mastitislerine göre daha yüksek laktoferrin konsantrasyonu saptanmıştır. *E. coli*



mastitisinde, perakut mastitisde laktoferrin konsantrasyonu akut mastitise göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Perakut *E. coli* mastitisinde, laktoferrin bakterinin üremesine engel olamamaktadır. Çünkü mikroorganizmanın üreme hızı laktoferrin'in salgılanma hızından daha çabuktur (83, 91). Son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalarda, laktoferrin'in penisillin G ile mastitise yol açan *S. aureus* suşlarına ve ürettikleri proteinlerine karşı sinerjik bir etki ortaya koyduğu saptanmıştır (89).

Tiyosinat ve hidrojen peroksit varlığında laktoperoksidaz enzimi *S. aureus* ve *Streptococcus spp.* gibi Gram pozitif bakteriler için bakteriyostatik ve koliformlar gibi Gram negatif bakteriler için bakterisidaldir (76, 77, 85). Meme bezi küçük konsantrasyonda yaklaşık olarak 2-35 mg/ml laktoperoksidaz üretir (3, 85). Memedeki tiyosinat seviyesi beslenme düzeyine bağlıdır. Bu üçlü sistemin diğer elemanı hidrojen peroksit kaynağını sütün enzimatik elemanları oluşturmakta ve streptokoklar tarafından üretilmektedir. Laktoperoksidaz-tiyosinat-hidrojen peroksit sistemi antibakteriyel özelliklerini tiyosinat'ın oksitlenmesinden oluşan reaktif metabolit olan hipotiyosinat tarafından gerçekleştirir. Nötrofillerin ürettiği miyeloperoksidaz'da aynı reaksiyonu katalize eder ve ayrıca bu sistemin bakterisidal aktivitesini sağlayan ürün olan klorid oksidasyonunu da katalize eder. İnsanlarda bu sistemin antimikrobiyel aktivitesinden tamamen miyeloperoksidaz sorumludur. Ancak meme bezinin düşük oksijen seviyesi hidrojen peroksit üretimini engelleyebilir ve bu antibakteriyel sistemin mastitise sebep olan patojenlere karşı etkisini kısıtlar (3, 76, 77, 85).

Lizozim meme dokusunu koruduğu gibi yavrunun sindirim sisteminde de önemli bir rol oynar. Bakterinin hücre duvarındaki N-asetil glikozamin ve muramik asit arasındaki beta bağlantıyı hidrolize ederek bakterilerin parçalanmasına neden olan bir proteindir (68, 85). Ayrıca bakterilerin hücre duvarına laktoferrin bağlanmasını da sağlamaktadır. Meme bezinde düşük konsantrasyonda lizozim'e sahip inekler, mastitise daha duyarlıdır. Lizozim dokularda düşük miktarda olmasına rağmen sütte fazladır ve enfeksiyon esnasında miktarı önemli derecede artar (3). Sığır sütünde lizozim 0,01mg/ml iken insan sütünde 400 mg/ml kadardır (84). İnek sütünde insan sütüne göre lizozimin daha düşük konsantrasyonda olması sebebiyle ruminantlarda koruma etkinliği zayıftır (68, 75-77, 85).

Humoral immunité, kısaca antikor yanıtı şeklide ifade edilebilir. Antikorlar, B lenfositlerin değişimi ile oluşan plazma hücreleri tarafından sentezlenmektedir (68). Antikorlar, antijene özgü olan immunglobulinlerdir. Memedeki antikor aracılı savunma mekanizmaları; bakterilerin opsonizasyonu ve takiben fagositozisi, antiadesiv aktivite, toksinlerin nótrolizasyonu, patojenlerin antikor aracılı lizisidir (14, 68, 85, 92). Antikorlar

bakteriyi ya direkt olarak yada komplemantle birlikte (C3b veya C3) veya komplemant ve lizozimin ortak etkisiyle imha ederler (76, 77)

Meme bezi savunma sisteminde rol oynayan antikorların dört alt sınıfı vardır. Bunlar IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgA ve IgM' dir (3, 4, 18). Normal sütteki antikor miktarı düşüktür ve ortalama olarak 1mg/ml kadardır. Ancak bu miktar kolostrogenesis esnasında ve yangı sırasında meme sekresyonunda pik konsantrasyonlara (100 mg/ml) ulaşır (3, 85). Kolostrumdaki bu yüksek değerlere rağmen doğumdan sonra, laktasyonun ilk haftasında antikor seviyesi 1 mg/ml'in altına düşer. Meme bezinde bulunan antikor konsantrasyonu sekretorik dokunun geçirgenlik derecesine ve meme bezinde bulunan antikor üreten hücrelerin miktarına bağlıdır (76).

**Tablo-1.** Sığır meme sekresyonunda antikor miktarları (mg/100ml)\*

	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgA
Kan Serumu	1400	1300	39
Kolostrum Serumu	4000-9000	250	470
Süt Serumu	40	6	11

\* Bu tablo Watson DL 1980 (93)'den alınmıştır.

Meme bezinde IgA ve IgM lokal olarak sentezlenebilirken, IgG kandan sağlanabilmektedir. IgG<sub>1</sub> aktif transport ile seçilerek memeye taşınır. Halbuki IgG<sub>2</sub> pasif diffüzyon veya nötrofil lökositlerin Fc reseptörlerine bağlanarak meme bezine geçebilmektedir (14, 22). Sekretorik epitel yüzeyinde IgG<sub>1</sub> reseptörleri, IgG<sub>2</sub> ve diğer serum proteinlerinden daha fazladır (87). Epitel yüzeyine gelen IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>'den daha fazla miktarda epitel reseptörlere bağlanır ve ardından pinositozisle epitel sitoplazmasına alınır. Oluşan vesikül içerisinde IgG<sub>1</sub> oranı IgG<sub>2</sub>'den daha fazladır. Oluşan vezikül lümene boşalır ve sütte antikor yoğunluğu IgG<sub>1</sub> lehine sağlanmış olur (93). Sığırlarda normal kolostrumda ve sağlıklı sütlerde IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>'ye oranla 10 ila 20 kat daha fazla bulunur. İneklerde bu yüzden sağlıklı meme sekresyonunda ve kolostrumda IgG<sub>1</sub> primer isotiptir (14, 75, 94).

Meme bezindeki antikor konsantrasyonunu bir çok faktör değiştirebilmektedir. Örneğin akut bir yangı sırasında IgG<sub>2</sub> ve serum albumin seviyesi artmaktadır (14, 77, 94). Aynı zamanda yapılan bir çalışma sonucunda IgG<sub>2</sub> ve IgM'in opsonik aktivitelerinin IgG<sub>1</sub> tarafından engellendiğini ortaya konulmuştur (18).

Sığır nötrofilleri üzerinde çoğunlukla IgG<sub>2</sub>'ye ait yüzey reseptörleri mevcutken, makrofajlarda IgG<sub>1</sub> ve az da olsa IgG<sub>2</sub> için reseptörler vardır (14). Nötrofiller tarafından

meydana getirilen bakteriyel fagositoz, IgG<sub>2</sub>, IgA ve IgM sayesinde daha da etkin hale gelir. Sığırlarda IgG<sub>2</sub>'nin opsonize edebilme yeteneği IgG<sub>1</sub>'den daha fazladır. Her iki antikorda makrofajların fagositozunu uyarırlar. Ancak IgG<sub>2</sub> fagositozu esas olarak nötrofiller yoluyla stimule eder (76, 77).

Sığırlardaki normal süt sekresyonundaki primer isotip olan IgG<sub>1</sub>'e karşılık monogastrik hayvan türlerinde baskın olan IgA'dır. IgA memedeki plazma hücrelerinden lokal olarak sentezlenir, ancak bu hücrelerin çoğu bağırsaktan köken alan B hücrelerinden gelişir ve bu yüzden sütteki IgA'ların çoğunluğu bağırsak patojenlerine spesifiktir (19, 87, 94).

Sığırlarda IgA direkt olarak opsoninde rol oynamaz. Yapılan ilk çalışmalarda IgA ile *S. aureus*'un nötrofiller tarafından fagositozu arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiş olmasına rağmen, daha sonra yapılan çalışmalarda IgA'nın *S. agalactiae* için opsonik olduğu saptanmıştır. Son zamanlarda aşılansız hayvanlardan elde edilen IgA ile normal süttten izole edilen IgA karşılaştırıldığında opsonik aktivitelerinin olmadığı gözlenmiştir. Bu yüzden IgA meme bezinde bir opsonin olarak rol oynamadığı düşünülmektedir (18, 35).

IgA'nın opsonize edebilme kabiliyeti komplement sistemine bağlıdır. Komplementin yangısal bölgeye pasif transportunda da IgA önemli rol oynar. Kanda IgA'nın önemli bir fonksiyonu yoktur. Çünkü komplementi aktive edemez ve opsonizasyon yapamaz. Ancak meme bezi epitel hücreleri ve diğer mukozalardaki salgısal IgA mikroorganizmalara bağlanabilir. Sekretorik antikorlar mikroorganizmaların yüzeyini kuşatarak epitel yüzeylerine yapışmalarını önlerler. Örneğin *S. aureus*'un meme bezi epitelyumuna tutunmasını engelleyerek meme savunmasına yardım eder (19, 87).

IgM ise özellikle Gram negatif bakterilerin meydana getirdiği mastitisler sırasında opsonizasyon da görev alırlar (9, 28, 69). IgM doğumla birlikte kolostrumda ve enfekte olmamış sütlerde miktarı fazladır. Ancak laktasyon ilerledikçe IgM seviyesi düşmektedir (69).

Komplement sistemi; hem spesifik hem de non-spesifik immunitiyi etkileyebilen, serumda ve sütte mevcut olan protein koleksiyonudur. Komplement sisteminin fonksiyonları; bakterinin lizisi, opsonizasyon ve fagositlerin hızlı göç etmelerini sağlamalarıdır. Örneğin *E. coli* gibi Gram negatif bakteriler özellikle komplement aracılı lizise duyarlıdır (76, 77).

Sitokinler, çoğunlukla immun sistem hücreleri tarafından salgılanan ve hücrelerin özelliklerini veya fonksiyonlarını etkileyen küçük proteinler veya glikoproteinlerdir.

İmmun yanıtın her aşamasında hormon benzeri bir etki ile hücreler arası iletişimi sağlarlar. Sitokinler, hücre gelişmesi, çoğalması, aktivasyonu, yangı, bağışıklık, doku tamiri ve morfogenezis gibi önemli biyolojik faaliyetleri düzenlerler (84, 87, 95). Bugüne kadar araştırılan ana sitokin grupları, interleukin (IL), coloni stimulating faktör (CSF), interferon (IFN) ve tümör nekrozing faktör (TNF)'dir (81, 84, 87, 95).

### **2.3. Meme Savunma Sisteminin Spesifik Güçlendirilmesi**

Aşılar, verildikleri canlıda immün sistemi uyararak vücudu hastalıklara karşı aktif olarak bağışık hale getiren maddelerdir. Veteriner Hekimlik sahasında bir çok hastalığa karşı başarılı şekilde kullanılan aşılar geliştirilmiştir ve geliştirilmeye devam edilmektedir (70, 84, 86, 87). Süt endüstrisinin en önemli problemi olan mastitise karşı da bu yüzyılın başlarından itibaren başlayarak günümüze kadar devam eden aşılama çalışmaları yapılmaktadır (12, 13, 34-39, 45). Mastitise karşı yapılan aşılamalardaki başarı, diğer aşılamalara nazaran sınırlı olabilmektedir. Başarıyı sınırlayan en önemli faktörler; mastitise yol açan bakterilerin sayısının fazla olması, bakteri yapılarının, fonksiyonlarının ve virulans faktörlerinin çok farklı olmasıdır (4, 5, 13, 29, 32, 52, 57, 67).

#### **2.3.1. Mastitis Aşılmasının İmmünolojik Temeli**

Sütteki antikor konsantrasyonunun büyük çoğunluğu, lokal immün tepki sonrası meme bezinde üretilen antikorlardan ziyade, sistemik immün tepki sonrası üretilerek memeye geçen antikorlardan oluşmaktadır. Sistemik olarak üretilen antikorlar kanda sirküle olurlar ve akut yangı sırasında yangının erken safhasında meme bezine geçerler. Bu yüzden önemli miktarda patojene spesifik antikorların, mastitise karşı koruyucu olabilmeleri için meme enfeksiyonu öncesinde ve sırasında kan serumunda mevcut olmaları gerekmektedir. Bu da çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Çünkü periferal immün sistem normal olarak mastitise yol açan bakterilere maruz kalmamaktadır (53, 54). Aşılama yoluyla periferal immün sistem uyarılarak kan serumunda yeterli miktarda ve uzun süre devam eden antikor konsantrasyonu oluşturulabilmektedir (7-10, 18, 19, 21, 22, 24, 26-29, 92).

Aşı uygulamasını takiben makrofajlar ve dentrik hücreler gibi antijen sunan hücreler (APC) aşılanmış bölgeye giderek antijenleri fagosite edip işlerler. Antijenin işlenmesinden sonra işlenmiş ürünler membran yüzeyindeki MHC sınıf 2 molekülleriyle birlikte sergilenirler. Bu MHC sınıf 2 molekülleri, makrofajlarda, B lenfositlerde ve dendritik hücrelerde bulunmaktadır. APC'ler lenf yumrusuna geri dönerler ve burada CD4+

lenfositlerine (T helper, Th0) bağlanırlar (53, 54, 84, 86, 87, 95). APC'nin Th0 hücrelerine bağlanmasıyla birlikte 2 farklı T helper hücre tipi ortaya çıkar. Birinci hücre tipi Tip 1 helper (Th1 immun tepki) hücreleridir. Bu Th1 hücreleri B hücrelerinden başlıca IgG<sub>2</sub> antikor üretimini uyarır. İkincisi hücre tipi Tip 2 helper (Th2 immun tepki) hücreleridir. Bu hücre tipleri de B lenfositlerinden IgG<sub>1</sub> veya IgM antikor üretimini uyarır (53). Th1 immun tepki, nötrofil ve makrofajların diyapedezisi, opsonizasyon ve adezyon aktivitesinin artırılmasıyla karakterizedir. Th1 sitokinleri; IL-2 (Th1 lenfositlerinin proliferasyonu ve büyümesi), IL-8 (nötrofil kemotaksisi ve endotelial reseptörlerini artırır), IL-12 (interferon üretimini uyarır), IFN- $\beta$  (lökosit adezyonun stimülasyonu), IFN- $\gamma$  (sitokinleri uyarır ve antikor üretimini baskılar) dır. Th2 immun cevabı ise B hücrelerinin uyarılarak çoğalması ve bu hücrelerin farklılaşıp antikor üreten plazma hücrelerine dönüşmesidir. Th2 sitokinleri ise IL-4 (B hücrelerin uyarılması, olgunlaşması ve antikor sınıflarının ayrılması) ve IL-10 (hücrel immunitenin baskılanması) dur (54, 84, 86, 87, 95). Bu olayların olabilmesi için de doğru konsantrasyondaki doğru antiijenlerin küçük proteinler şeklinde MHC sınıf 2 moleküllerine bağlı biçimde CD4+ lenfositlerine sunulması gerekmektedir (53)

Aşı içerisindeki doğru antiijen bulunması ve bu antiijenin sunumu yüksek miktarda interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ve Th1 hücre aktivitesine yol açar. Lenf yumrusundaki antiijen uyarımlı B hücreler antikor genlerinin IgM kodlu kısmını kullanarak değişirler. Bu değişim hücrelerde aynı antiijeni tanıyan IgG<sub>2</sub> antikorlarının sentezlenmesine yol açmaktadır. Bu yüzden aşılama sonucunda arzu edilen bir antikor cevabının alınması için aşı içeriğinde doğru antiijenin bulunması gerekmektedir (53).

Th1 immun tepkinin çok iyi uyarıldığı durumda IFN- $\gamma$  ve IL-2 üretimi aktif olarak uyarılabilir ve fazla miktarda IgG<sub>2</sub> antikorları üretilerek kana serbest bırakılır. Bu antikorlar gelecekteki akut bir yangı sırasında enfekte meme lobuna geçmek için kan dolaşımında kalırlar. Aynı zamanda Th1'den üretilen IFN- $\gamma$  enfekte dokuya nötrofillerin geçişini uyarır ve nötrofil ve makrofajlardaki Fc reseptör sentezinin artırımında da önemli bir rol oynar. Fagositoz sonrasında patojenlerin oksijen aracılı yıkımlanmalarını ve aktive edilmiş fagositlerin antikor bağımlı veya bağımsız öldürülmelerini artırmaktadır. Böylece güçlü Th1 cevabını uyarır aşılama rejimleri sadece B hücrelerinden IgG<sub>2</sub> antikor üretimini değil aynı zamanda meme bezine nötrofil geçişini de hızlandırır. Sütçü sığırlarda doğum süreci, nakil, barındırma koşullarının yetersizliği, ineğin rahatının yerinde olmaması ve ısı değişimleri gibi hayvanın stres altında kaldığı

durumlarda kortizol üretimi olmaktadır. Kortizol da immün cevabın Th2 yönünde değişmesine yol açmakta ve sığırların mastitise karşı duyarlılığını artırmaktadır (53).

### 2.3.2. Aşı Materyali ve Adjuvantlar

Aşı materyalini klinik veya subklinik mastitislerden izole edilen canlı veya atenué bakteriler, alkol, fenol, aseton, formalin, etilenamin, ısı ve hücrenin parçalanması ile inaktif hale getirilmiş hücreler, bakterilerin hücre duvarı ekstraktı, toksoidler ve bakterin-toksoid preparatları adjuvantlı veya adjuvantsız hazırlanmaktadır (9, 14, 16, 21, 42-44, 46, 47, 62, 63, 93). Güncel aşı uygulamalarında rekombinant DNA ve bakterilerin virulans faktörlerini içeren aşılar kullanılmaktadır (34, 38, 39, 41).

İçeriğinde canlı ve ölü (bakterin) bakteri bulunduran aşılar karşılaştırıldığında; canlı aşılar bakterinli aşılarla oranla immün sistemi daha iyi uyardığı ortaya konulmuştur. Bu uyarımla özellikle nötrofillerin fagositoz yetenekleri daha fazla artmaktadır. Ölü aşı üretimi sırasında ısı veya kimyasal ajanlarla bakterinin inaktive edilmesi bakteri hücre yüzeyini ve antijenik epitop yapılarını değiştirebilmektedir. Canlı aşılarla yapılan aşılamalarda IgG<sub>2</sub> antikor titresini artarken, ölü aşılarla yapılan aşılamalarda IgG<sub>1</sub> antikor titresinin arttığı saptanmıştır (56, 67, 75). Aynı zamanda ölü aşıların meydana getirdikleri immunitenin devamı için de dozun tekrar edilmesi gerekmektedir (56, 84, 86, 87).

Aşılarla adjuvant olarak, Freud'un complete ve incomplete adjuvantı, dekstran sülfat, alüminyum hidroksit, mineral yağlı adjuvant, corbopol ve lipozom kullanılmaktadır. Mineral yağlı adjuvant kullanımı diğer adjuvantlara göre oluşan bağışıklığın daha uzun süre devam etmesine yol açmaktadır. Bunun yanında dekstran sülfatın IgG<sub>2</sub> sentezini diğer adjuvantlara nazaran daha iyi uyardığı bildirilmektedir (42, 56).

Adjuvant olarak mineral yağ ile corbopol kullanılarak koyunlardaki *S. aureus* mastitislerine karşı yapılan aşılamada; adjuvantlar karşılaştırılmış ve mineral yağlı adjuvant içeren aşının özellikle *S. aureus*'un  $\alpha$  ve  $\beta$  toksinlerine karşı, corbopol içeren aşının ise *S. aureus*'un exopolisakkaridine karşı antikor üretimini daha fazla uyardığı saptanmıştır (58).

Başka bir çalışmada, 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> adjuvant olarak kullanılmıştır. 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> doğal bir immunomodülatördür. Makrofajların ve T ve B lenfositlerinin immün cevabını düzenleme yeteneği vardır. Bu vitaminin adjuvant olarak kullanıldığı grupta IgM, IgG, IgA süt antikor titreleri, kullanılmayan aşı grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. Aynı zamanda IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> antikor titrelerinde diğer çalışma grubuna göre artış tespit edilmiştir (26). Buna benzer yapılan başka bir çalışmada Freud

incomplete adjuvant'ı ile birlikte Vitamin E adjuvant olarak kullanılmıştır. Bu iki adjuvantın beraber kullanıldığı grupta, süt ve kan serumunda IgG antikor titresinin arttığı ve deneysel oluşturulan enfeksiyonda sistemik klinik bulguların şiddetinin azaldığı saptanmıştır. Bu iki adjuvant beraber kullanıldığında sinerjik etkili olduğu belirlenmiştir. Tek başına Vitamin E kullanılan grupta serum IgM titresi artarken süt IgM ve IgG antikor titresinde artış saptanamamıştır (96).

Yapılan bir çalışmada rekombinant sığır interleukin-2 (rBoIL-2), fizyolojik tuzlu su (FTS) ve Freud'un incomplete adjuvantı (FIA) *S. aureus* aşılarında adjuvan olarak kullanılmış ve etki dereceleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda *S. aureus'un* pseudokapsülüne karşı tüm gruplarda benzer antikor titreleri saptanırken, *S. aureus'un*  $\alpha$  toksinine karşı FTS'li grupta antikor titresi diğerlerine göre daha yüksek saptanmıştır. rBoIL-2'li grupta antijenik uyarıma bağlı olarak sitokin üretiminde artma tespit edilmiştir (17).

### 2.3.3. Aşıların Uygulama Şekli

Aşılar ya meme içi yolla lokal olarak uygulanmakta ya da kas içi ve deri altı yolla sistemik olarak uygulanmaktadır.

Lokal aşılama tercihen kuru dönemde yapılmaktadır. Çünkü sağım döneminde, meme paransiminin geniş bir yüzeye sahip olması, sağım esnasında aşının süt ile uzaklaşması ve aktif süt salgılayan sekretorik hücrelerin zarar görebilmesinden dolayı yapılacak aşılama ile zayıf bir bağışıklık oluşabilmektedir. Yapılan aşılama ile akut bir yangıya neden olunabilir. Bundan dolayı antijen kuru dönemin başında meme başı kanalından meme içine infüze edilmektedir (5). Aynı zamanda sığır meme bezinde daha yüksek IgA ve IgM antikor seviyesi elde edebilmek için antijenlerin kuru dönemde verilmesi gerektiği bildirilmektedir (94).

Lokal aşılamada dikkat edilmesi gereken bazı hususlar vardır. Örneğin aşının sekretorik hücrelere zarar verebilmesi sebebiyle, laktasyon döneminde süt veriminde azalmalar meydana gelmektedir (5, 75). Kuru dönemde aşı materyalinin meme içi verilmesi, savunmada doğal bariyer olan keratin tıkaçının bozulması nedeniyle meme bezi dışardan gelebilecek mikroorganizmalara açık hale gelir. Aşı meme içi verilirken sekonder etkenlerle bulaşma ve fiziksel zararlardan kaçınmak gerekir. Lokal olarak meme içerisine verilen inaktif stafilokokkal aşının ancak yüksek dozda yeterli bir bağışıklık sağladığı bildirilmektedir (5).

*S. aureus* ve *S. agalactiae* gibi bir çok bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için meme mukozasının yüzeyine tutunması gerekmektedir. Lokal immunizasyon sonucu artan IgA titresi, bakterilerin mukozaya tutunmalarını engelleyebilmektedir. IgA antikor sistemi sığırlarda diğer türlere göre daha az gelişmiştir. Bu yüzden uygun bir antiijenle lokal IgA ve IgM antikor titrelerinin artırılabilceği ifade edilmektedir (94).

*E. coli* bakterin J5 ile yapılan bir aşılama çalışmasında; iki deri altı aşılama arasında meme içi aşılama planının, üç sistematik aşılama planına göre daha iyi bir IgG ve IgM antikor seviyesine yol açtığı belirlenmiştir. Hem IgG hem de IgM antikor titrelerinin lokal aşılama sistematik aşılama göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda laktasyonun ilk günlerinde miktarı oldukça azalan IgM antikor titresi laktasyonun 21. gününde sistematik aşılama göre daha fazla belirlenmiştir (27).

Benzer bir çalışmada aşılama planı aynı şekilde uygulanmış ve meme içi ile sistematik aşılamanın etkinliği karşılaştırılmıştır. Aşılamalar kuru dönemde yapılmış ve laktasyonun 30. gününde heterolog *E. coli* suşuyla deneysel enfeksiyon oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda; meme içi aşılama ile hayvanların doğum anında, deneysel enfeksiyon oluşturulduğu anda ve enfeksiyon sonrasındaki günlerde deri altı aşılama göre IgG ve IgM antikor titrelerinin daha yüksek olduğu ve bu titrenin daha uzun süre sonlandığı tespit edilmiştir (23).

Yapılan bir çalışmada meme içi yapılan aşılama ile sistematik (meme lenf düğümü civarına deri altı) yapılan aşılama göre kan serumu IgG<sub>1</sub> ve IgM titreleri arasında bir fark bulunamamıştır. Fakat antikor titre düzeyinin meme içi aşılama daha uzun sürede devam ettiği bildirilmiştir. Lokal aşılama sonucunda süt IgA antikor düzeyi çalışma süresi boyunca yüksek seviyede kaldığı saptanmıştır (19).

Buna karşın kas içi ve meme içi aşılamanın antikor titresi ve *S. aureus* enfeksiyonuna karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, her iki aşılama yönteminin kan ve süt serumda antikor titreleri üzerinde bir etkisinin olmadığı ve *S. aureus* enfeksiyonuna karşı memeyi koruyamadığı bildirilmektedir (45).

Yine de literatürlerde lokal immunizasyonun, kas içi ve deri altı yapılan sistematik immunizasyona göre lokal antikor üretimi ve antikor üretiminin devamlılığı bakımından daha iyi olduğu bildirilmektedir (5, 12, 19, 23, 27, 30, 94).

Sistemik yapılan aşılamalarda aşı boyun bölgesine veya arka bacak kaslarına kas içi yolla yapılabildiği gibi meme lenf yumrusu civarına ya da boyun bölgesine deri altı tarzında yapılabilmektedir. Supramammarik lenf nodüllerinin lenfatik drenajının olduğu deri altı bölgeye aşının sistematik olarak uygulanmasının, meme salgısında antikor



seviyesini artırdığı bildirilmektedir. Bu mekanizma ile meme içi savunma çok çabuk aktive olur ve spesifik antikorlar büyük miktarda sentezlenirler. Antikorlar lenfatik sistemle kana taşınır ve meme bezinin lumeninden diğer serbest moleküllerle birlikte IgG<sub>2</sub> geçer. Bu etki en iyi şekilde attenué edilmiş canlı aşılarla ya da adjuvan olarak dextran sülfat kullanılmış ölü aşılarla gözlenir (5, 12, 27). Deri altı aşılanmanın sistemik aşılama göre daha fazla fagositik hücre uyarımına neden olduğunu, bunun da hücre aracılı immunitede mikroorganizmaların eliminasyonunda ve antikor üretiminde etkili olduklarını vurgulamaktadırlar (12).

Meme bezi lenf yumrusu civarına deri altı aşılanmış hayvanlarda meme başı ucunda meme savunmasında yer alan bütün hücre tiplerinin konsantrasyonu yüksek bulunmuştur. Bu da meme bezi lenf yumrusu civarına deri altı aşılanmanın lokal antikor üretimini artırdığını göstermektedir. Aynı şekilde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aşılanmış hayvanlarda fürstenberg rozeti ve meme başı sisternasının sitolojik muayenesinde aşılama ile lökosit hücre infiltrasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bu artışın daha çok kas içi yapılan aşılama göre meme bezi lenf yumrusu civarına deri altı aşılanmış hayvanlarda daha fazla olduğu saptanmıştır (22).

#### **2.3.4. Aşı Çeşitleri**

Mastitisi oluşturan mikroorganizmaların çeşidi fazla olmakla birlikte, *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. uberis* ve *E. coli*'nin oluşturdukları ekonomik kayıpların yüksek olması sebebiyle aşılama çalışmaları daha çok bu tür bakterilere yönelik olmaktadır.

##### **2.3.4.1. *S. aureus* Aşıları**

Sütçü yönlü ineklerde mastitisin en önemli sebebi olan *S. aureus*'a karşı deneysel ve saha aşılama çalışmaları yapılarak *S. aureus* enfeksiyonunun kontrol altına alınması amaçlanmıştır (6, 10, 11, 14-22, 34-36, 38-40, 42-48, 97). Saha çalışmalarından önce deneysel çalışmalar yapılarak *S. aureus*'un hangi durumda ve hangi bileşeni ile immün sistemi daha iyi uyardığı test edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda; *S. aureus*'un kendisine, toksinlerine, kapsülüne, hücre duvarı ekstraktına ve diğer virulens faktörlerine karşı spesifik antikor üretiminin olduğu belirlenmiştir (10, 11, 17-22, 35, 34, 39, 41). Bu çalışmaların bazılarında ayrıca aşılama takiben deneysel *S. aureus* mastitisi oluşturularak aşının memeyi ne derecede koruduğu test edilmiştir. Deneysel enfeksiyonu takiben oluşan klinik mastitis bazı çalışmalarda engellenebilmiş (10, 20, 39) bazılarında ise mastitis engellenememiştir. Ancak çalışmalarda yangı bulguları ile sütteki bakteri

yükünün kontrol grubuna göre daha az ve iyileşme sürecinin de daha kısa olduğu belirlenmiştir (10, 11, 22, 34).

*S. aureus*'a karşı yapılan saha çalışmalarında aşının koruma etkinliğinin olduğu ileri sürülürken (6, 15, 16, 46-48, 97) bazı çalışmalarda ise aşının *S. aureus* enfeksiyonunun kontrolünde etkisiz kaldığı bildirilmektedir (43-45).

Düvelerde, *S. aureus* mastitisine karşı yapılan bir aşılama çalışmasında, hayvanlar 6 aylıkken aşılana başlanmış ve çalışma sonunda kuru dönemde *S. aureus* enfeksiyonunun aşılı grupta (%14,3) kontrol grubuna (%25,9) göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kronik *S. aureus* enfeksiyonu aşı grubunda (%10,7) kontrol grubuna (%18,8) göre daha az belirlenmiştir. Aynı zamanda yinelenen *S. aureus* enfeksiyonu da aşı grubunda (%8,9) kontrol grubuna (%16,1) göre daha düşük tespit edilmiştir. Araştırmacılar *S. aureus* aşısının yeni enfeksiyonu önlemede etkili olduğunu bildirmektedirler (15).

Üç farklı *S. aureus* suşunu içeren bir mastitis aşısıyla sırayla üç farklı araştırma yapılmıştır. Birinci çalışmada aşının farede *S. aureus*'a karşı spesifik antikor üretimi ve virulent *S. aureus* suşlarına karşı fareyi koruması değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda kullanılan aşıyla farede geniş spektrumlu bir bağışıklık sağlandığı ve *S. aureus* suşları arasında çapraz bir bağışıklığın oluşturulduğu bildirilmiştir. Bu bağışıklığın *S. aureus*'un homolog ve heterolog suşlarına karşı etkili olduğu saptanmıştır (20). Aynı aşı ikinci çalışmada ineklerde kullanılmıştır. Aşılamaı takiben deneysel *S. aureus* enfeksiyonu oluşturularak aşının inek meme bezini koruması değerlendirilmiştir. Deneysel enfeksiyondan sonra aşılamaı hayvanlarda enfeksiyona direnç %70 oranında saptanırken bu oranın kontrol grubunda %10 olduğu belirlenmiştir (11). Üçüncü çalışmada ise aşının sahada *S. aureus* mastitisine karşı başarısı ölçülmüştür. Aşılamaı takiben laktasyon döneminde her iki grupta klinik mastitis sayısı az saptandığı için aşı bu yönden değerlendirilememiştir. Araştırmacılar üç çalışma sonucunda *S. aureus*'a karşı aşılamanın etkili olduğunu bildirmişlerdir (16).

Başka bir saha çalışmasında *S. aureus*'a karşı sürü spesifik aşılamaı takiben meme içi *S. aureus* enfeksiyonu açısından gruplar arasında bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte aşının ikinci dozunu takiben laktasyon periyodunda her iki grupta da *S. aureus* enfeksiyonu artmıştır. *S. aureus* kaynaklı hayvan bazında çeşitli mastitis teşhislerinin (klinik, subklinik, latent) kümülatif insidensinde gruplar arasında bir fark bulunamamıştır. Meme lobu baz alındığında subklinik mastitis insidensi aşılamaı hayvanlarda (%33,8)

kontrol grubuna (%26) göre yüksek bulunmuştur. Bu da aşılansmış hayvanlarda subklinik mastitisin kümülatif insidensinin yüksek olduğunu göstermektedir (43).

*S. aureus*'a karşı başarının bu kadar değişken olması, bakterinin çok çeşitli virulens faktörlerine sahip olmasına bağlıdır. Yapılan çalışmaların çoğunluğu bu virulens faktörleri üzerine yoğunlaşmaktadır. *S. aureus*'un en önemli virulans faktörlerinden biri, bakterinin kapsül/pseudokapsül oluşturmasıdır. Kapsüller polisakkarid yapıdadır ve bu yapı zayıf bir immunojendir. Özellikle antikor ve komplement gibi opsoninler bakteri yüzeyine bağlanamazlar ve nötrofiller tarafından tanınmazlar. Böylece bakteri primer meme savunma sisteminden rahatlıkla kaçabilmektedir. Klinik mastitisli hayvanlardan alınan numunelerden izole edilen patojenik *S. aureus*'ların hepsi kapsüle sahiptir. İn vitro şartlarda kapsül oluşturmazlar. Ancak in vivo şartlarda kültüre edildiklerinde kapsül oluşumu gözlemlenir. Kapsüller polisakkaritlere karşı oluşan antikorların immunolojik incelemelerinde 11 farklı serovaryansının olduğu saptanmış ve bunlardan sadece 4'ü tanımlanabilmiştir (21, 55, 56, 86). Yapılan bir çalışmada Avrupa ve Amerika'daki klinik ve subklinik mastitislerde izole edilen *S. aureus*'ların kapsül üretimlerinin birbirinden farklı olduğu ve bu farklılığın bölgeden bölgeye değiştiği belirlenmiştir (98).

Son zamanlarda yapılan çalışmaların çoğu *S. aureus*'un bu virulans faktörleri üzerine yoğunlaşmıştır. Kapsüle ve pseudokapsüle karşı oluşan antikorlar direkt olarak kapsüller yapıya doğru yönelirler. Böylelikle bakteri opsonize edilerek nötrofiller tarafından fagositozu yapılabilmektedir. Aynı zamanda bu antikorların üretimi de T lenfositlerine bağlıdır. Bir protein taşıyıcısı ile birlikte polisakkaritlerin kombinasyonu hem immun tepkinin hem de T-hücre tepkisinin artmasına yol açtığı bildirilmektedir (15, 19, 21, 55, 99).

*S. aureus*'un diğer önemli virulens faktörü de ürettikleri toksinlerdir.  $\alpha$  ve  $\beta$  toksin, *S. aureus*'un 2 önemli toksindir ve  $\alpha$  toksin sayesinde öldürücü gangrenöz mastitis yapabilmektedir (4, 14, 47, 55, 56). Aşılama çalışmalarında bu toksinlerde kullanılmıştır (14, 47, 61). Örneğin yapılan bir çalışmada, içerisinde *S. aureus* bakterini ile  $\alpha$  ve  $\beta$  toksin bulunan aşılarda tavşan, beyaz fare ve keçilere uygulanmış ve çalışma sonucunda bakterin aşılarda 5 ay, toksoid aşılarda ise 4 ay süreli bir bağışıklık sağlandığı bildirilmiştir (61).

Aşı içeriğinde;  $\alpha$  ve  $\beta$  toksin, pseudokapsüllü inaktif *S. aureus* ve adjuvan olarak mineral yağ içeren bir aşının saha çalışmasında, doğuma yakın dönemde hayvanlarda hem kan serumunda hem de süt serumunda pseudokapsüle ve  $\alpha$  toksine karşı antikor titreleri yüksek saptanırken,  $\beta$  toksinine karşı serum antikor düzeyi düşük belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; aşılu grupta yüksek antikor titresine rağmen *S. aureus* kaynaklı mastitis

oluşumu engellenememiş, mastitis oluşumu bakımından aşı ve kontrol grubu arasında bir fark saptanamamıştır. Bu da doğum öncesi dönemdeki nötrofil fonksiyonundaki aksaklığa bağlanmıştır (14).

Düvelerde *S. aureus*'a karşı yapılan bir aşılama çalışmasında, aşı materyali olarak *S. aureus* bakterini,  $\alpha$  ve  $\beta$  toksini ve pseudokapsül içeren bir aşı kullanılmıştır. Çalışma sonucunda aşılı düvelerde *S. aureus* kaynaklı klinik mastitis gözlenmemiş, yalnızca %8,6 oranında *S. aureus* kaynaklı subklinik mastitis belirlenmiştir. Kontrol grubunda *S. aureus* kaynaklı klinik ve subklinik mastitis oranı %16 olarak saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirdiğinde her iki grup arasında bir fark saptanamamıştır. Araştırmacılar aşılamanın yeni enfeksiyonları önleyemediğini ancak şekillenen enfeksiyonun klinik formunun daha az olduğunu saptamış ve aşılamanın mastitise karşı koruyucu bir etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (47).

*S. aureus*'un diğer önemli virulens faktörü protein A'dır ve *S. aureus*'un en büyük hücre duvarı bileşenidir. IgG'lerin Fc bölgelerine bağlanarak *S. aureus*'u fagositozdan korur. Protein A ile aşılama sonucunda oluşan antikorlar bu reaksiyonu geri çevirebilirler (55, 88). Protein A ve *S. aureus* bakterini ile yapılan bir çalışmada *S. aureus* ile enfekte meme loblarının kendiliğinden iyileşme oranı Protein A'lı grupta %83, bakterinli grupta %73 olarak tespit edilmiş ve Protein A ile aşılamanın *S. aureus*'la enfekte meme loblarında bu enfeksiyonun eliminasyonunda etkili olacağı bildirilmiştir (40).

*S. aureus*'a karşı lokal ve sistemik aşılama yaparak aşının hücresel immun tepki üzerindeki etkileri araştırılan bir çalışmada üç grup oluşturulmuştur. Birinci gruba *S. aureus*'un protein A'sı meme içi verilmiş, ikinci gruba *S. aureus* bakterini kas içi yolla uygulanmış ve üçüncü grup olarak kontrol grubu ayrılmıştır. Bakteriyolojik ve SHS verileri analiz edildiğinde, *S. aureus* kaynaklı yeni enfeksiyonların aşı ve aşısız grupta da aynı olduğu saptanmıştır. Ancak enfeksiyonların kendiliğinden iyileşme oranlarında protein A ve bakterinle yapılan aşılama grubunda %73-83, kontrol grubunda ise %47 olarak bulunmuştur. Böylece aşılanmış hayvanlar, enfekte meme loblarından *S. aureus*'u daha kolay elimine ettikleri saptanmıştır. Aşılanmış hayvanlarda fürsternberg rozetinde ve enfekte olmamış meme loblarından yapılan sitolojide tüm hücre tiplerinde bir artış olduğu saptanmıştır (12).

*S. aureus* enfeksiyonunun erken safhalarında en önemli virulens faktörleri adhesinler'dir. Adhesinler; fibronectin, kollegen, fibrinojen ve fibrinlere bağlanarak *S. aureus* enfeksiyonunun şiddetlenmesine yol açarlar. Bazı aşılama çalışmaları da bu adhesinlere karşı yapılmıştır (34, 38, 39). Örneğin bir çalışmada farelerde rekombinant

Kollajen Bağlayıcı Protein (CnBP) ve alfa toksin içeren aşının koruyucu etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada deneysel olarak *S. aureus* enfeksiyonu oluşturulmuş ve aşılamanın fare meme bezini önemli derecede koruduğu tespit edilmiştir. CnBP ve alfa toksin içeren aşı grubundaki hayvanların meme bezlerinde patolojik değişiklikler saptanmazken, CnBP veya alfa toksinle aşılanmış hayvanlarda şiddetli klinik mastitis şekillenmiştir (39). Yine tavşanlarda yapılan deneysel çalışmada aşı materyali olarak kapsüller polisakkarit (CPS), alfa toksin, rekombinant Fibronektin Bağlayıcı Protein (r-FnBP) aşı içeriği olarak kullanılmıştır. Aşı gruplarının hepsinde deneysel enfeksiyonu takiben kanda *S. aureus* sayısı kontrol grubuna göre oldukça düşük belirlenirken, CPS'e karşı antikor cevabı diğer aşı gruplarına göre düşük belirlenmiştir. Yazarlar *S. aureus*'un her üç antijenin aşı materyali olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (38). Yine *S. aureus* adhesinlerinden olan Clumping Faktör A (ClfA)'ya karşı yapılan aşılama sonucu; bu faktöre karşı serumda güçlü ve spesifik antikor titresi saptanmıştır. Nötrofil ve makrofaj fagositozu aşı grubunda artmış ve *in vivo* ortamda *S. aureus*'un daha az virulent olduğu belirlenmiştir (36). ClfA ve FnBP ile yapılan başka bir aşılama çalışmasında, kuru dönemde hücrel ve humoral immunitenin önemli derecede uyarıldığı saptanmıştır. Laktasyon döneminde iken deneysel *S. aureus* enfeksiyonunda aşının meme bezini enfeksiyondan kısmi olarak koruduğu ancak deneysel enfeksiyondan sonra aşılanmış hayvanların sütteki bakteri yükü, yangısal bulgular bakımından kontrol grubuna göre daha iyi olduğu belirlenmiştir (34). Araştırmalar adhesinlere karşı aşılamanın *S. aureus* enfeksiyonuna karşı koruma etkinliğinin olduğu göstermektedir (34, 36, 38, 39).

#### **2.3.4.2 Streptokok Aşıları**

Üç Streptokok türü (*S. uberis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*) üzerine çeşitli immunizasyon çalışmaları yapılmıştır. Ancak araştırmalar özellikle son yıllarda gelişmiş ülkelerde klinik mastitise yol açan *S. uberis* üzerine yoğunlaşmıştır.

*S. uberis*'in canlı bir suşu ve yüzey ekstraktının kullanıldığı aşılama çalışmasında deneysel olarak mastitis oluşturulduğunda kontrol grubunda ve yüzey ekstraktlı aşı grubundaki tüm meme loblarında mastitis gözlenirken, canlı aşı kullanılan grupta mastitis oranı %12,5 olarak saptanmıştır. Aynı zamanda süt numunelerindeki bakteri yükü canlı aşı grubuna göre kontrol ve ekstraktlı aşı grubunda  $10^5$  defa daha fazla saptanmıştır. Canlı aşı grubunda spesifik IgG<sub>2</sub> antikor düzeyi yüksek belirlenirken, IgG<sub>1</sub> ve IgM antikor titreleri arasında bir fark saptanamamıştır. Canlı aşılanmış hayvanların periferik kan lenfositleri kontrol grubu ve ekstraktlı aşı grubundaki lenfositlere göre *in vitro* *S. uberis* antijenlerine karşı

proliferatif cevapları önemli derecede artırmıştır. Buradan yazarlar *S. uberis* enfeksiyonlarında nötrofillerin ve spesifik opsonik antikorların bu bakteriye karşı savunmada rol oynamadığını belirtmişlerdir (67).

Başka bir çalışmada ise *S. uberis*'in canlı suşları kullanılarak hazırlanan aşı bir gruba deri altı yapılmış ve aynı anda *S. uberis*'in yüzey ekstraktı şeklinde hazırlanan başka bir aşıda meme içi verilmiştir, bir gruba da aşı materyali sadece meme içi uygulanmıştır. Çalışmada hem homolog hem de heterolog *S. uberis* suşlarıyla deneysel olarak mastitis oluşturulmuştur. Mastitisin uyarılmasından sonra 10 gün boyunca hayvanlarda bakteriyel iyileşme, SHS, süt verimi ve klinik bulgular gruplar arası değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda *S. uberis*'in homolog suşlarıyla yapılan deneysel enfeksiyona karşı koruma sağlanırken heterolog suşlarla yapılan deneysel enfeksiyona karşı bir koruma sağlanamamıştır. Diğer parametreler bakımından gruplar arasında fark saptanamamıştır (31).

Ölü *S. uberis* aşısı ile yapılan bir çalışmada aşı materyali meme içi ve deri altı yolla verilmiştir. Çalışma sonucunda lokal aşılama ile süt serumunda IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> ve IgM seviyeleri artarken, sistemik olarak yapılan aşılama ise IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> antikor seviyelerinde artış tespit edilmiş ancak IgM de bir artış saptanmamıştır. Lokal ve sistemik aşılama sonucunda meme loblarında etkene bağlı mastitis saptanmamıştır. Aynı zamanda klinik mastitislerin iyileşme süreci oldukça kısa belirlenmiştir (30).

*S. uberis*'in en önemli virulans faktörü plasminojen aktivatörüdür (PauA). *S. uberis* auxotrofik bakteridir. Büyüyüp çoğalabilmesi için dışardan bazı aminoasitler alması gerekmektedir. Bunu da sütte bulunan plasminojeni aktive ederek gerçekleştirir. Plasminojen sütte normalde bulunan bir maddedir ve sütte bulunan  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\delta$  kazeini parçalar. *S. uberis* parçalanmış kazeinden kendisine gerekli olan aminoasitleri temin eder. Özellikle yapılan çalışmalarda bakterinin plasminojen aktivatörü üzerinde durulmaktadır (33, 52, 68).

*S. uberis*'in bir suşundan PauA içeren konsantre süpernatantlı kültürünün deri altı yolla aşı amaçlı uygulandığı bir çalışmada, aşılanmış hayvanlarda farklı bir suşla deneysel enfeksiyon oluşturulmuş ve bu enfeksiyonlara karşı aşılama ile %37,5 ile %62,5 bir koruma sağlandığı bildirilmiştir. Aşılanmış hayvanlarda sütteki bakteriyel yük  $10^3$  cfu/ml iken, aşılanmamış hayvanlarda  $10^7$  cfu/ml civarında saptanmıştır. SHS ise aşı grubta  $3 \times 10^5$  hücre/ml iken aşılanmamış hayvanlarda  $5 \times 10^6$  hücre/ml olarak belirlenmiştir. Bu koruma oluşan antikorların PauA'nın nötralizasyonu ile açıklanmaktadır (33).

Yapılan bir çalışmada, *S. dysgalactiae* ile *S. uberis*'in GapC'sinin %92 oranda identik olduğu saptanmıştır. *S. dysgalactiae* GapC'si ile aşılama sonrasında deneysel uyarılan *S. uberis* enfeksiyonuna karşı koruma sağlanmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte *S. uberis* GapC ile aşılama hayvanlarda *S. uberis*'in heterelog suşuyla yapılan deneysel enfeksiyona karşı koruma sağlandığı bildirilmiştir. Yazarlar bunu *S. uberis*'in GapC'sine karşı oluşan antikorların heterelog suşun GapC'sini bloke etmesine bağlamaktadırlar (29).

Mastitise yol açan diğer önemli bakteri ise *S. agalactiae*'dir. *S. agalactiae*'nin bir yüzey proteini olan Protein X klinik mastitise yol açan suşların büyük çoğunluğundan identifiye edilmektedir ve sığır orjinli *S. agalactiae*'nin suşlarının tiplendirilmesinde kullanılmaktadır. Protein X ile yapılan aşılama çalışmasında bu proteini taşıyan bakterilere karşı serumda opsonik aktivitenin arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda opsonize edilen bakteriler nötrofiller tarafından sindirildiği saptanmıştır. Çalışma sonunda protein X'in opsonizasyon için bir hedef olacağı ve böylelikle *S. agalactiae* mastitislerine karşı aşılama kullanılabileceği belirtilmiştir (100).

*S. uberis*'in plasmin reseptör proteini olan GapC, A grubu Streptokokların plazma bağlanma proteini ile %99,4 identiktir. *S. dysgalactiae* SDG8 suşundan elde edilen 2 ayrı hücre yüzey proteini (GapC ve Mig) aşı amaçlı olarak kullanılmıştır. Çalışmada homolog *S. dysgalactiae* SDG8 suşuyla deneysel enfeksiyon oluşturularak gruplar arasında sütte SDG8 bakteri suşu ve SHS incelenmiştir. Deneysel enfeksiyondan sonra GapC'li grupta süt sekresyonunda oldukça düşük miktarda SDG8 suşu saptanırken Mig'li grupta fark saptanamamıştır. Ancak SHS'ında her iki grupta önemli derecede azalma saptanmıştır. Yazarlar GapC ile aşılamanın *S. dysgalactiae*'ya karşı koruma sağlayacağını bildirmişlerdir (41).

#### **2.3.4.3. *Escherichia coli* Aşıları**

Gram negatif bakterilerin bir çok farklı antijenik yapısı tanımlanmıştır. Bunlardan biri heterojenik ve oligosakkarit yapıda olan "O" veya somatik antijenik yapıdır. Heksoz molekül kompozisyonlarının bağlantıları, yapıları ve sayılarındaki farklılıklarından dolayı çok sayıda "O" antijenik uyarımına neden olur. Bir diğer antijenik yapı ise, somatik yapının altında yer alan, somatik antijenlerin heterojenik yapısına karşın, belirgin olarak kimyasal, yapısal ve immunolojik olarak homolog bir yapıya sahip olan core antijenik yapıdır. Bu homoloji koliform bakterilerde çapraz bir bağışıklık oluşturmasına neden olmaktadır (54, 59, 60).

Teknolojik ilerlemelerle somatik tüm yan zincirlerinin yapımı için gerekli olan spesifik enzimleri üretemeyen mutant bakteriler geliştirilmiştir. Bu enzim yokluğunda yan zincirlerin sentezi olmayacağı için mutant bakterilerin core antijenik alanı açık kalır. Bu tür bakterilere rough-mutant (R-mutant) bakteri adı verilmektedir (59, 60). Koliform bakteriler patogenezin ilk safhalarında çok hızlı çoğaldıkları için bakterilerin core antijenik alanları belli zaman diliminde açık kalır. Mutant bakteriler verilerek oluşturulan immunizasyonda üretilen antikor açık olan bu alanlara bağlanarak bakteriyi opsonize etmektedirler. Bu R-mutant bakteriler ilk defa farelerde 1985 yılında antiserum yapabilmek için geliştirilmiştir (59). Koliform aşılarda bu tür bakteriler kullanılmaktadır. Günümüzde en çok çalışılan bakteriler *E. coli* O111:B4 (J5 suşu), *Salmonella minnesota* (R<sub>c</sub>-595) ve *Salmonella typhimurium* (R-17)'dur (51, 59, 60, 80).

Bakterin J5 ile aşılamalardan sonra şekillenen klinik mastitislerin klinik formunun kontrol grubuna göre oldukça hafif olduğu bildirilmektedir (7-9, 23, 24, 28, 49, 65). Bu azalan yangı derecesi, bakteri üremesinin durdurulmasına, lokal yangı ve sistemik bulguları ortaya çıkartan LPS' opsonize edilmesine bağlanılmaktadır (23, 24, 28).

Yapılan çalışmalarda *E. coli* ye karşı geliştirilen aşının sistemik immunizasyon sonucu Gram negatif kaynaklı mastitislerin görülme oranını azalttığı vurgulanmaktadır (28, 49, 51). Örneğin *E. coli* J5 suşundan hazırlanan aşı ile yapılan bir çalışmada ineklerde doğum sonrası ilk 3 ayda, sadece *E. coli* suşlarına değil özellikle *Klebisella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Serratia* türleri başta olmak üzere koliform mastitislere bir koruma sağlandığı bildirilmektedir (28).

*E. coli* J5 (O111:B4) ile yapılan ve 2.5 yıl süren bir saha çalışmasında, klinik mastitis ve doğal şekillenen meme içi enfeksiyondan koruma etkinliği test edilmiştir. Çalışma sonucunda kontrol grubundaki hayvanlarda laktasyonun ilk 90 gününde aşı grubuna göre 4 kat daha fazla klinik koliform mastitis şekillenmiştir. Diğer patojenlerin oluşturduğu mastitislerde gruplar arasında bir fark saptanmamıştır. Hem total klinik mastitis oranı hem de klinik koliform mastitis oranı birinci yılda kontrol grubunda yüksek bulunurken, 2. ve 3. yılda iki grup içinde aynı bulunmuştur (49).

Yapılan bir çalışmada, aşı materyali olarak Re-17 mutant *Salmonella typhimurium* kullanılmış ve aşılama ile çapraz bağışıklığın şekillenip şekillenmediği ve klinik koliform mastitisler üzerine aşılamanın ne gibi etkileri olacağı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda aşı grubunda daha az koliform kaynaklı mastitis meydana gelmiş ve şekillenen mastitisler daha kısa sürede iyileşmiştir. Aynı periyod içerisinde klinik koliform mastitis kaynaklı ölüm, aşı grubunda %75 daha az gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, Re-17 *S.*



*typhimurium*'la yapılan aşılama ile koliform mastitislere karşı çapraz bir bağışıklığın oluşturulabildiği saptanmıştır (51).

Ancak aşılama sonucu şekillenen immünolojik tepki hala tam olarak bilinmemektedir. Antikorlar endotoksinleri nötralize edebilir, opsonizasyonda görev alır ve komplement sistemini aktive edebilir ancak hücre aracılı immünite açıklanamamaktadır (68). Yapılan aşılama ve sonrasında oluşturulan deneysel mastitiste, kan ve süt serumunda yüksek antikor titresi saptanmıştır. Ancak IgM ve IgG antikor titresi ile bakteri yoğunluğu arasında negatif bir korelasyon olduğu vurgulanmaktadır (24, 28).

Bununla birlikte Bakterin J5 aşılarının etki mekanizmasının; *E. coli* mastitislere için risk faktörleri olan kan nötrofillerinin diapedesis zayıflığı ve nötrofil fonksiyonundaki azalmaların aşılama ile giderilmesi tarzında olduğu ileri sürülmektedir (54).

#### **2.3.4.4 A. pyogenes Aşısı**

*Corynebacterium pyogenes* daha sonra *Actinomyces pyogenes* ve en son olarak da *Arconabacterium pyogenes* olarak adı değiştirilen *A. pyogenes* hemoliysini ve hücre ekstraktının aşı antijeni olarak kullanıldığı bir çalışmada, aşılama sonrasında oluşan antikor titresinin *A. pyogenes* enfeksiyonunun kontrolünde etkili olmadığı bildirilmiştir (37). *A. pyogenes* enfeksiyonunun kontrolünde koruma ve kontrol programlarının önemli olduğunu vurgulamaktadırlar (4).

#### **2.3.4.5. Mycoplasma Aşıları**

Bu enfeksiyona karşı yapılan aşılama sonuçlarının başarısız olduğu bildirilmektedir. Sürülerde koruma ve kontrol programlarının sıkı şekilde uygulanması ve enfekte ineklerin kesime sevk edilmesi tavsiye edilmektedir (4, 5).

#### **2.3.4.6 Polivalan (Kombine) Aşılar**

Mastitislere neden olan bakterilerin fazla sayıda olması nedeniyle kombine aşılar da üretilmiştir. Fakat kombine aşılar ile yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır (6, 46, 63).

Bu tür aşuların saha çalışmalarında aşıları hayvanlarda *S. aureus* kaynaklı meme içi enfeksiyon oranının kontrol grubuna göre önemli şekilde azaldığı saptanırken, aşının diğer bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma sağlamadığı belirlenmiştir (6, 46, 63).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Örneklenen Süt Sığırları

Çalışmada Bursa'nın farklı bölgelerindeki süt sığırı yetiştiriciliği yapan 4 ayrı işletmedeki sağmal süt sığırları kullanıldı. Bu işletmelerin seçiminde hayvanlara daha önce herhangi bir mastitis aşısı uygulanmamış olması belirleyici oldu. 2-10 yaş arasındaki 230 inek ile çalışmaya başlandı. Ancak çalışma grubundaki hayvanlardan 12 adet hayvan zaruri kesim, satılma gibi nedenlerden dolayı sürüden ve dolayısıyla çalışmadan çıkartıldı. Böylece 208 Holstein ve 10 Esmer ırkı olmak üzere toplam 218 süt ineği ile çalışma tamamlandı. 218 hayvanın işletmelere göre dağılımı; birinci işletmede 85, ikinci işletmede 59, üçüncü işletmede 35 ve dördüncü işletmede 39 adet şeklinde oldu. 218 süt ineği ikiye ayrılarak aşı grubu ve kontrol grupları oluşturuldu. Kontrol grubunda 107, aşı grubunda 111 adet inek yer aldı.

Mastitise predispoze edici faktörlerin çok farklı olabileceğinden doğacak sorunları ortadan kaldırmak ve istatistiki yönden bir örnekliliği sağlamak için her işletmedeki hayvanlar aynı bakım ve besleme şartlarında bulunan 2 gruba ayrıldı. Birinci işletmede aşı grubunda 45; kontrol grubunda 40, ikinci işletmede aşı grubunda 29; kontrol grubunda 30, üçüncü işletmede aşı grubunda 18; kontrol grubunda 17, dördüncü işletmede aşı grubunda 19; kontrol grubunda 20 adet hayvan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu. İşletmeleri kendi arasında ikiye bölerken hayvanların ırk, yaş, laktasyon sayısı, laktasyon dönemi, süt verimi gibi özelliklerine bakılarak her iki gruba eşit durumda olan hayvanların ayrılmasına dikkat edildi.

Birinci işletmede 67, ikinci işletmede 50, üçüncü işletmede 30 ve dördüncü işletmede 32 adet hayvan olmak üzere toplam 179 hayvan laktasyonda iken çalışmaya dahil edilirken, birinci işletmede 18, ikinci işletmede 9, üçüncü işletmede 5 ve dördüncü işletmede 7 adet hayvan olmak üzere toplam 39 hayvan ise kuru dönemde iken aşı ve plasebo uygulamaları yapıldı. İşletmelerdeki ve gruplardaki hayvan sayıları Tablo 2 verilmiştir.

**Tablo-2.** İşletmelerde hayvan sayısı ve grupları

Gruplar	1. İşletme		2. İşletme		3. İşletme		4. İşletme	
	Laktasyon Dönemi	Kuru Dönem	Laktasyon Dönemi	Kuru Dönem	Laktasyon Dönemi	Kuru Dönem	Laktasyon Dönemi	Kuru Dönem
<b>Aşı</b>	35	10	24	5	15	3	16	3
<b>Kontrol</b>	32	8	26	4	15	2	16	4
<b>Toplam</b>	67	18	50	9	30	5	32	7
	85		59		35		39	
	218							

İşletmelerin mastitisle mücadelede izledikleri yol ve metotlar tarafımızdan değiştirilmedi. Her işletme sahibinin mevcut uygulamalarının devam ettirilmesi tarzında çalışma sürdürüldü (Tablo 3).

**Tablo-3.** İşletmelere ait çeşitli bilgiler

	1. İşletme	2. İşletme	3. İşletme	4. İşletme
Sağım şekli ve aynı anda sağılan hayvan sayısı	Otomatik Sağım 20 Hayvan	Otomatik Sağım 10 Hayvan	Kovalı Sağım 5 Hayvan	Kovalı Sağım 4 Hayvan
Sağım öncesi vakum ve makine ayarları yapılıyor mu?	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Memenin sağım öncesi temizliği ?	Tazyikli Sıcak Su	Tazyikli Su	Su ve Sünger	Ilık Su ve Sünger
Sağım öncesi memeler kuruluyor mu?	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Sağım öncesi teat-dipping yapılıyor mu ?	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Sağım sonrası teat dipping yapılıyor mu?	Evet	Hayır	Hayır	Evet
Kuru dönem antibiyotik uygulaması var mı?	Evet	Hayır	Hayır	Evet

### 3.2. Uygulanan Aşı

En sık görülen mastitis etkenlerine karşı üretilmiş, ticari inaktif yağlı bir aşı olan Hipramastivac® (Hipra Laboratorios S.A. İspanya) aşısı kullanıldı. Aşı içeriğinde; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus galactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactia*, *Staphylococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arconabacterium pyogenes* antijenlerini bulunmaktadır.

Aşının dozajı ve uygulanması prospektüsüne uygun olarak tatbik edildi. İlk uygulama laktasyonun ve kuru dönemin her hangi bir döneminde derin kas içi yolla 3 ml ve dört hafta sonra ikinci uygulama yine 3 ml dozda tekrar edildi. Kontrol grubuna aşı yerine plasebo uygulaması yapıldı.

### 3.3. Muayeneler ve Numune Alınması

Dört işletmedeki aşı ve kontrol grubundaki hayvanların aşı ve plasebo uygulamalarından önce ve sonra çalışma boyunca CMT muayeneleri, Bireysel Somatik Hücre Sayıları, klinik mastitisli ve CMT (+3) meme loblarındaki bakteriyolojik yoklamaları ve klinik mastitis vakaları takip edildi. Aynı zamanda kuru dönemde aşılanan hayvanların doğum yaptıktan sonraki dönemlerde yukarıda belirtilen muayeneleri yapıldı.

#### 3.3.1. Somatik Hücre Sayısı

Aşı ve plasebo uygulamalarından önce ve sonra altı ay boyunca her bir hayvanın dört meme lobundaki süt numunelerinde Somatik Hücre Sayıları tespit edildi. Numuneler sağım öncesi memeler yıkanıp meme başlıkları takılmadan önce dört meme lobundan ilk çekim sütler atıldıktan sonra 10 ml'lik numune tüplerine süt örnekleri alındı. Numunelerin laboratuvara ulaşımında meydana gelecek bozulmalara karşı her bir süt numunesi içerisine prezervatif olarak 20 mg Potasyum dikromat konuldu. SHS saptanmasında Direkt Mikroskopik Hücre Sayım Yöntemi (DMHSY) kullanıldı.

##### 3.3.1.1. Direkt Mikroskopik Hücre Sayım Yöntemi

Somatik hücre sayımları için , iyice karıştırılmış süt örnekleri 0,01 ml pipetle alınarak lamalar üzerindeki 100 mm<sup>2</sup> lik alana yayıldı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Sonra hafifçe alevin üzerinden geçirilerek lama fiske edildi. Preperatlar, yağların giderilip tespit edilmesi için içerisinde %52 ml absolut alkol,% 44 ml ksilol, %4 ml glacial asetik asit bulunan tespit solüsyonu ile 7 dakika muamele edildi. Tespitten sonra Giemsa ile 15 dakika boyandı. Boyanın fazlası hafif akan çeşme suyunda giderildi. Boyanmış preperatlar

kurumaya bırakıldı. Preperatlar ışık mikroskopunda immersiyon objektifi kullanılarak sayıldı (101). Her preparatta 7 saha sayılarak elde edilen hücre sayısı, 1 ml sütteki SHS'ni bulmak için 10 000 çalışma faktörü ile çarpıldı. Çalışma faktörünün hesaplanması International Dairy Federation'un bildirimine göre yapıldı (103).

d: bir mikroskop sahasının çapı mm cinsinden ölçüldü.

f: sayılan saha adedi

Bir mikroskop sahasının çapı =  $\pi \times d^2 / 4 = 3,14 \times 4,2^2 / 4 = 55,38 / 4 = 13,84$

7 saha yaklaşık 100 mm<sup>2</sup> alan denk gelmektedir (7 x 13,84 = 96,88)

Çalışma faktörü =  $100 \times 100 \times 4 / \pi \times d^2 \times f = 40\ 000 / 3,14 \times 4,2^2 \times 7 = 40\ 000 / 387 \approx 100$ . 0,01 ml için 100 çalışma faktörü hesaplandığı için bu sayı 1 ml için 10 000 çalışma faktörü olarak belirlendi.

### 3.4. Klinik Mastitis Tanısı

Aylık periyodik muayenelerde memesinde kızarıklık, şişkinlik, ağrı, sıcaklık artışı, ödem ve/veya anormal süt karakteri gibi bir veya birden fazla bu gibi semptomları olan hayvanlar klinik mastitisli hayvanlar olarak kabul edildi. Ayrıca muayene aralıklarında işletmede ortaya çıkan mastitis vakaları işletme sahibinin haber vermesi ile kayda alındı. Aynı zamanda mümkün olduğunca oluşan klinik mastitislerin takibi yapılarak yangının şiddeti, iyileşme süreleri ve tedaviye verdikleri cevap takip edildi.

### 3.5. CMT Muayeneleri

CMT muayeneleri kontrol ve aşı grubundaki tüm hayvanlara çalışma süresince uygulandı. Aşı ve plesebo uygulamadan önce işletmelerde CMT ile mastitis taraması yapılarak mevcut durumları ortaya konuldu ve daha sonra yapılan muayenelerde meme sağlığı takip edildi. Testin uygulanmasında dört bölümlü plastik test kapları ve CMT solüsyonu kullanıldı. CMT sütteki artan hücre sayısını ve pH'yı indirekt olarak tespit etmede kullanılan bir yöntemdir. CMT içindeki brom kreosol purpur artan Ph' yı, aryl alkil sulfanat ise artan hücre sayısını gösterir. CMT uygulanmasını ve değerlendirmesini SCHALM ve ark.'nın (102) tarif ettikleri şekilde yapıldı. Her memeden 2 ml süt bölmelere alınarak üzerine eşit miktarda indikatör olarak CMT solüsyonu konularak oluşan karışımın rengine ve jel oluşumuna bakılarak sütün lökosit sayısı ve Ph değeri derecelendirildi (Tablo-4).

**Tablo-4.** California Mastitis Testinin değerlendirilmesi ve olası SHS

	Derece	Değerlendirme	Açıklama	Somatik Hücre Sayısı SHS/ml
1	-	Negatif	Süt ve test ayırıcı karışımı sıvı haldedir ve değişim yoktur.	0 - 200 000
2	Şüpheli	Şüpheli	Karıştırıldığında kaybolan çok hafif jel oluşumu vardır.	150 000 - 500 000
3	+	Pozitif	Üstte kolay akan altta hafif jelleşen tabakalaşma oluşur.	400 000 - 1 500 000
4	++	Pozitif	Karışım jel oluşumu ile koyulaşır, çalkalanınca kabın kenarına yayılır	800 000 – 5 000 000
5	+++	Pozitif	Süt ve ayıraç karıştırıldığında hemen jel oluşur, viskozitesi yüksektir, çalkalanınca kabın dibine yapışır.	5 000 000 ve üzeri

### 3.6. Bakteriyolojik Analizler

Klinik mastitisli ve CMT(+3) saptanan meme loblarından bakteriyolojik muayene için numune alındı. CMT ve SHS’ında olduğu gibi, bu muayenelerde de aşı uygulanmadan önce bu durumdaki hayvanlardan numune alınarak sürünün bakteriyolojik olarak durumu ortaya konuldu. Numune alımı sürecinde, sağımdan önce memenin yıkanmasından sonra kuru havlu ile ıslak meme başı silinerek kurulandı takiben alkollü pamuk ile meme başı dezenfekte edildi. İlk sıkım süt dışarı sağıldıktan sonra steril numune tüplerine yaklaşık 10 ml süt alındı. Soğuk zincir altında en kısa sürede mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

Bakteriyolojik analizler; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından bakteriyoloji laboratuvarında yapıldı. Süt numunelerinden örnekler, ilk önce kanlı agar besi yerine ekildi. Üreyen koloniler; koloni morfolojisi ve Gram boya özelliklerine göre değerlendirildi. Bakterilerin identifikasyonunda BBL CRYSTAL (Becton-Dickinson, Sparks, USA) Gram-Pozitif ID sistem ve Enteric/Nonfermenter ID Sistem kitleri kullanılarak kendi bilgisayar programında değerlendirildi.

### 3.7. İstatistik Analizler

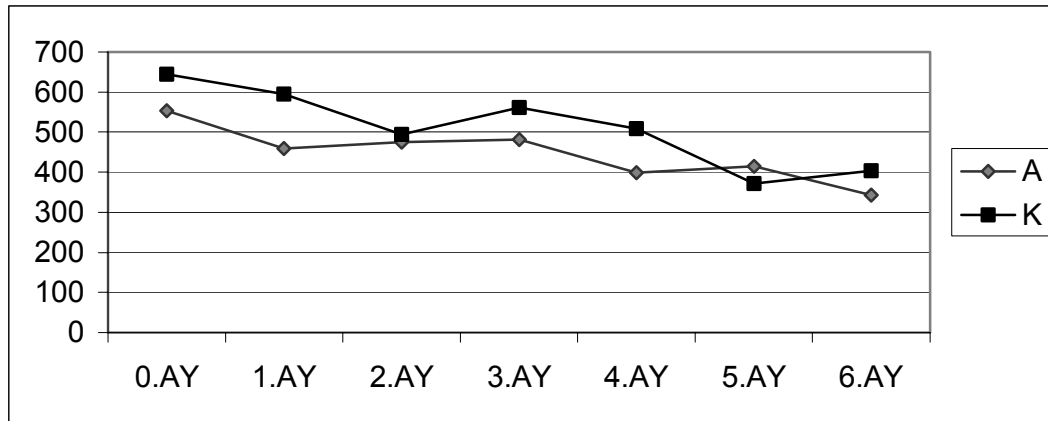
SHS deki değişimlerin istatistik analizleri SPSS 12.0 paket programı ile ANNOVA ve kukla regresyon analiz yöntemi olmak üzere iki ayrı yöntemle değerlendirilirken, CMT sonuçları Tukey HSD testi ile, klinik mastitis ve bakteriyolojik sonuçlar ise z-oran testi kullanılarak karşılaştırıldı.

## 6. BULGULAR

Aşı ve plesebo uygulamaları gereç ve yöntemde belirtilen proseüdüre göre yapıldıktan sonra hayvanlar gelişebilecek bir alerjik reaksiyona karşı en az yarım saat gözlem altında tutuldular. Aşı uygulamaları sonrasında hayvanların hiçbirinde alerjik reaksiyon ve aşılama sonrası yapılan sağımlarda süt veriminde ve süt kalitesinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Aşı kuru dönemdeki hayvanlara da uygulandı. Gebe ve kuru dönemdeki hayvanlarda gebelikle ilgili herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmadı. Sadece bazı hayvanlarda aşı yapılan bölgede aşı reaksiyonuna bağlı ufak şişkinlikler oluştu. Ancak bu şişkinlikler takip eden günlerde kendiliğinden kayboldu.

### 6.1. SHS Bulguları

#### 6.1.1. Dört İşletmede Genel SHS Dağılımı



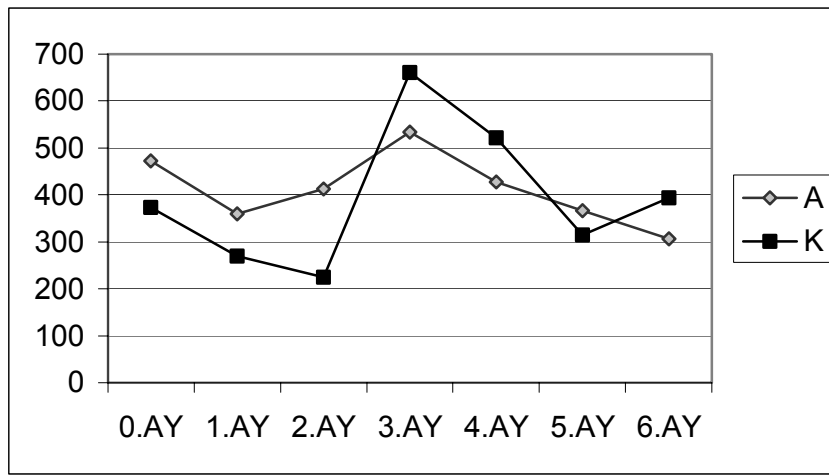
Şekil-1. Dört işletmede genel SHS dağılımı (A: aşı K: kontrol)

Kontrol grubundaki hayvanlarda çalışmanın başlangıcında ortalama SHS  $\pm 644\ 000$  hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 595\ 000$  hücre/ml, ikinci ayda  $\pm 494\ 000$  hücre/ml olacak şekilde bir azalma gözlemlendi. Daha sonra üçüncü ayda  $\pm 562\ 000$  hücre/ml düzeyine yükselmesini takiben, dördüncü ve beşinci ayda tekrar bir inişle sırasıyla önce  $\pm 509\ 000$  hücre/ml ve sonra minimum seviye olarak belirlediğimiz  $398\ 000$  hücre/ml seviyesine kadar geriledi, altıncı ayda, en son ölçümlerde SHS  $\pm 404\ 000$  hücre/ml seviyesinde belirlendi.

Aşı grubunda çalışmanın başlangıcında ortalama SHS  $\pm 544$  000 hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 459$  000 hücre/ml, ikinci ayda  $\pm 475$  000 hücre/ml, üçüncü ayda  $\pm 482$  000 hücre/ml, dördüncü ayda  $\pm 399$  000 hücre/ml kadar geriledi. Beşinci ayda  $\pm 415$  000 hücre/ml'ye çok hafif yükselirken, çalışma sonunda  $\pm 343$  000 hücre/ml seviyelerine geriledi.

Aşı ve kontrol grubuna göre SHS'lerinde zaman içinde bir azalma meydana geldiği saptandı, ancak bu seyir aşı ve kontrol gruplarında benzerlik gösterdiğinden istatistiksel olarak anlamlı çıkmamış, yani SHS'si bakımından gruplar arasında, SPSS Anova ile yapılan analizler sonucunda, aşı ve kontrol grupları arasında bir fark bulunamadı ( $P > 0,05$ ).

### 6.1.2. Birinci İşletmede SHS Dağılımı



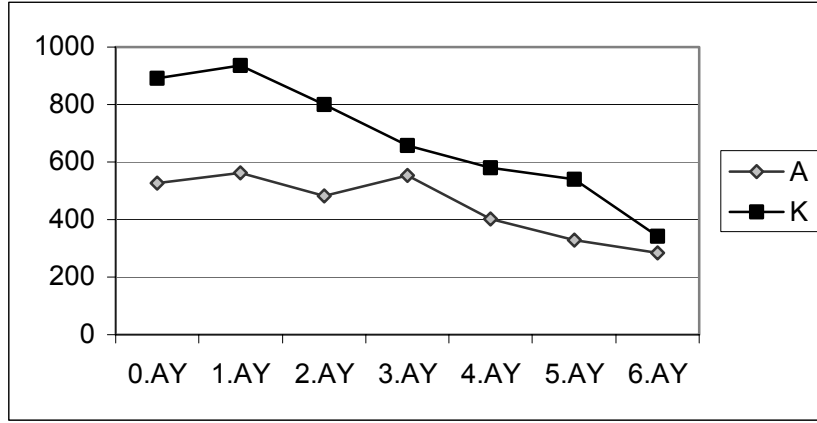
Şekil-2. Birinci işletmede SHS dağılımı (A: aşı, K: kontrol)

Kontrol grubunun ortalama SHS birinci işletmede çalışma başlangıcında  $\pm 373$  000 hücre/ml iken, birinci ayda  $\pm 270$  000 hücre/ml'ye, ikinci ayda  $\pm 225$  000 hücre/ml'ye kadar düşme gözlemlendi, üçüncü ayda bir pik yaparak  $\pm 660$  000 hücre/ml seviyesine ulaştı. Ardından dördüncü ayda  $\pm 521$  000 hücre/ml'ye, beşinci ayda  $\pm 315$  000 hücre/ml'ye düşmüş ve son ayda  $\pm 393$  000 hücre/ml seviyesinin belirlenmesiyle tekrar hafif bir yükselme ile sonlandı.

Birinci işletmede çalışma başlangıcında aşı grubunun ortalama SHS  $\pm 473$  000 hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 360$  000 hücre/ml'ye düşmüş, ancak ikinci ayda  $\pm 413$  000 hücre/ml, üçüncü ayda ise  $\pm 534$  000 hücre/ml olacak şekilde tekrar yükselmiştir. Takiben çalışma sonuna kadar süren bir alçalma eğilimi ile dördüncü ayda  $\pm 428$  000 hücre/ml, beşinci ayda  $\pm 366$  000 hücre/ml ve çalışmanın son ayında  $\pm 307$  000 hücre/ml seviyesine kadar bir düşüş gözlemlendi.



### 6.1.3. İkinci işletmede SHS Dağılımı

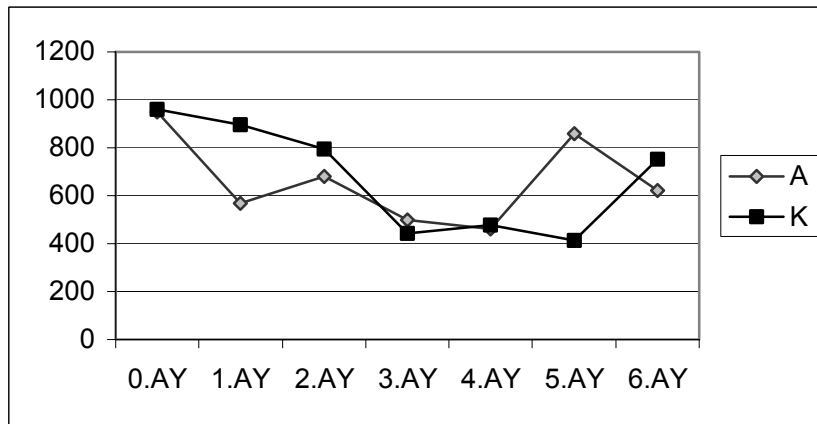


Şekil-3. İkinci işletmede SHS dağılımı (A: aşı, K: kontrol)

Kontrol grubundaki hayvanların çalışma başlangıcında ortalama SHS  $\pm 892\ 000$  hücre/ml iken, birinci ayda hafif bir yükselme ile  $\pm 936\ 000$  hücre/ml'ye yükseldi. Bu aydan sonra altıncı aya kadar azalarak düşmeler gözlemlendi ve SHS sırasıyla ikinci ayda  $\pm 800\ 000$  hücre/ml, üçüncü ayda  $\pm 658\ 000$  hücre/ml, dördüncü ayda  $\pm 580\ 000$  hücre/ml, beşinci ayda  $\pm 539\ 000$  hücre/ml ve altıncı ayda  $\pm 342\ 000$  hücre/ml olarak saptandı.

Aşı grubunun çalışma başlangıcında ortalama SHS  $\pm 526\ 000$  hücre/ml iken birinci ayda hafif bir yükselme ile  $\pm 562\ 000$  hücre/ml'ye çıktı. İkinci ayda tekrar gerileyerek  $\pm 482\ 000$  hücre/ml olmuştur ve üçüncü ayda  $\pm 554\ 000$  hücre/ml'ye yükselirken daha sonraki aylarda azalarak dördüncü ayda  $\pm 402\ 000$  hücre/ml, beşinci ayda  $\pm 330\ 000$  hücre/ml ve altıncı ayda  $\pm 285\ 000$  hücre/ml'ye kadar gerildi.

### 6.1.4. Üçüncü işletmede SHS Dağılımı

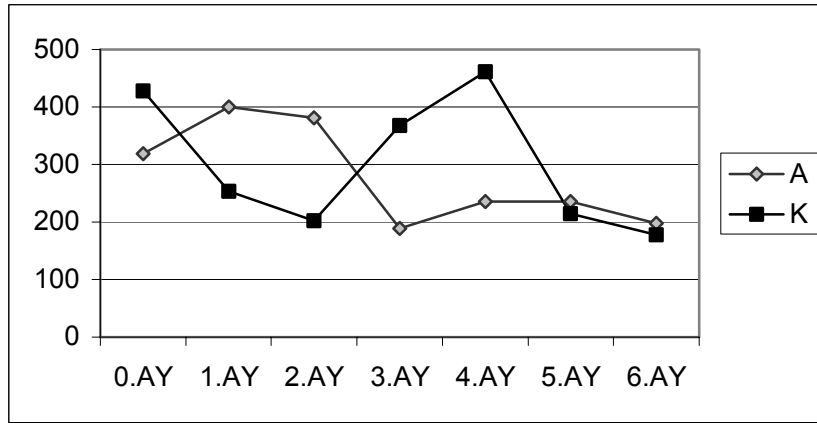


Şekil-4. Üçüncü işletmede SHS dağılımı (A: aşı, K: kontrol)

Kontrol grubundaki hayvanların ortalama SHS  $\pm 961\ 000$  hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 897\ 000$  hücre/ml, ikinci ayda  $\pm 796\ 000$  hücre/ml ve üçüncü ayda  $\pm 442\ 000$  hücre/ml seviyelerine kadar geriledi. Sonra çok hafif bir yükselme ile dördüncü ayda  $\pm 477\ 000$  hücre/ml olurken tekrar bir düşme ile beşinci ayda en alt seviye olan  $\pm 414\ 000$  hücre/ml'ye geriledi. Altıncı ayda tekrar yükselme ile  $\pm 752\ 000$  hücre/ml seviyesine çıktı.

Aşı grubunun üçüncü işletmede çalışma başlangıcında ortalama SHS  $\pm 949\ 000$  hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 568\ 000$  hücre/ml kadar düşme gözlemlendi. İkinci ayda ise tekrar  $\pm 631\ 000$  hücre/ml'ye yükseldikten sonra üçüncü ayda  $\pm 499\ 000$  hücre/ml ve dördüncü ayda  $\pm 461\ 000$  hücre/ml seviyelerine kadar gerilediği gözlemlendi. Beşinci ayda birden  $\pm 858\ 000$  hücre/ml yükseldikten sonra altıncı ayda düşerek  $\pm 622\ 000$  hücre/ml seviyesinde son buldu.

#### 6.1.5. Dördüncü işletmede SHS Dağılımı



Şekil-5. Dördüncü işletmede SHS dağılımı (A: aşı, K: kontrol)

Dördüncü işletmede kontrol grubunda çalışma başlangıcında ortalama SHS  $\pm 428\ 000$  hücre/ml iken, birinci ayda  $\pm 253\ 000$  hücre/ml sonra da ikinci ayda  $\pm 202\ 000$  hücre/ml seviyelerine kadar düştüğü gözlemlendi. Üçüncü ayda  $\pm 368\ 000$  hücre/ml'ye ve dördüncü ayda  $\pm 461\ 000$  hücre/ml'ye kadar yükseldikten sonra beşinci ayda  $\pm 214\ 000$  hücre/ml ve altıncı ayda en alt seviye olan  $\pm 178\ 000$  hücre/ml'ye kadar geriledi.

Aşı grubunun çalışma başlangıcında ortalama SHS  $\pm 319\ 000$  hücre/ml iken birinci ayda  $\pm 400\ 000$  hücre/ml'ye yükseldikten sonra üçüncü ayda hafif bir düşme ile  $\pm 381\ 000$  hücre/ml oldu. Üçüncü ayda  $\pm 189\ 000$  hücre/ml gibi düşük bir seviyeye ulaştıktan sonra dördüncü ayda  $\pm 236\ 000$  hücre/ml seviyesine çıktı. Beşinci ayda  $\pm 236\ 000$  hücre/ml ve altıncı ayda  $\pm 198\ 000$  hücre/ml seviyelerinde belirlendi.

SHS'ları bakımından her işletme ayrı olarak kendi içerisinde değerlendirildiğinde de, işletmelerdeki aşı ve kontrol gruplarının SHS ortalamaları arasında anlamlı bir fark saptanamadı. Sadece birinci işletmede üçüncü ayda aşı grubunun SHS ( $\pm 534\ 000$  hücre/ml), kontrol grubunun SHS'sına ( $\pm 660\ 000$  hücre/ml) göre daha düşük tespit edildi ( $P < 0,05$ ).

İşletmeler incelendiğinde SHS bulgularına göre en iyi durumda olan dördüncü işletmenin olduğu görülmektedir. Kukla regresyon analiz yönteminde en iyi durumda olan dördüncü işletme baz alınarak yapılan istatistiki değerlendirmede SHS aşı grubunda kontrol grubuna göre azalma meydana gelmektedir. Ancak istatistiki olarak azalma önemsiz bulundu ( $P < 0,05$ ).

Bu metot da SHS'lerin logaritması alınarak yapıldı. Burada işletme faktörü (Ç1, Ç2, Ç3), aşılı olup olmama durumu (AK) ve ay değişkeni (AY) gibi SHS'ye etki eden faktörler haricinde diğer faktörler sabit sayıldı. Ayrıca meme loplardaki hücre sayısı 250 000 hücre/ml'den yukarı olan loblar hasta (H1) olarak kabul edildi. Tanımlar sonucunda yapılan değerlendirmede yukarıdaki değişkenler hücre sayısındaki değişimlerin % 23'ünü açıklayabilmektedir ( $r^2 = 23$ ).

$$\text{Log. (lob)} = 5\text{Ç} - 0,04\text{AK} + 0,08\text{Ç}1 + 0,02\text{Ç}2 + 0,29\text{Ç}3 + 0,8\text{H}1 - 0,03\text{AY}$$

Lopların aşılı olması durumunda hücre sayısı kontrol grubuna göre azalmaktadır ( $-0,04\text{AK}$ ). Ancak bu azalmaların istatistiki olarak önemsiz olduğu saptandı ( $P > 0,05$ ).

Birinci işletme (Ç1), ikinci işletme (Ç2) ve üçüncü işletmedeki (Ç3) somatik hücre sayısı işletme dörde (Ç4) göre anlamlı biçimde yüksek olarak belirlendi ( $P < 0,01$ ).

Hasta ( H1 ) tanımı yapıldığında meme loblarında somatik hücre sayısının önemli derecede arttığı tespit edildi ( $P < 0,01$ ).

Ay ilerledikçe hücre sayısının istatistiki olarak azaldığı saptandı ( $P < 0,01$ ).

Ayrıca loplardaki hücre sayısı 500 000 hücre/ml' den yukarı olan meme lopları da hasta ( H2 ) olarak kabul edildi. Bu tanıma göre yapılan değerlendirmede yukarıdaki değişkenler somatik hücre sayısındaki değişimlerin % 28'ini açıklayabilmektedir ( $r^2 = 28$ ).

$$\text{Log. (lob)} = 5,12\text{Ç} - 0,04\text{AK} + 0,095\text{Ç}1 + 0,177\text{Ç}2 + 0,243\text{Ç}3 + 0,91\text{H}2 - 0,01\text{AY}$$

Lopların aşılı olması durumunda somatik hücre sayısı kontrole göre azalmaktadır. Ancak bunun istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlendi ( $P > 0,05$ ).

Birinci işletme (Ç1), ikinci işletme (Ç2) ve üçüncü işletmedeki (Ç3) somatik hücre sayısı işletme dörde (Ç4) göre anlamlı biçimde yüksek saptandı ( $P < 0,01$ ).

H2 tanımı yapıldığında meme loblarında somatik hücre sayısını önemli derecede arttığı bulundu ( $P < 0,01$ ).

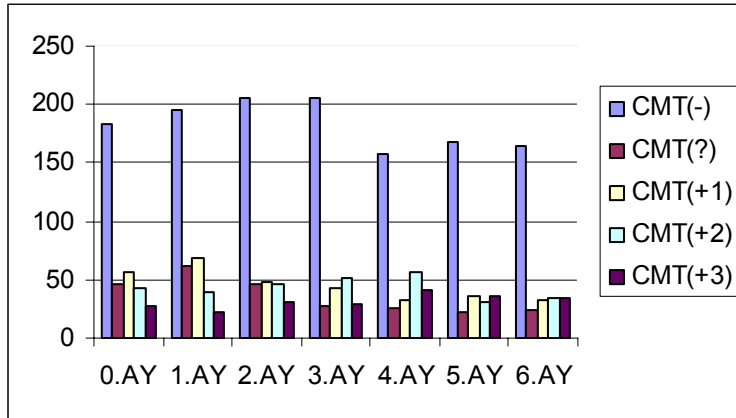
Ay ilerledikçe hücre sayısının önemli derecede azaldığı saptandı (P<0,01).

## 6.2. CMT Bulguları

Dört işletmede çalışma süresince toplam 4894 meme lobuna CMT muayenesi yapılmıştır. 4894 meme lobunun 2371 meme lobu kontrol grubunda yer alan hayvanlara, 2523 adet meme lobu aşı grubundaki hayvanlara aittir. Dört işletmede kontrol ve aşı gruplarında saptanan CMT bulguları aşağıdaki tablo-5 ve 6'da verilmiştir.

**Tablo-5.** Dört işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

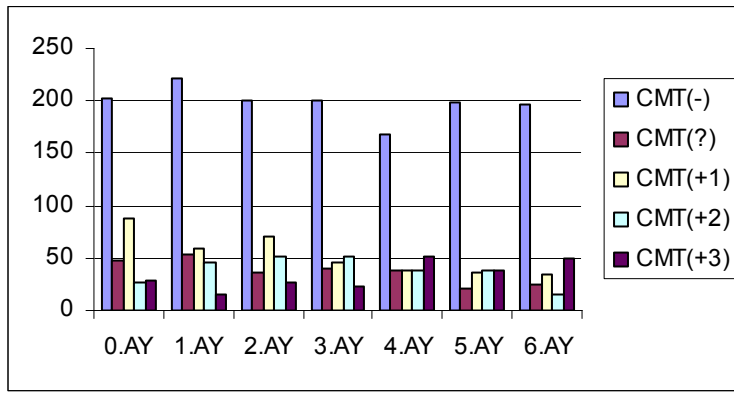
	CMT(-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	183 (%51,4)	46 (%12,9)	56 (%15,7)	43 (%12,0)	28 (%7,8)
1.AY	195 (%50,2)	61 (%15,7)	69 (%17,7)	40 (%10,3)	23 (%5,9)
2.AY	205 (%55,6)	46 (%12,2)	48 (%12,8)	46 (%12,2)	30 (%8,0)
3.AY	205 (%57,5)	28 (%7,8)	43 (%12,0)	51 (%14,3)	29 (%8,1)
4.AY	158 (%50,4)	25 (%7,9)	32 (%10,2)	57 (%18,2)	41 (%13,0)
5.AY	168 (%57,5)	23 (%7,8)	36 (%12,2)	30 (%10,2)	36 (%12,2)
6.AY	165 (%56,8)	24 (%8,2)	32 (%11,0)	34 (%11,7)	35 (%12,0)



**Şekil-6.** Dört işletmede Kontrol Grubunun CMT bulguları

**Tablo-6.** Dört işletmede aşı grubunun CMT bulguları

	CMT(-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	203 (%51,3)	48 (%12,1)	88 (%22,2)	27 (%6,8)	29 (%7,3)
1.AY	222 (%56,2)	53 (%13,4)	59 (%14,9)	45 (%11,3)	16 (%4,0)
2.AY	201 (%52,0)	36 (%9,3)	71 (%18,3)	52 (%13,4)	26 (%6,7)
3.AY	201 (%55,5)	41 (%11,3)	46 (%12,7)	52 (%14,3)	22 (%6,0)
4.AY	168 (%50,1)	39 (%11,6)	38 (%11,3)	39 (%11,6)	51 (%15,2)
5.AY	198 (%59,8)	21 (%6,3)	36 (%10,8)	38 (%11,4)	38 (%11,4)
6.AY	197 (%61,7)	24 (%7,5)	34 (%10,6)	15 (%4,7)	49 (%15,3)



**Şekil-7.** Dört işletmede aşı grubunun CMT bulguları

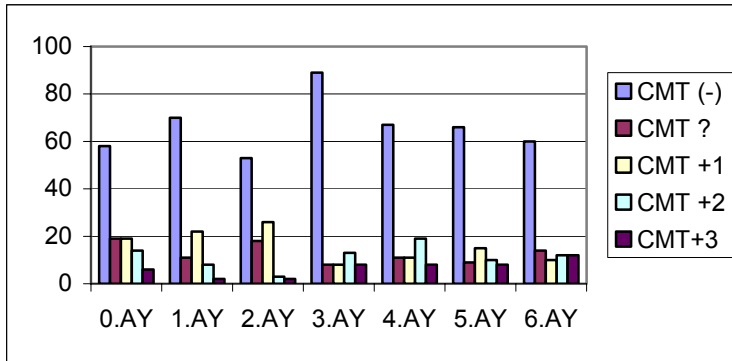
Çoklu karşılaştırma içerisinde yer alan Tukey HSD testine göre CMT bulgularını karşılaştırdığımızda, aşı ve kontrol grupları arasında CMT (-), CMT (?), CMT (+1), CMT (+2), CMT (+3) meme lobları sayısı yönünden istatistiki olarak %5 anlamlılık düzeyinde bir farklılık saptanmadı ( $P>0,05$ ).

### 6.2.1. Birinci işletmede CMT Bulguları

Birinci işletmede çalışma süresi olan 0-6 ay arasında toplam 1763 CMT muayenesi yapılmıştır. 1763 muayenenin 789 adedi kontrol grubunda 974 adedi de aşı grubundadır. Kontrol ve aşı grubunda aylara göre saptanan CMT bulguları aşağıdaki tablo-7 ve 8'de verilmiştir.

**Tablo-7.** Birinci işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

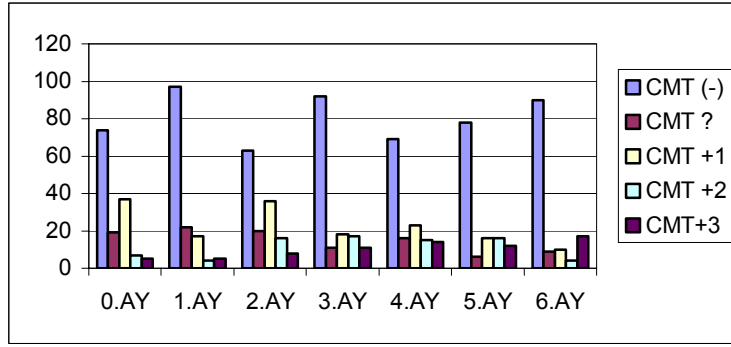
	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	58 (%50,0)	19 (%16,3)	19 (%16,3)	14 (%12,0)	6 (%5,1)
1.AY	70 (%61,9)	11 (%9,7)	22 (%19,3)	8 (%7,0)	2 (%1,7)
2.AY	53 (%51,9)	18 (%17,6)	26 (%25,4)	3 (%2,9)	2 (%1,9)
3.AY	89 (%70,6)	8 (%6,3)	8 (%6,3)	13 (%10,3)	8 (%6,3)
4.AY	67 (%57,7)	11 (%9,4)	11 (%9,4)	19 (%16,3)	8 (%6,8)
5.AY	66 (%61,1)	9 (%8,3)	15 (%13,8)	10 (%9,2)	8 (%7,4)
6.AY	60 (%55,5)	14 (%12,9)	10 (%9,2)	12 (%11,1)	12 (%11,1)



**Şekil-8.** Birinci işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

**Tablo-8.** Birinci işletmede aşı grubunun CMT bulguları

	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	74 (%52,1)	19 (%13,3)	37 (%26,0)	7 (%4,9)	5 (%3,5)
1.AY	97 (%66,8)	22 (%15,1)	17 (%11,7)	4 (%2,7)	5 (%3,4)
2.AY	63 (%44,0)	20 (%13,9)	36 (%25,1)	16 (%11,1)	8 (%5,5)
3.AY	92 (%61,7)	11 (%7,3)	18 (%12,0)	17 (%11,4)	11 (%7,3)
4.AY	69 (%50,3)	16 (%11,6)	23 (%16,7)	15 (%10,9)	14 (%10,2)
5.AY	78 (%60,9)	6 (%4,3)	16 (%12,5)	16 (%12,5)	12 (%9,3)
6.AY	90 (%69,2)	9 (%6,9)	10 (%7,6)	4 (%3,0)	17 (%13,0)



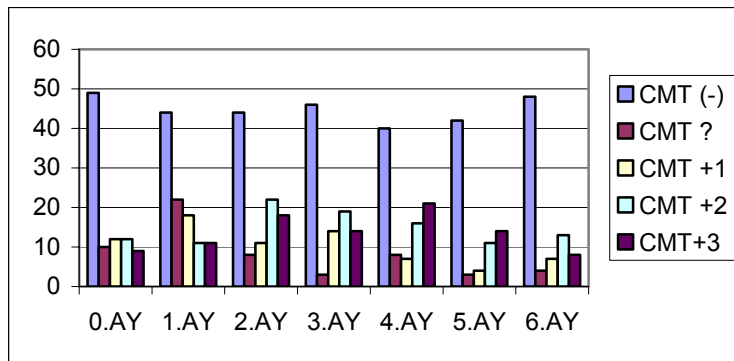
Şekil-9. Birinci işletmede aşı grubunun CMT bulguları

## 6.2.2. İkinci İşletmede CMT Bulguları

İkinci işletmede, çalışma süresi olan 0-6 ay arasında toplam 1345 CMT muayenesi yapılmıştır. 1345 muayenenin 643 adedi kontrol grubunda, 702 adedi de aşı grubundadır. Kontrol ve aşı grubunda aylara göre saptanan CMT bulguları aşağıdaki tablo-9 ve 10'da verilmiştir.

Tablo-9. İkinci işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

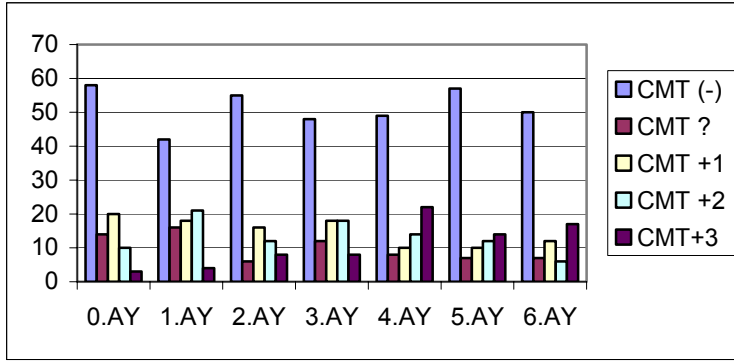
	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	49 (%53,2)	10 (%10,8)	12 (%13,0)	12 (%13,0)	9 (%9,7)
1.AY	44 (%41,5)	22 (%20,7)	18 (%16,9)	11 (%10,3)	11 (%10,3)
2.AY	44 (%42,7)	8 (%7,7)	11 (%10,6)	22 (%21,3)	18 (%17,4)
3.AY	46 (%47,9)	3 (%3,1)	14 (%14,5)	19 (%19,7)	14 (%14,5)
4.AY	40 (%43,4)	8 (%8,6)	7 (%7,6)	16 (%17,3)	21 (%22,8)
5.AY	42 (%56,7)	3 (%4,0)	4 (%5,4)	11 (%14,8)	14 (%18,9)
6.AY	48 (%60,0)	4 (%5,0)	7 (%8,7)	13 (%16,2)	8 (%10,0)



Şekil-10. İkinci işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

**Tablo-10.** İkinci işletmede aşı grubunun CMT bulguları

	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	58 (%55,2)	14 (%13,3)	20 (%19,4)	10 (%9,5)	3 (%2,3)
1.AY	42 (%41,5)	16 (%15,8)	18 (%17,8)	21 (%20,7)	4 (%3,9)
2.AY	55 (%56,7)	6 (%6,1)	16 (%16,4)	12 (%12,3)	8 (%8,2)
3.AY	48 (%46,1)	12 (%11,5)	18 (%17,3)	18 (%17,3)	8 (%7,5)
4.AY	49 (%47,5)	8 (%7,7)	10 (%9,7)	14 (%13,5)	22 (%21,3)
5.AY	57 (%57,0)	7 (%7,0)	10 (%10,0)	12 (%12,0)	14 (%14,0)
6.AY	50 (%54,3)	7 (%7,6)	12 (%13,0)	6 (%6,5)	17 (%18,4)



**Şekil-11.** İkinci işletmede aşı grubunun CMT bulguları

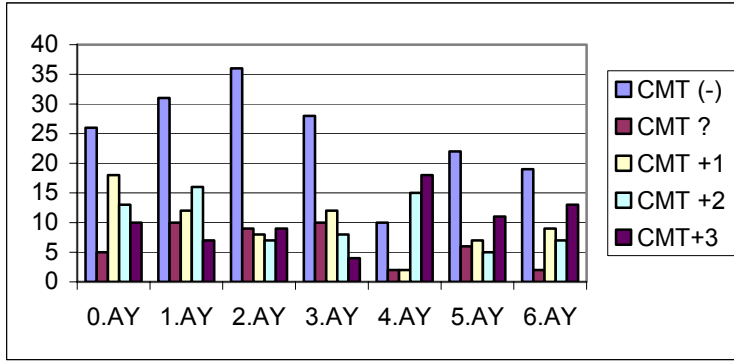
### 6.2.3. Üçüncü işletmede CMT Bulguları

Üçüncü işletmede, çalışma süresi olan 0-6 ay arasında toplam 866 CMT muayenesi yapılmıştır. 866 muayenenin 427 adedi kontrol grubunda 439 adedi de aşı grubundadır. Kontrol ve aşı grubunda aylara göre saptanan CMT bulguları aşağıdaki tablo-11 ve 12’de verilmiştir.



**Tablo-11.** Üçüncü işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

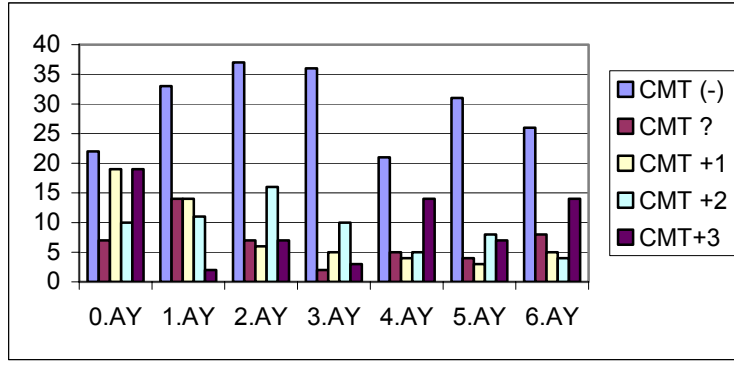
	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	26 (%36,1)	5 (%6,9)	18 (%25,0)	13 (%18,0)	10 (%13,8)
1.AY	31 (%40,7)	10 (%13,1)	12 (%15,7)	16 (%21,0)	7 (%9,2)
2.AY	36 (%52,1)	9 (%13,0)	8 (%11,5)	7 (%10,1)	9 (%13,0)
3.AY	28 (%45,1)	10 (%16,1)	12 (%19,3)	8 (%12,9)	4 (%6,4)
4.AY	10 (%21,2)	2 (%4,2)	2 (%4,2)	15 (%31,9)	18 (%38,2)
5.AY	22 (%43,1)	6 (%11,7)	7 (%13,7)	5(%9,8)	11 (%21,5)
6.AY	19 (%38,0)	2 (%4,0)	9 (%18,0)	7 (%14,0)	13 (%26,0)



**Şekil-12.** Üçüncü işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

**Tablo-12.** Üçüncü işletmede aşı grubunun CMT bulguları

	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	22 (%28,5)	7 (%9,0)	19 (%24,6)	10 (%12,9)	19 (%24,6)
1.AY	33 (%44,5)	14 (%18,9)	14 (%18,9)	11 (%14,8)	2 (%2,7)
2.AY	37 (%50,6)	7 (%9,5)	6 (%8,2)	16 (%21,9)	7 (%9,5)
3.AY	36 (%64,2)	2 (%3,5)	5 (%8,9)	10 (%17,8)	3 (%5,3)
4.AY	21 (%42,8)	5 (%10,2)	4 (%8,1)	5 (%10,2)	14 (%28,5)
5.AY	31 (%58,4)	4 (%7,5)	3 (%5,6)	8 (%15,0)	7 (%13,2)
6.AY	26 (%45,6)	8 (%14,0)	5 (%8,7)	4 (%7,0)	14 (%24,5)



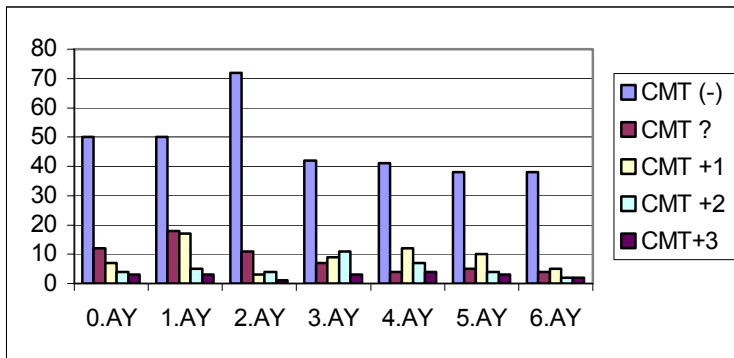
Şekil-13. Üçüncü işletmede aşı grubunun CMT bulguları

#### 6.2.4. Dördüncü işletmede CMT Bulguları

Dördüncü işletmede çalışma süresi olan 0-6 ay arasında toplam 922 CMT muayenesi yapılmıştır. muayenenin 512 adedi kontrol grubunda 410 adedi de aşı grubundadır. Kontrol ve aşı grubunda aylara göre saptanan CMT bulguları aşağıdaki tablo-13 ve 14'de verilmiştir.

Tablo-13. Dördüncü işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

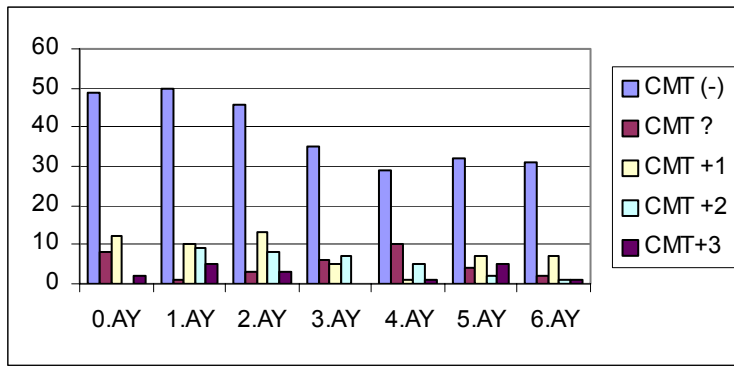
	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	50 (%65,7)	12 (%15,7)	7 (%9,2)	4 (%5,3)	3 (%3,9)
1.AY	50 (%53,7)	18 (%19,3)	17 (%18,2)	5 (%5,3)	3 (%3,2)
2.AY	72 (%79,1)	11 (%12,8)	3 (%3,2)	4 (%4,3)	1 (%1,0)
3.AY	42 (%58,3)	7 (%9,7)	9 (%12,5)	11 (%15,2)	3 (%4,1)
4.AY	41 (%60,2)	4 (%5,2)	12 (%17,6)	7 (%10,2)	4 (%5,8)
5.AY	38 (%63,0)	5 (%8,3)	10 (%16,6)	4 (%6,6)	3 (%5,0)
6.AY	38 (%73,0)	4 (%7,6)	6 (%11,5)	2 (%3,8)	2 (%3,8)



Şekil-14. Dördüncü işletmede kontrol grubunun CMT bulguları

**Tablo-14.** Dördüncü işletmede aşı grubunun CMT bulguları

	CMT (-)	CMT(?)	CMT(+1)	CMT(+2)	CMT(+3)
0.AY	49 (%69,0)	8 (%11,2)	12 (%16,9)	0	2 (%2,8)
1.AY	50 (%66,6)	1 (%1,3)	10 (%13,3)	9 (%12,0)	5 (%6,6)
2.AY	46 (%63,0)	3 (%4,1)	13 (%17,8)	8 (%10,9)	3 (%4,1)
3.AY	35 (%66,0)	6 (%11,3)	5 (%9,4)	7 (%13,2)	0
4.AY	29 (%63,0)	10 (%21,7)	1 (%2,1)	5 (%10,8)	1 (%2,1)
5.AY	32 (%64,0)	4 (%8,0)	7 (%14,0)	2 (%4,0)	5 (%10,0)
6.AY	31 (%73,8)	2 (%4,7)	7 (%16,6)	1 (%2,3)	1 (%2,3)



**Şekil-15.** Dördüncü işletmede aşı grubunun CMT bulguları

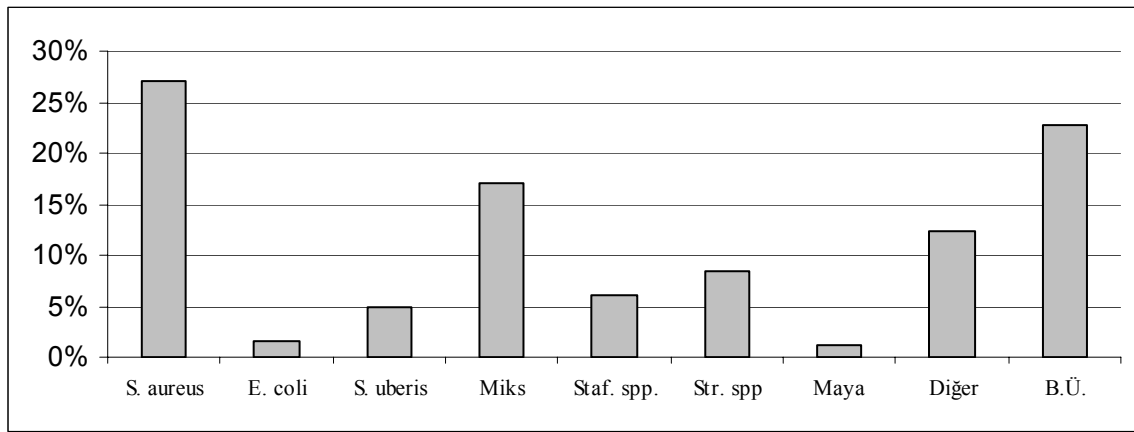
İşletmeler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, aşı ve kontrol grupları arasında CMT değerleri arasında bir fark belirlenmemiştir. Fakat işletmelere göre meme loblarının CMT bulguları incelendiğinde, dört işletme birbirine göre farklı bulundu ( $P<0,05$ ).

CMT negatif toplam meme lobu sayısı 2679 adet tespit edilirken, bunun işletmelere göre dağılımı sırasıyla, 1026 (% 38,2), 672 (% 25), 378 (% 14,3) ve 603 (% 22,5) şeklinde olmuştur. CMT (+1) tespit edilen meme lobu sayısı 702 adet belirlenirken, bu sayının işletmelere göre dağılımı ise sırasıyla 278 (%39,6), 177 (%25,2), 128 (%18,2) ve 119 (%17) olarak saptanmıştır. CMT (-) ve (+1) tespit edilen meme lobu sayısı birinci işletmede en fazla oldu ( $P<0,05$ ).

CMT (+2) tespit edilen meme lobu sayısı 560 adet belirlenmiş ve bunların işletmelere göre dağılımı sırasıyla 158 (% 28,2), 198 (% 35,3), 135 (% 24,1) ve 69 (% 12,3) şeklinde olmuştur. İşletmeler arasında CMT (+3) meme lobu sayısı 463 olarak tespit edilirken bu sayının işletmelere göre dağılımı sırasıyla 118 (% 25,4), 171 (% 37,9), 138 (% 29,8) ve 36 (% 7,7)'dir. CMT (+2) ve (+3) tespit edilen meme lobu sayısı en fazla ikinci işletmede belirlendi ( $P<0,05$ ).

### 6.3. Bakteriyolojik Analiz Bulguları

Toplam 463 meme lobundan 320 adet süt numunesi alınarak, bakteriyolojik analizleri yapılmıştır. Diğer meme loplarından önden tedavi amaçlı antibiyotik uygulanması nedeniyle numune alınamadı. 72 adet numuneden (%22,5) izole edilemezken, 248 numuneden aşağıda belirtilen bakteriler izole edildi. İzole edilen bakteriler ve izolasyon oranları şu şekildeydi, 87 (% 27,1) numunede *S. aureus*, 5'inde (% 1,5) *E. coli*, 13'ünde (% 4) *S. uberis*, 54'ünde (% 16,8) miks izolasyon, 19'unda (% 6) *Staphylococcus spp.*, 27'sinde (% 8,4) *Streptococcus spp.*, 4'ünde (%1,25) maya, 39'unda (%12,1) diğer bakteri türleri. Miks izolasyonları, *S. aureus*, *S. uberis*, KNS ve *Streptococcus spp.* gibi bakterilerin 2'li veya 3'lü kombinasyonları şeklinde oldu.



Şekil-16. Bakterilerin genel dağılımı

Tablo-15. Aşı (A) ve Kontrol (K) gruplarında izole edilen mikroorganizmaların işletmelere göre dağılımı ve toplam miktarları

İşletme	1. İşletme		2. İşletme		3. İşletme		4. İşletme		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	0	0	12	22	22	27	4	0	37	50
<i>E. coli</i>	0	3	0	2	0	0	0	0	0	5
<i>S. uberis</i>	3	1	1	3	1	0	2	2	7	6
Miks	6	3	12	10	6	8	7	2	31	23
<i>Staph. spp.*</i>	10	1	1	3	0	0	0	4	11	8
<i>Strep. spp.**</i>	6	5	6	7	1	0	1	1	14	13
Maya	0	2	1	1	0	0	0	0	1	3
Diğer***	10	5	7	6	1	2	5	3	23	16
B.Ü.	21	14	7	6	6	2	9	7	43	29

\*Koagulaz Negatif Stafilokok'lar

\*\**S. sanguis*, *S. parasanguis*, *S. epidermidis*

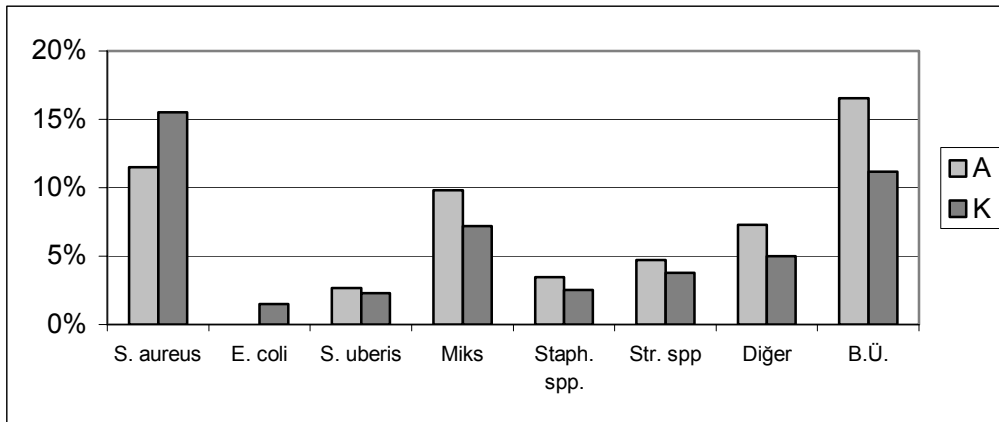
\*\*\* *Serratia marcescens*, *Enterococcus spp.*, *Mikrococcus spp.*, *Citrobacter fondi*, *Aerococcus spp.*, *A. pyogenes*

### 6.3.1. Kontrol Grubunun Bakteriyolojik Analiz Bulguları

Bakteriyolojik yoklama için alınan 320 adet süt numunesinden 153 adedi kontrol grubuna aittir. 153 adet numuneden 29'unda (%9) bakteri izole edilmezken, 124 numuneden izole edilen mikroorganizma dağılımı ise, 50'sinde (%15,6) *S. aureus*, 5'inde (%1,5) *E. coli*, 6'sında (%1,8) *S. uberis*, 23'ünde (%7,1) miks enfeksiyon, 8'inde (%2,5) *Staphylococcus spp.*, 13'ünde (%4) *Streptococcus spp.*, 3'ünde (%0,9) maya, 16'sında (%5) diğer bakteri türleri şeklinde saptandı.

### 6.3.2. Aşı Grubunun Bakteriyolojik Analiz Bulguları

Bakteriyolojik yoklama için alınan 320 adet süt numunesinin 167'si aşı grubuna aittir. 167 numuneden 43'ünde (%13,4) bakteri izole edilmedi. 124 numuneden tanımlanabilen mikroorganizma türleri ve sayıları ise şu şekilde saptandı; 37'sinde (%11,5) *S. aureus*, 7'sinde (%2,1) *S. uberis*, 31'inde (%9,6) miks enfeksiyon, 11'inde (%3,4) *Staphylococcus spp.*, 14'ünde (%4,3) *Streptococcus spp.*, 1'inde (%0,3) maya ve 23'ünde (%7,1) diğer bakteri türleri.



Şekil-17. Aşı ve kontrol gruplarına göre mikroorganizmaların dağılımı

CMT (+3) meme loblarından alınan numunelerden tanımlanabilen saf kültür *S. aureus*, *E. coli*, *S. uberis*, Koagülaz Negatif Stafilokoklar ve *Streptococcus spp.* bakteri türleri bakımından aşı ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir fark belirlenemedi ( $P > 0,05$ ).

İşletmelerde aşı ve kontrol gruplarında saptanan miks enfeksiyonları oluşturan başlıca bakteri türleri, onların izole edildiği saf kültür sayıları ve toplamı tablo-16'da verilmiştir.

**Tablo-16.** İşletmelerde bakterilerin saf kültür, miks kültür halinde izole edilen bakteri sayılarının dağılımı

Dört İşletme Beraber Değerlendirildiğinde	Saf Kültür		Miks Enfeksiyon		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	37	50	10	5	47	55
<i>E. coli</i>	0	5	4	1	4	6
<i>S. uberis</i>	7	6	12	8	19	14
Koagulaz Negatif Stafilokoklar	11	7	18	13	29	20
<i>Streptococcus spp.</i>	14	13	6	6	20	19

Birinci İşletme	Saf Kültür		Miks Enfeksiyon		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	0	0	2	0	2	0
<i>E. coli</i>	0	3	1	1	1	4
<i>S. uberis</i>	3	1	2	1	5	2
Koagulaz Negatif Stafilokoklar	10	1	4	2	14	3
<i>Streptococcus spp.</i>	6	5	2	0	8	5

İkinci İşletme	Saf Kültür		Miks Enfeksiyon		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	12	22	3	2	15	24
<i>E. coli</i>	0	2	2	0	2	2
<i>S. uberis</i>	1	3	4	2	5	5
Koagulaz Negatif Stafilokoklar	1	2	7	5	8	7
<i>Streptococcus spp.</i>	6	7	4	5	10	12

Üçüncü İşletme	Saf Kültür		Miks Enfeksiyon		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	22	27	3	2	25	29
<i>E. coli</i>	0	0	1	0	1	0
<i>S. uberis</i>	1	0	2	4	3	4
Koagulaz Negatif Stafilokoklar	0	0	3	4	3	4
<i>Streptococcus spp.</i>	1	0	0	1	1	1

Dördüncü İşletme	Saf Kültür		Miks Enfeksiyon		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	4	0	2	1	6	1
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>S. uberis</i>	2	2	4	1	6	3
Koagulaz Negatif Stafilokoklar	0	4	4	2	4	6
<i>Streptococcus spp.</i>	1	1	0	0	1	1

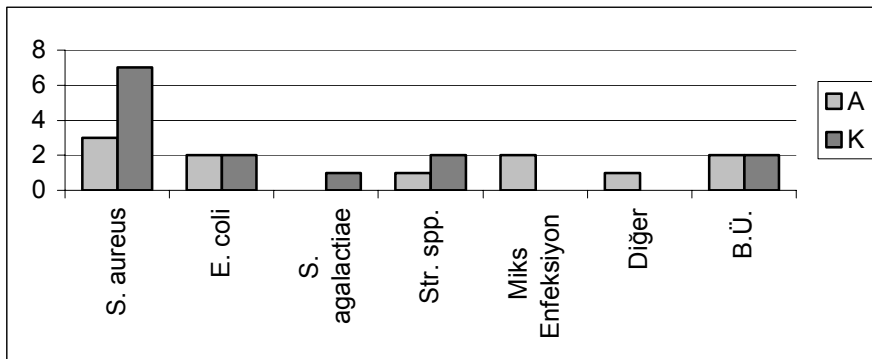
Alınan numunelerde miks kültür olarak izole edilen *S. aureus*, *E. coli*, *S. uberis*, Koagulaz Negatif Stafilokoklar ve *Streptococcus spp.* bakteriler ile bunların saf kültür izole edilen sayıları beraber değerlendirildiğinde aşı ve kontrol grupları arasında istatistiki bir fark bulunamadı ( $P>0,05$ ).

### 6.3.3. Klinik Mastitisli Hayvanlardan Alınan Numunelerde Mikrobiyolojik Bulgular

Çalışma süresi boyunca 55 meme lobunda klinik mastitis tespit edildi. Bu loblardan 25'inde bakteriyolojik muayene için süt numunesi alınabildi. Diğer klinik mastitisli loblardan numune alınımından önce hayvan sahipleri tarafından ineklere veya meme loblarına antibiyotik uygulandığı için mikrobiyolojik muayene yapılamadı. 25 numuneden 4'ünde üreme olmazken, 21 adet numuneden tanımlanabilen mikroorganizmalar şu şekilde belirlendi; 10 numunede (% 40) *S. aureus*, 4'ünde (% 16) *E. coli*, 2'sinde (% 8) miks enfeksiyon, 1 (% 4)'de *S. agalactiae*, 3 (% 12)'de *Streptococcus spp.*, 1 (% 4)'de diğer bakteri türleri tanımlanabildi. Bu mikroorganizmaların kontrol/aşı gruplarına göre dağılımı ise; *S. aureus* 7/3, *E. coli* 2/2, *S. agalactiae* 1/0, *Streptococcus spp.* 2/1, miks enfeksiyon 0/2, diğer bakteri türleri,0/1 şeklinde oldu (Tablo-17).

**Tablo-17.** Klinik mastitislerden izole edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar	Aşı	Kontrol
<i>S. aureus</i>	3 (%17,4)	7 (%22,6)
<i>E. coli</i>	2 (% 8)	2 (% 8)
<i>S. agalactiae</i>	0	1 (% 4)
<i>Streptococcus spp.</i>	1 (% 4)	2 (% 8)
<b>Miks Enfeksiyon</b> <i>S.aureus</i> + <i>S. uberis</i> <i>Str. spp</i> + KNS.	2 (% 8)	0
<b>Diğer</b>	1 (% 4)	0
<b>Bakteri Üremeyen</b>	2 (% 8)	2 (% 8)



**Şekil-18.** Klinik mastitislerden izole edilen mikroorganizmaların gruplara göre dağılımı

Klinik mastitisli meme loblarından alınan numunelerin ve identifiye edilen bakteri sayısının yetersiz olmasından dolayı istatistiki değerlendirme yapılamadı.

#### **6.4. Klinik Mastitis Bulguları**

Dört işletmede çalışma süresi olan sıfır-altı ay süresince 107 adedi kontrol grubunda, 111 adedi aşı grubunda yer alan ortalama 218 hayvanda toplam 1273 kez klinik muayene yapıldı. Yedi ay boyunca işletmelere düzenli olarak gidilerek ile birer ay aralıklarla yapılan muayenelerde, memesinde kızarıklık, şişkinlik, ağrı, sıcaklık artışı ve/veya anormal süt karakteri belirlenen hayvanlar klinik mastitisli hayvanlar olarak kayda alındı. Aynı zamanda klinik mastitislerin belirlenmesinde hayvan sahipleri tarafından yukarıda belirtilen bulguları olan hayvanların bize bildirilmesiyle periyodik muayene zamanları dışında meydana gelen klinik mastitisler de kayda alındı.

Çalışmanın başlangıcında mastitis varlığı açısından rastgele belirlenen gruplardan kontrol grubunda 4, aşı grubunda ise 2 inekte klinik mastitis bulunduğu tespit edildi. Çalışma süresince sıfırcı ay dahil toplam 55 / 218 adet (% 25,2) klinik mastitis olgusu saptanmıştır, diğer bir deyişle işletmelerde yapılan her yüz klinik muayeneden 4,3'ünde klinik mastitis bulgularına rastlanmıştır. Kontrol ve aşı gruplarına göre bu oranlar sırasıyla % 4 ve % 4,6 olarak bulundu. Dört işletme beraber değerlendirildiğinde, klinik mastitislerin yıl bazında kümülatif oranı %43,2 belirlendi. Klinik mastitislerin 38 tanesi periyodik aylık muayeneler sırasında, 17 tanesi aylık muayeneler arası zamanda hayvan sahiplerinin bildirimine dayalı olarak belirlendi. Ancak yetiştiricilerin şekillenen her mastitis vakasını tespit edip edemedikleri veya bildirimde bulunup bulunmadıkları tam olarak garanti altına alınamadı.

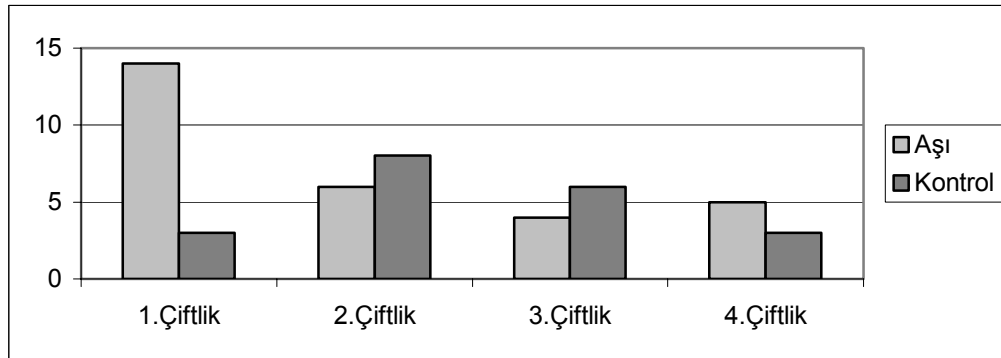
Aşı uygulamalarından sonra dört işletmede toplam 49 adet klinik mastitis meydana geldi. Grup bazında mastitis oranları kontrol grubunda 20 / 107 (%18,7) ve aşı grubunda 29 / 111 (%26,1) olarak bulundu. Aşı ve kontrol grupları arasındaki bu farklılıkların istatistiki açıdan önemli olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ).



**Tablo-18.** Çalışma materyalinde klinik mastitislerin dağılımı

		Kontrol	Aşı
Toplam periyodik muayene sayısı*	1273	600	673
Muayene edilen aylık ortalama hayvan sayısı	218	107	111
Çalışma başlangıcında saptanan klinik mastitis sayısı ve oranı	6 / 218 (%2,8)	4 / 107 (%3,7)	2 / 111 (%1,8)
Aşı uygulandıktan sonra işletmelerde 6 ay süresince saptanan toplam klinik mastitis vakası ve oranı	49 / 218 (%22,5)	20 / 107 (%18,7)	29 / 111 (%26,1)
Yapılan Her Yüz Muayenede Karşılaşılan Mastitis Oranları**	% 4,3	% 4	% 4,6
Yıllık kümülatif mastitis oranı***	%43,2	%38,1	%47,6

\*Sürülerde kuruya alınan veya sürüden çıkartılan hayvanlar nedeniyle toplam muayene sayısı, toplam denek sayısının katları olarak yansımamaktadır.



**Şekil-19.** Klinik mastitislerin işletmelere ve gruplara göre dağılımı

#### 6.4.1. Birinci İşletmede Klinik Mastitisler

Birinci işletmede sıfır-altı ay arasında 35 adedi kontrol grubunda, 30 adedi aşı grubunda yer alan ortalama 65 hayvanda toplam 456 kez muayene yapıldı. Çalışma başlangıcındaki mastitisli hayvan sayıları ve gruplara göre dağılımı ise; kontrol grubunda 1, aşı grubunda 0 adet şeklinde oldu. Çalışma süresi olan yedi ay boyunca birinci işletmede toplam 18 / 65 (%27,6) klinik mastitis vakası tespit edildi. Diğer yandan bu

işletmede yapılan her yüz klinik muayeneden 3,9’unda klinik mastitis bulgularına rastlandı. Kontrol ve aşı gruplarına göre bu oranlar sırasıyla % 1,4 ve % 5,8 olarak hesaplandı. Birinci işletmede klinik mastitisler yıl bazında hesaplandığında, kümülatif mastitis oranı %47,3 olduğu görülmektedir. 18 adet klinik mastitisten 9 adedi aylık kontroller sırasında ve 9 adedi ise hayvan sahibinin bildirimini ile kayda alındı.

Aşı uygulamalarından sonra gruplarda 17 adet klinik mastitis meydana geldi. Grup bazında mastitis oranları kontrol ve aşı gruplarında sırasıyla 3 / 30 (%10) ve 14 / 35 (% 40) olarak bulundu. Aşı ve kontrol grupları arasında şekillenen klinik mastitis sayıları bakımından bir fark belirlenemedi ( $P>0,05$ ).

**Tablo-19.** Birinci işletmedeki klinik mastitislerin dağılımı

		<b>Kontrol</b>	<b>Aşı</b>
<b>Toplam Periyodik Muayene Sayısı</b>	<b>456</b>	<b>206</b>	<b>256</b>
<b>Muayene Edilen Aylık Ortalama Hayvan Sayısı</b>	<b>65</b>	<b>30</b>	<b>35</b>
<b>Çalışma Başlangıcında Saptanan Klinik Mastitis Sayısı ve Oranı</b>	<b>1 / 65 (%1,5)</b>	<b>1 / 30 (%3,3)</b>	<b>0</b>
<b>Aşı uygulandıktan Sonra İşletmede 6 Ay Süresince Saptanan Toplam Klinik Mastitis Vakası ve Oranı</b>	<b>17 / 65 (%26,1)</b>	<b>3 / 30 (%10)</b>	<b>14 / 35 (%40)</b>
<b>Yapılan Her Yüz Muayenede Karşılaşılan Mastitis Oranları</b>	<b>%3,9</b>	<b>%1,4</b>	<b>%5,8</b>
<b>Yıllık Kümülatif Mastitis Oranı</b>	<b>%47,3</b>	<b>%16,1</b>	<b>%72,0</b>

#### 6.4.2. İkinci İşletmede Klinik Mastitisler

İkinci işletmede çalışma süresince 26 adedi kontrol grubunda, 25 adedi aşı grubunda yer alan ortalama 51 hayvanda toplam 363 kez klinik muayene yapıldı. Çalışma başlangıcında mastitisli hayvan sayıları ve gruplara göre dağılımı ise; kontrol grubunda 1, aşı grubunda 1 adet şeklinde oldu. İkinci işletmede çalışma süresi boyunca toplam 16 / 51 (%31,3) klinik mastitis vakası tespit edilmiş, diğer bir deyişle bu işletmede yapılan her yüz klinik muayeneden 4,4’ünde klinik mastitis bulgularına rastlanmıştır. Kontrol ve aşı gruplarına göre bu oranlar sırasıyla % 4,8 ve %3,9 olarak hesaplanmıştır. İkinci işletmede klinik mastitisler yıl bazında, hesaplandığında kümülatif mastitis oranı %51,7 olarak belirlendi. 16 adet klinik mastitisten 15 adedi aylık kontroller sırasında ve 1 adedi ise hayvan sahiplerinin bildirimini ile kayda alındı.

Aşı uygulamalarından sonra ikinci işletmede 14 adet klinik mastitis meydana geldi. Grup bazında mastitis oranları kontrol ve aşı gruplarında sırasıyla 8 / 26 (%30,7), ve 6 / 25 (%24) olarak bulundu. Aşı ve kontrol grupları arasında şekillenen klinik mastitis sayıları bakımından bir fark belirlenemedi ( $P>0,05$ ).

**Tablo-20.** İkinci işletmedeki klinik mastitislerin dağılımı

		<b>Kontrol</b>	<b>Aşı</b>
<b>Toplam Periyodik Muayene Sayısı</b>	<b>363</b>	<b>185</b>	<b>178</b>
<b>Muayene Edilen Aylık Ortalama Hayvan Sayısı</b>	<b>51</b>	<b>26</b>	<b>25</b>
<b>Çalışma Başlangıcında Saptanan Klinik Mastitis Sayısı ve Oranı</b>	<b>2 / 51 (%4)</b>	<b>1 / 26 (%4)</b>	<b>1 / 25 (%4)</b>
<b>Aşı Uygulamalarından Sonra İşletmede 6 Ay Süresince Saptanan Saptanan Toplam Klinik Mastitis Vakası ve Oranı</b>	<b>14 / 51 (%27,4)</b>	<b>8 / 26 (%30,7)</b>	<b>6 / 25 (%24)</b>
<b>Yapılan Her Yüz Muayenede Karşılaşılan Mastitis Oranları</b>	<b>% 4,4</b>	<b>% 4,8</b>	<b>% 3,9</b>
<b>Yıllık Kümülatif Mastitis Oranı</b>	<b>%51,7</b>	<b>%55,3</b>	<b>%48,0</b>

#### 6.4.3. Üçüncü İşletmede Klinik Mastitisler

Üçüncü işletmede ise 7 aylık periyot süresince 16 adedi kontrol grubunda, 16 adedi aşı grubunda yer alan ortalama 32 hayvanda toplam 227 kez klinik muayene yapıldı. Çalışma başlangıcındaki mastitisli hayvan sayıları ve gruplara göre dağılımı ise; kontrol grubunda 2, aşı grubunda 0 adet belirlendi. Bu işletmede toplam 12 / 32 (%37,5) adet muayene klinik mastitis saptandı, diğer bir deyişle bu işletmede yapılan her yüz klinik muayeneden 5,2'sinde klinik mastitis bulgularına rastlandı. Kontrol ve aşı gruplarına göre bu oranlar sırasıyla % 7 ve % 3,5 olarak hesaplandı. Ayrıca üçüncü işletmede klinik mastitisler yıl bazında hesaplandığında kümülatif mastitis oranı %63,7 saptandı. 12 adet klinik mastitisin hepsi aylık kontroller sırasında saptandı.

Aşı uygulamalarından sonra üçüncü işletmede 10 adet klinik mastitis meydana geldi. Grup bazında mastitis oranları kontrol ve aşı gruplarında sırasıyla 6 / 16 (%37,5) ve 4 / 16 (% 25) olarak bulundu. Aşı ve kontrol grupları arasında şekillenen klinik mastitis sayıları bakımından bir fark belirlenemedi ( $P>0,05$ ).

**Tablo-21.** Üçüncü işletmedeki klinik mastitislerin dağılımı

		<b>Kontrol</b>	<b>Aşı</b>
<b>Toplam Periyodik Muayene Sayısı</b>	<b>227</b>	<b>113</b>	<b>114</b>
<b>Muayene Edilen Aylık Ortalama Hayvan Sayısı</b>	<b>32</b>	<b>16</b>	<b>16</b>
<b>Çalışma Başlangıcında Saptanan Klinik Mastitis Sayısı</b>	<b>2/32</b> <b>(%6,3)</b>	<b>2/16</b> <b>(%12,5)</b>	<b>0</b>
<b>Aşı Uygulamalarından Sonra İşletmede 6 Ay Süresince Saptanan Saptanan Toplam Klinik Mastitis Vakası ve Oranı</b>	<b>10 / 32</b> <b>(%31,3)</b>	<b>6 / 16</b> <b>(%37,5)</b>	<b>4 / 16</b> <b>(%25)</b>
<b>Yapılan Her Yüz Muayenede Karşılaşılan Mastitis Oranları</b>	<b>% 5.2</b>	<b>% 7</b>	<b>% 3,5</b>
<b>Yıllık Kümülatif Mastitis Oranı</b>	<b>%63,7</b>	<b>%82,5</b>	<b>%37,5</b>

#### **6.4.4. Dördüncü İşletmede Klinik Mastitisler**

Dördüncü işletmede ise çalışma boyunca 15 adedi kontrol grubunda, 19 adedi aşı grubunda yer alan ortalama 34 hayvanda toplam 238 kez klinik muayene yapıldı. Çalışma başlangıcındaki mastitisli hayvan sayıları ve gruplara göre dağılımı ise; kontrol grubunda 1, aşı grubunda 0 olarak belirlendi. Bu işletmede çalışma süresince toplam 9 / 34 (%26,4) klinik mastitis vakası saptandı, diğer bir deyişle bu işletmede yapılan her yüz klinik muayeneden 3,7'sinde klinik mastitis bulgularına rastlandı. Kontrol ve aşı gruplarına göre bu oranlar sırasıyla % 3,8 ve % 3,7 olarak hesaplandı. Ayrıca dördüncü işletmede klinik mastitisler yıl bazında hesaplandığında; kümülatif mastitis oranı %42,3 belirlendi. Şekillenen 9 adet klinik mastitisten 7 adedi aylık kontroller sırasında ve 2 adedi ise rapor edilerek kayda alındı.

Aşı uygulamalarından sonra işletmede 8 adet klinik mastitis şekillendi. Grup bazında mastitis oranları kontrol ve aşı gruplarında sırasıyla 3 / 15 (% 20), ve 5 /19 (%26,3) olarak bulundu. Aşı ve kontrol grupları arasında şekillenen klinik mastitis sayıları bakımından bir fark belirlenemedi ( $P>0,05$ ).

**Tablo-22.** Dördüncü işletmedeki klinik mastitislerin dağılımı

		<b>Kontrol</b>	<b>Aşı</b>
<b>Toplam Periyodik Muayene Sayısı</b>	<b>238</b>	<b>105</b>	<b>133</b>
<b>Muayene Edilen Aylık Ortalama Hayvan Sayısı</b>	<b>34</b>	<b>15</b>	<b>19</b>
<b>Çalışma Başlangıcında Saptanan Klinik Mastitis Sayısı</b>	<b>1 / 34 (%3)</b>	<b>1 / 15 (%7)</b>	<b>0</b>
<b>Aşı Uygulamalarından Sonra İşletmede 6 Ay Süresince Saptanan Saptanan Toplam Klinik Mastitis Vakası ve Oranı</b>	<b>8 / 34 (%23,5)</b>	<b>3 / 15 (%20)</b>	<b>5 / 19 (%26,3)</b>
<b>Yapılan Her Yüz Muayenede Karşılaşılan Mastitis Oranları</b>	<b>% 3,7</b>	<b>% 3,8</b>	<b>% 3,7</b>
<b>Yıllık Kümülatif Mastitis Oranı</b>	<b>%42,3</b>	<b>%40,0</b>	<b>%44,2</b>

Aylara göre kontrol / aşı gruplarındaki klinik mastitislerin dağılımı Tablo-23 verilmiştir.

**Tablo-23.** Klinik mastitislerin aşı ve kontrol gruplarında işletmelere ve aylara göre dağılımı

AY	1. İşletme		2. İşletme		3. İşletme		4. İşletme		Toplam	
	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
<b>0. Ay</b>	1	0	1	1	0	2	0	1	2	4
<b>1. Ay</b>	8	0	2	4	2	2	2	2	14	8
<b>2. Ay</b>	4	0	1	2	2	0	1	1	8	3
<b>3. Ay</b>	2	1	1	0	0	0	0	0	3	1
<b>4. Ay</b>	0	1	2	1	0	2	1	0	3	4
<b>5. Ay</b>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<b>6. Ay</b>	0	1	0	0	0	2	1	0	1	3
<b>Toplam</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>31</b>	<b>24</b>

#### 6.4.5. Klinik Mastitislerin İyileşme Süreci

İşletmelerde şekillenen 54 adet klinik mastitisten 18 adedi klinik olarak takip edilebilmiştir. Bu hayvanlardan 15 adedi aşı grubuna ve 3 adedi de kontrol grubuna aittir.

Aşılı grupta meydana gelen klinik mastitislerin klinik muayenelerinde; şekillenen mastitislerden dolayı hiçbir hayvanda genel durum bozukluğu saptanmadı. Memenin muayenesinde 15 hayvandan sadece 5'inde memelerinde sıcaklık artışı ve ödem tespit edildi. Sütün muayenesinde sadece 3 hayvanda süt karakterini kaybettiği, diğer

mastitislerde sadece sütte pıhtı olduğu belirlendi. Sadece bir hayvanda doğum sonrası ilk haftada şekillenen klinik mastitis tedaviye cevap vermeyerek meme lobu köreldi. Yapılan antibiyotik tedavisine aşı grubun daha iyi cevap verdiği ve iyileşmelerin genelde 2. veya 3. antibiyotik tüpünün uygulanmasından sonra şekillendiği saptandı.

#### 6.4.6. Kör Meme Lobları

Çalışma boyunca tüm hayvanlar değerlendirildiğinde, 9 meme lobu kör oldu. Bunlardan 5 / 9 (% 55,5) adedi klinik mastitise bağlı olarak diğer 4 / 9 (% 45,5) adedi ise meme başının yaralanması sonucu meydana geldi. Ancak bu sayılar istatistiki değerlendirilme için yetersiz bulundu.

**Tablo-24.** Kör meme lobları

Klinik Mastitislere Bağlı Kör Meme Lobları		Meme Başında Meydana Gelen Yırtılmalara Bağlı Kör Meme Lobları	
Aşı	Kontrol	Aşı	Kontrol
3 (% 33,3)	2 (% 22,2)	4 (% 45,5)	0

## 7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada polivalan bir mastitis aşısının saha şartlarında etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı. Daha önce aşı uygulanmamış dört adet ticari işletmede hayvanlar aşı ve kontrol grubuna ayrılarak 6 ay boyunca takip edilerek, aşı ve kontrol grupları arasında ki SHS, CMT bulguları, klinik mastitis sıklığı ve bakteriyolojik bulgular karşılaştırılarak aşı etkinliğinin belirlenmesi hedeflendi.

Mastitise karşı aşılamanın ineklerde aşılamaı takiben enjeksiyon yerinde reaksiyonlar, genel durumda değişiklik, süt verimi üzerine etkileri ve gebe hayvanlarda gebeliğe ilişkin bozukluklar değişik literatürlerde tartışılmaktadır. Mastitis aşısı uygulamalarının ardından hayvanlarda alerjik reaksiyon, sistemik bulgularda değişiklik ve gebe hayvanlarda gebelikle ilgili herhangi bir problemin gözlemlenmediği bildirilmektedir (6, 10, 11, 15, 16, 21, 47, 48, 51, 58, 65, 97). Bazı çalışmalarda enjeksiyon yerinde küçük nodüllerin şekillendiği ancak bunların takip eden günlerde kaybolduğu kaydedilmiştir (6, 10, 11, 15, 16, 21, 47, 58, 96, 97). Yine Scott ve arkadaşları (65) yaptıkları aşılama çalışması sonucunda, aşı ve kontrol grupları arasında günlük süt verimi, günlük yem tüketimi, SHS, beden ısısı ve gebe hayvanlarda süt progesteron değerleri arasında bir fark saptamadıklarını bildirmektedirler. Hatta bazı çalışmalar aşılamanın süt verimini ve süt yağını olumlu etkilediğini, kontrol grubuna göre aşılı hayvanlarda uzun vadede daha fazla süt verimi ve süt yağı değerlerinin kaydedildiğini bildirmektedir (6, 10, 16, 46, 97). Bu anlamda Leitner ve arkadaşları (16) bir laktasyon boyunca süt veriminin aşı grubunda kontrol grubuna göre 0,5 kg daha fazla olduğunu saptamışlardır. Giraudo ve arkadaşları (6) aşı grubundaki hayvanların süt yağının kontrol grubundaki hayvanlara göre 7 ay boyunca daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Calzolari ve arkadaşları (46) aşı grubundaki hayvanların süt yağı oranını kontrol grubuna göre laktasyonun ilk üç ayında %5,1 daha fazla saptamışlardır. Diğer yandan Musser ve arkadaşları (66) aşılamaı takip eden ikinci ve üçüncü sağımda aşılı hayvanların süt verimlerinde kontrol grubuna göre yaklaşık olarak %7'lik bir azalma saptamışlar, ancak bunun takip eden sağımlarda normale döndüğünü bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada da aşılama sonrasında hayvanların hiçbirinde sistemik alerjik reaksiyon, genel durum bozukluğu ve gebe hayvanlarda gebelikle ilgili olumsuz bir durum ortaya çıkmadı. Aşı uygulamalarından sonra bir sonraki sağımda hayvanların süt verimlerinde herhangi bir azalmanın olmadığı görüldü. Kullanılan aşının yağlı olmasından

dolayı bazı hayvanlarda enjeksiyon yerinde küçük nodüller şekillendi, ancak bu nodüller zamanla kayboldu.

İneklerde meme sağlığının değerlendirilmesinde, işletmelerdeki mastitisin durumunu ve derecesinin ölçülmesinde Somatik Hücre Sayısı oldukça güvenilir bir göstergedir (1-4, 63, 101). Enfekte olmamış meme loplarda SHS  $5 \times 10^4$  hücre/ml'nin altındadır. Bakteriyel bir enfeksiyon sırasında SHS  $10^5$ - $10^6$  hücre/ml'ye kadar yükselebilmektedir (16). Enfeksiyonun yanı sıra SHS; yaş, laktasyon sayısı, laktasyon dönemi, mevsim, bakım ve besleme, sağım şekli gibi bir çok faktörden etkilenmektedir (1-4, 70). Daha sağlıklı sonuçlar elde edebilmek için çalışma dizayn edilirken her çiftliğe ait hayvanlar aşı ve kontrol gruplarına ayrılmışlardır. Yine grupların oluşturulmasında yukarıda sayılan ve SHS'ını etkileyebilecek faktörler göz önünde bulundurularak mümkün olduğunca her iki gruba eşit özellikteki hayvanların ayrılmasına özen gösterildi.

Çalışma başlangıcında dört işletme beraber değerlendirildiğinde kontrol grubundaki hayvanların ortalama SHS  $\pm 6,44 \times 10^5$  hücre/ml iken aşı grubun ortalama SHS  $\pm 5,44 \times 10^5$  hücre/ml olarak tespit edildi. Çalışma sonunda her iki grubun SHS azalarak kontrol grubunda SHS  $\pm 4,04 \times 10^5$  hücre/ml'ye, aşı grubunda ise  $\pm 3,43 \times 10^5$  hücre/ml seviyesine geriledi. SHS'ları aylık olarak incelendiğinde aşı grubunun SHS kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. Ancak SHS iki grupta da ilerleyen zamanda azaldığından, istatistik olarak anlamlı bulunmadı (Şekil-1) ( $P > 0,05$ ). Dört işletme kendi aralarında ayrı ayrı değerlendirildiğinde de aşı gruplarının SHS, kontrol gruplarına göre düşük bulunmasına rağmen bu fark istatistik olarak bir anlam ifade etmemektedir. Bu sonuç düve ve ineklerde aşılamaı takiben oluşturulan deneysel enfeksiyondan sonra aşı ve kontrol grupları arasında SHS yönünden fark saptanamayan deneysel aşılama çalışmaları (10, 15, 23, 24, 28, 31) ve saha çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur (6, 15, 42-44, 47).

Bazı çalışmalarda aşılamaı takiben aşı ve kontrol grupları arasında SHS bakımından istatistik farklılıkların olduğu bildirilmektedir (11, 16, 30, 40, 46). Leitner ve arkadaşları (16) düveleri aşılandıktan sonra iki laktasyon periyodu boyunca takip etmişlerdir. Aşılı grupta kontrol grubuna göre birinci laktasyonda %42,3, ikinci laktasyonda %54,3 oranında SHS daha düşük saptamışlardır. Bütün hayvanların meme sağlık durumları incelendiğinde aşılı gruptaki hayvanların kontrol grubuna göre daha sağlıklı olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu durumu aşılı gruptaki hayvanlarda *S. aureus* ve Koagülaz Negatif Stafilokokların (KNS) çalışma süresince sürü prevalansının düşük olmasına bağlamışlardır. Bizim çalışma grubundaki birinci ve dördüncü çiftliğin SHS diğer iki çiftliğe göre düşük belirlenmiştir. Birinci işletmede çalışma boyunca ortalama SHS  $\pm 4,02 \times 10^5$  hücre/ml iken



bu sayı dördüncü işletmede  $\pm 2,89 \times 10^5$  hücre/ml olarak tespit edilmiştir. Bu düşük SHS'ları ile birlikte birinci işletmeden alınan numunelerden *S. aureus* izole edilmezken, dördüncü işletmeden alınan numunelerden sadece 4'ünde *S. aureus* saptanmıştır (Tablo-15). *S. aureus* kaynaklı meme içi enfeksiyonun düşük olmasına paralel olarak SHS'ında düşük olduğu saptanmıştır (11). Ancak bu iki işletmede aşı ve kontrol grupları arasında SHS bakımından bir fark belirlenememiştir ( $P > 0,05$ ).

Nourdhaug ve arkadaşları (47) *S. aureus*'a karşı yaptıkları aşılama sonucunda, aşı grubunda *S. aureus* enfeksiyon oranında azalma saptarken, bu azalmaların SHS üzerine etkisinin olmadığını bildirmektedirler. Bu çalışmayla uyumlu olarak ikinci ve üçüncü işletmede çalışma boyunca ortalama SHS'ları sırasıyla  $\pm 5,63 \times 10^5$  ve  $\pm 6,66 \times 10^5$  hücre/ml olarak tespit edilmiş ve bu yüksek SHS ile birlikte ikinci işletmede %32, üçüncü işletmede %64,5 gibi yüksek oranda *S. aureus* enfeksiyonu belirlenmiştir. İki işletmede aşılama sonrasında *S. aureus* enfeksiyonu aşı grubunda kontrol grubuna göre azalmış ancak aşı ve kontrol grupları arasında SHS bakımından bir fark belirlenmemiştir ( $P > 0,05$ ).

Yapılan bazı çalışmalarda (6, 46-48) SHS'nın değerlendirilmesinde sınır değerler belirlenmiştir. SHS'nın bu değerlerin altında veya üstünde olması durumunda aşılanmanın SHS üzerine etkisi araştırılmıştır. Calzolari ve arkadaşları (46) bireysel SHS'larına göre hayvanları çalışma başlangıcında iki gruba ayırmışlardır. Birinci gruba SHS  $5 \times 10^5$  hücre/ml altında olan hayvanlar ayrılmış, ikinci gruba ise üstünde olan hayvanlar dahil edilmiştir. Bu iki grup aşı ve kontrol alt gruplarına bölünerek aşılanmanın etkisi araştırılmıştır. Birinci grupta ineklerin meme loblarındaki SHS, 3 ay boyunca aşı alt grupta kontrol grubuna göre önemli bir şekilde düşük belirlenirken, ikinci grupta aşı ve kontrol alt grupları arasında bir fark belirlenememiştir.

Hwang ve arkadaşları (48) aşı uygulamalarından sonra enfekte olamamış meme loblarındaki SHS ( $< 1 \times 10^5$  hücre/ml) bakımından aşı ve aşısız grup arasında bir fark tespit edememişlerdir. Fakat enfekte meme loblarında ( $> 4 \times 10^5$  hücre/ml) çalışmanın 7. ile 10. haftaları arasında aşı grupta aşısız gruba göre SHS önemli derecede düşük belirlenmiştir.

Giraud ve arkadaşları (6) çalışmaların başlangıcında aşı ve kontrol gruplarındaki hayvanların ortalama SHS'nı  $1,5 \times 10^5$  hücre/ml seviyesinde saptamışlardır. Çalışma sonunda SHS bakımından aşı ve kontrol grupları arasında bir fark saptayamamışlar ve bunu da çalışma başlangıcındaki düşük SHS'na bağlamışlardır.

Nourdhaug ve arkadaşları (47) aşı uygulamalarından sonra hayvanların SHS'larını bir laktasyon boyunca takip etmişlerdir. Çalışma sonunda SHS  $10^5$  hücre/ml'nin altında olan aşı hayvan oranını %52 saptarken, kontrol grubunda bu oranı %40 olarak tespit

etmişlerdir. SHS  $5 \times 10^5$  hücre/ml'nin üzerinde olan aşılı hayvan oranı %5,2 iken bu oran kontrol grubunda %14 olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılıkların önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada SHS hem  $2.5 \times 10^5$  hücre/ml hem de  $5 \times 10^5$  hücre/ml değerleri sınır alınarak istatistiki değerlendirmeler yapıldı, SHS'ları aşılı ve aşısız gruplarda karşılaştırıldı. Her iki durumda da somatik hücre sayısında aşılamaya bağlı olarak önemli derecede bir fark görülmedi ( $P > 0,05$ ). Bu sonuçlara göre tüm gruplarımızda az çok gözlemlenen SHS'daki azalmaların daha çok mevsimsel faktörlerden kaynaklandığı düşüncesi ağırlık kazanmakta, aşılamanın SHS üzerine etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

SHS memedeki subklinik mastitisin tanısında kantitatif bir kriter iken, CMT yarı kantitatif bir tanı yöntemidir (1-4, 102). CMT her türlü saha koşullarında kolaylıkla uygulanabilen bir testtir. Sürülerde CMT ile mastitis taramasının 15 ila 30 günlük periyotlarda yapılması önerilmektedir (1, 2, 4). Çalışmamızda hayvanlar 6 ay boyunca takip edilmiş ve dört işletmede periyodik aylık CMT muayeneleri yapıldı.

Çalışma boyunca tespit edilen CMT bulguları değerlendirildiğinde, aşı ve kontrol grupları arasında CMT (-), CMT (?), CMT (+1), CMT (+2), CMT (+3) meme lobları sayısı yönünden istatistiki olarak bir farklılık saptanmadı ( $P > 0,05$ ). İşletmelere göre meme loblarının CMT bulguları incelendiğinde, dört işletme birbirine göre farklı bulundu ( $P < 0,05$ ). Birinci işletmede diğer üç çiftliğe nazaran CMT (-), CMT (+1) meme lobu sayısı daha fazla belirlenirken, ikinci işletmede CMT (+2) ve CMT (+3) meme lobu sayısı diğer işletmelere nazaran daha fazla tespit edildi ( $P < 0,05$ ).

Küçük ve Alaçam (63) tarafından yapılan bir aşılama çalışmasında, aşı uygulanan iki işletme arasında CMT bulgularının istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir. Aile tipi işletmede CMT değerlerinin aşılama lehine önemli derecede azaldığını saptamışlardır. Ancak diğer işletmede aşı ve kontrol grupları arasında önemli bir fark bulamamışlardır. Araştırmacılar bu durumu, kuru döneme yakın hayvan sayısının fazla olması ile açıklamaktadırlar. Yapılan bu çalışmada, CMT değerleri bakımından aşı ve kontrol grupları arasında bir fark bulunamadı. İşletmelerdeki saptanan SHS ve CMT bulgularını beraber değerlendirdiğimizde, aşılamanın sürülerdeki subklinik mastitis üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlendi.

Çalışmada aşının değerlendirilmesinde diğer bir kriter de, alınan süt numunelerinden identifiye edilen bakteri türlerinin karşılaştırılmasıdır. Tüm işletmelerden 6 ay boyunca CMT(+3) meme loplardan alınan numunelerden identifiye edilen bakteri türleri Tablo-

15'de verilmiştir. Sürülerde *S. aureus*'dan sonra en fazla bakterinin miks şekilde meme içi enfeksiyona yol açtığı saptandı. Birinci işletmede alınan numunelerden en fazla *Staphylococcus spp.* ve *Streptococcus spp.* (%12,2) türleri identifiye edildi. İkinci işletmede %32 ile *S. aureus*, üçüncü işletmede %64,5 ile yine *S. aureus*, dördüncü işletmede ise %12 miks enfeksiyon ve diğer bakteri türleri izole edildi.

İzole edilen bakteriler incelendiğinde (Tablo-15) işletme yapısına göre bakteri dağılımının değiştiği saptandı. *S. aureus*, aile tipi işletme olan ikinci ve üçüncü işletmede en fazla identifiye edilen bakteri oldu. Bunun yanında sağım hijyeninin, yönetimsel faktörlerinin biraz düzeldiği, sağım sonrası teat-dipping ve kuru döneme geçişte antibiyotik uygulanan birinci ve dördüncü işletmelerde *S. aureus* enfeksiyonu daha az iken KNS ve *Streptococcus spp.* türlerin meydana getirdiği enfeksiyonlar daha fazla saptandı.

Aşı ve kontrol gruplarında *S. aureus* enfeksiyonu hem saf kültür (%11,5-%15,6) hem de miks enfeksiyonlar hesaba katıldığında toplamda (%14- %17) aşı grubu lehine daha az tespit edilmiştir. Ancak aradaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ). Bu durum aşılama sonrası *S. aureus* enfeksiyonunun kontrol grubuna göre daha düşük oranda bulunduğu saha çalışmalarıyla çelişmektedir (6, 15, 16, 42, 46). Fakat gruplar arasında *S. aureus* bakımından fark saptanamayan saha çalışmalarıyla da uyumlu bulunmuştur (43, 44, 47). Tenhagen ve arkadaşları (44) *S. aureus*'a karşı yaptıkları sürü spesifik bir aşılama çalışmasında aşılama gebeliğin son aylarında uygulanmıştır. Düvelerden doğum sırasında aldıkları süt numunelerinde *S. aureus* oranı her iki grupta da yüksek saptamışlar, ancak gruplar arasında bir fark bulamamışlardır (%12,1-%16,1). Aynı hayvanlardan doğum sonrası 3-4. haftalarda aldıkları numunelerde aşı grubunda *S. aureus* prevalansını %5,4, kontrol grubunda %7,1 olarak belirlemelerine rağmen, gruplar arasında farkın önemsiz olduğunu bildirmektedirler.

Hoedemaker ve arkadaşları (43) düveler üzerinde sürü suşu kullanarak yaptıkları aşılama çalışmasında, *S.aureus* enfeksiyonlarının prevalansını ikinci aşılama takiben laktasyon periyodu boyunca; doğumdan sonra, laktasyon ortası ve kuruya ayrılmadan önceki olmak üzere 3 zaman diliminde değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda *S. aureus* prevalansı bakımından hayvan ve meme lobu bazında gruplar arasında fark saptayamamışlardır. Bununla birlikte laktasyon döneminde her iki grupta *S. aureus* prevalansının 2-3 kat arttığını belirlemişlerdir. Özellikle laktasyon ortasında ve kuruya çıkmadan önceki muayenelerde *S. aureus* prevalansı aşı grubundaki düvelerde kontrole göre daha yüksek tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (43) sütçü sığırlardaki *S. aureus* prevalansındaki değişimlerin *S. aureus*'a karşı aşılama ziyade diğer faktörlerden

etkilendiğini vurgulamaktadır. Bu faktörler; kronik *S. aureus*'la enfekte hayvanların sürüde tutulmaları veya çıkartılmaları, sağım prosedürlerindeki değişiklikler, bellek hücreleri tarafından salgılanan interleukin'ler sayesinde *S. aureus*'a karşı antikor üretiminin artması ile immün sistemin nonspesifik uyarılması veya immünyüpresyona yol açan diğer faktörler olarak bildirmektedirler.

Aile tipi işletme yapısında ve *S. aureus*'la ciddi enfekte ikinci ve üçüncü işletmede istatistiki olarak önemsiz olsa da *S. aureus* meme içi enfeksiyon oranının sırasıyla %29,4 ve %10,2 olarak aşılı grup lehine azaldığı saptandı. Bu sonuçlar Küçük ve Alaçam (63) tarafından yapılan aşılama çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur. Araştırmacılar aile tipi işletmede *S. aureus* oranını %71 olarak tespit etmişler ve uyguladıkları polivalan aşının *S. aureus* meme içi enfeksiyon oranını aile tipi işletmelerde önemli derecede azalttığını saptamışlardır. *S. aureus* mastitisine karşı yapılan başka bir saha çalışmasında (42) aşı, 7 ayrı çiftliğe uygulanmıştır. Çalışma boyunca toplam 273 adet klinik mastitis vakası saptanmış ve bunlardan 112 adedinin *S. aureus* kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Aşı grubunda *S. aureus* kaynaklı klinik mastitis 45 adet iken, kontrol grubunda 67 adet olarak saptanmıştır. Bu farklılık istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak *S. aureus*'la önemli biçimde enfekte (%50) bir sürüde aşılınmış hayvanlarda *S. aureus* oranı kontrol grubu hayvanlarına göre oldukça düşük bulunmuştur. Çalışma sonucunda, *S. aureus*'la ciddi şekilde enfekte sürülerde *S. aureus* aşısının subklinik mastitisin ve klinik mastitisin insidensini azalttığı belirlenmiştir.

*S. aureus*'a karşı yapılan aşılamalardaki başarısızlıklar; aşı materyali içerisindeki *S. aureus* suşu veya kapsül antijeni ile bölgedeki *S. aureus* suşu ve bu suşların kapsül formasyonunun farklı olmasına ya da aşılama sonucu meme bezinde yeteri kadar antikor üretiminin olmamasına bağlanmaktadır (21, 43, 44, 75). Kapsül oluşumunun *S. aureus* enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığı (21, 55, 88,) ve kapsül formasyonunun bölgeden bölgeye farklı olduğu bildirilirken (98), aşılama çalışmalarında bu kapsül oluşumundaki farklılığın dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır (13, 55)

Kullandığımız aşının içerisinde iki farklı *S. aureus* suşu bulunmaktadır (*S. aureus* TC5 ve TC8 suşu). Aşının üretildiği bölge ile aşının kullanıldığı bölge farklılığından dolayı aşı içerisindeki *S. aureus* suşları ile bu bölgedeki mastitise yol açan *S. aureus* suşları arasında hem suş farkı hem de kapsül formasyonu bakımından fark olması ihtimali yüksektir. Bu çalışmada, mastitise yol açan *S. aureus* suşu ve kapsül oluşumu tespit edilebilseydi aşı antijeni ile uyumlu olup olmadığı saptanabilirdi. Ancak bu kontroller çalışmanın sınırlı bütçesinden dolayı yapılamadı. Diğer yandan düveler üzerinde yapılan sürü spesifik *S.*

*aureus* aşılmasında; uygulanan aşının *S. aureus* kaynaklı mastitisler üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Araştırmacılar sürü spesifik aşırı başarısız bulurken, bu başarısızlığın sebebini aşı antijenine bağlamışlardır. Fakat klinik mastitise yol açan *S. aureus* suşuyla aşı içeriğindeki suşun aynı olup olmadığını araştırmadıklarını bildirmektedirler (44).

Çalışma sonunda KNS ve *Streptococcus spp.* prevalansı, aşı grubunda kontrol grubuna göre daha fazla saptandı. Saf kültür KNS ve miks enfeksiyonlardaki KNS hesaba katıldığında, aşı grubunda toplam KNS prevalansı %9 iken kontrol grubunda bu oran %6,2 saptandı. Aynı hesaplamalar *Streptococcus spp.* için yapıldığında toplam *Streptococcus spp.* enfeksiyon oranı aşı grubunda %6,2 ve kontrol grubunda %6 oranında tespit edildi. Sonuç olarak aşı içeriğinde *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* *S. uberis* gibi Stafilokokkal ve Streptokokkal antijenler bulunmasına rağmen bu antijenler aşı hayvanları KNS ve *Streptococcus spp.* enfeksiyonundan koruyamamıştır. Bu sonuçlar *S. epidermis*'den elde edilen kapsüller polisakkaritli ve ısı ile öldürülmüş kapsüller tip A ve B *S. aureus* suşu içeren bir aşılama sonucunda *S. aureus* enfeksiyonuyla beraber KNS enfeksiyonunda önemli derecede azaldığı saptanan saha çalışmayla çelişmektedir (97). Ancak gruplar arasında KNS enfeksiyonu bakımından fark bulunamayan saha çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur (6, 43, 46). Giraudo ve arkadaşları (6) *S. aureus* ile aşılanmış düvelerde kontrol grubuna göre KNS enfeksiyonunu meme loblarında daha fazla izole etmişler ve bunu da *S. aureus* enfeksiyonunun baskılanmasıyla diğer bakterilerin özellikle KNS'lerin meme dokusuna kolonizasyonun kolaylanmasına bağlamışlardır.

Bakteriyolojik muayene için alınan numunelerden, saf kültür ve miks şeklinde izole edilen toplam *S. uberis* oranı aşı grubunda %6 iken kontrol grubunda %4,3 olarak saptandı. Bu oranlar arasında istatistiksel bir fark belirlenmedi ( $P > 0,05$ ). Bu sonuçlar *S. uberis*'e karşı yapılan aşılardan olumlu sonuç elde edilen çalışmalarla uyumsuz bulunmuştur (29-31, 33, 67). Ancak bu çalışmalarda başarılı olunmasında aşı içeriğinde *S. uberis*'e ait virulens faktörlerinin (29, 33) veya canlı aşı materyalinin kullanılması (67) ya da oluşturulan deneysel enfeksiyonun aşı içeriğindeki *S. uberis*'le homolog bir suşla (31) yapılması etkili olmuştur. Örneğin Finch ve arkadaşları (31) *S. uberis*'le aşılardan sonra gruplarda homolog ve heterolog suşla deneysel enfeksiyon oluşturmuşlar ve çalışma sonunda aşılamanın homolog suşla yapılan deneysel enfeksiyona karşı hayvanları koruduğu fakat heterolog suşla yapılan deneysel enfeksiyondan koruyamadığını bildirmektedirler. Bu sonucun muhtemelen *S. aureus*'da olduğu gibi aşı içeriğindeki *S. uberis* suşu ile hayvanlarda mastitise yol açan *S. uberis* suşunun birbirinden farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Alınan numunelerde toplam *E. coli* enfeksiyonu aşılı grupta 4 adet iken kontrol grubunda 6 adet tespit edildi. Bu değerler istatistiki değerlendirme için sayısal olarak yetersiz bulundu. Aşı içerisindeki *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. pyogenes*, *A. pyogenes*, *P. Aeruginosa* bakterilerine karşı koruma sağlanıp sağlanmadığı alınan numunelerde bu bakteriler tespit edilemediğinden aşının etkinliği hakkında bir yorum yapılamamaktadır.

Aşı etkinliğinin değerlendirmesinde kullanılan diğer bir kriter ise klinik mastitis vakalarıdır. Aşılama çalışmalarında klinik mastitis üzerine etkisi, aşılamada kullanılan antijen ile ilişkili olarak değerlendirilmektedir (6, 7, 12, 15, 16, 42-44, 46-49, 51). Çalışmamızda 6 ay boyunca tüm hayvanlarda toplam 55 adet klinik mastitis meydana geldi ve bunlardan sadece 25 adedinde bakteriyolojik muayene yapılabildi. Geri kalan mastitis vakalarında antibiyotik uygulamasına başlanılmış olduğundan bakteriyolojik muayene yapılamadı. 25 adet klinik mastitisten alınan numunelerden izole edilen bakteriler Tablo-17’de verilmiştir. Bakteri türlerine ayırarak ortaya çıkan bu sayılar istatistiki değerlendirme için yeterli gelmemektedir.

Diğer yandan işletmelerde yapılan aylık muayenelerde karşılaşılan klinik mastitis oranı %3,7 ile %5,2 arasında değişmekte olup ortalama %4,3 olarak belirlenmiştir. Bu oranlar işletmeler için literatürde bildirilen ortalama %2-4’lük klinik mastitis oranından yüksek seviyede kalmaktadır (1-3).

Yine işletmelerin 6 ay takipleri süresince dört işletmede toplam klinik mastitis oranı %22,5 olarak belirlendi. Bu oranlar işletmelerde sırasıyla %26,1, %27,4, %32, %23,5 olarak tespit edildi. Bu oranlar temel alınarak yıllık mastitis oranı ortalama %43,2 olarak hesaplanmaktadır. Dört işletmede bu oranlar sırasıyla %47,3, %51,7, %63,7 ve %42,3 olarak hesaplandı. Bu değerler sürülerde klinik mastitis için bildirilen %20-25’lik oranın üstündedir ve bu işletmelerin mastitis yönünden önemli derecede problemlili olduğunu göstermektedir (70-72).

Dört işletme beraber değerlendirildiğinde aşılama sonrası süreçte, aşı grubunun klinik mastitis oranı %26,1 iken kontrol grubunda bu oran %18,7 olarak tespit edildi (Tablo-18). Aşı ve kontrol grupları arasında klinik mastitis yönünden istatistiki olarak bir fark belirlenemedi ( $P>0,05$ ). İşletmelerde aşı / kontrol gruplarının klinik mastitis oranları sırasıyla %40 / %10, %24 / %30,7, %25 / % 37,5, %26,3 / %20 olarak tespit edildi. İşletmelerde aşı ve kontrol grupları arasında klinik mastitis yönünden istatistiki bir fark saptanmadı. Ancak işletmelerde şekillenen klinik mastitisler incelendiğinde, birinci ve dördüncü işletmede aşı grubunun klinik mastitis oranı kontrol grubuna göre daha yüksek

tespit edilirken, ikinci ve üçüncü işletmede aşı grubunun klinik mastitis oranı kontrol grubuna göre daha düşük saptandı.

Birinci işletmede aşı grubundaki yüksek oranda klinik mastitis birinci doz aşılama ve ikinci doz rapel uygulanan ilk iki aylık süreçte gözlemlendi. Özellikle bu süreçte belirlenen mastitis vakaları bu sayının artışına neden oldu. Birinci işletmede çalışma boyunca aşı grubunda toplam 15 adet klinik mastitis meydana geldi ve bu mastitislerin 12 adedi belirtilen aylarda şekillendi. Kontrol grubunda bu aylarda saptanan veya rapor edilen klinik mastitis belirlenmedi. Benzer şekilde polivalan aşı kullanılan bir çalışmada (63) aşı grubunda meydana gelen tüm klinik mastitislerin aşı uygulamalarını takiben ilk iki ayda meydana geldiği bildirilmektedir. Belki bu durum Alaçam'ın (1) aşının tekrarlanan dozunun bazı olgularda duyarlılığı artırıcı etki yapması veya aynı bakteri ile enfekte meme bölümlerinde aşılama sonucu akut mastitislere yol açtığı görüşü ile açıklanabilir. Ancak birinci işletmede karşılaşılan bu durum diğer üç işletmede rastlanılmaması, ilk işletmede aşı ve kontrol grupları arasındaki bu farklı bulguların tesadüfi olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Dikkat çekici bu farklı durum nedeniyle birinci işletme hesaba katılmadan sadece diğer üç çiftliğin klinik mastitisleri değerlendirildiğinde aşı grubundaki klinik mastitis oranının (%13,5) kontrol grubuna (%15,8) göre daha düşük olduğu ancak bu bulgularında istatistiki anlam taşımadığı belirlendi ( $P>0,05$ ). Bu sonuçla uyumlu olarak Küçük ve Alaçam (63) yaptıkları polivalan aşı sonucunda, aşı ve kontrol grupları arasında klinik mastitis sıklığı yönünden önemli farklılık olmadığını bildirmektedirler. Koliform mastitislere karşı yapılan bir saha çalışmasında (51) aşlamayı takib eden ilk 5 ay boyunca aşı grubunda %28, kontrol grubunda %34 adet klinik mastitis meydana gelmiştir. Gruplar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Nourdhaug ve arkadaşları (47) *S. aureus*'a karşı yaptıkları aşılama çalışmasında, bir laktasyon periyodu boyunca kontrol grubunda %20, aşı grubunda %15,5 oranında klinik mastitis meydana geldiğini saptamışlardır. Bu çalışmada *S. aureus*'un  $\alpha$  ve  $\beta$  toksini, pseudokapsüllü *S. aureus* bakterini içeren aşı kullanılmasına rağmen, aşı ve kontrol grupları arasında klinik mastitis ve *S. aureus* kaynaklı mastitis bakımından gruplar arasında bir fark belirlenmemiştir.

Fakat Yoshida ve arkadaşları (97) tarafından yapılan aşılama çalışmasında, gruplarda meydana gelen klinik mastitis insidansı karşılaştırıldığında aşı grubunun klinik mastitis oranı kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha az saptanmıştır. Birinci sürüde rapel aşı uygulamasını takiben ilk ayda aşı grubunda şekillenen klinik mastitis oranı %17,4 iken bu

oran kontrol grubunda %38,1 olarak belirlenmiştir. İkinci işletmede ise rapeli takiben ilk ayda aşı grubunda klinik mastitis oranı %20 iken kontrol grubunda %37,5 olarak tespit edilmiştir. Her iki işletmede diğer aylarda benzer sonuçlar saptanmıştır. Araştırmacılar aşının bu koruyucu özelliğinin, aşı içeriğindeki kapsüller polisakkariten kaynaklandığını bildirmektedirler.

Aşı uygulamalarına rağmen sütçü hayvanlarda meydana gelen klinik mastitisler aşılamanın memeyi mastitise karşı belirgin bir şekilde koruyamadığını göstermektedir. Literatürlerde ki deneysel (7, 22-25, 28, 31, 33, , 40, 45) ve saha çalışmaları da (6, 12, 15, 42-44, 49-51, 97) bu sonucu doğrulamaktadır. Fakat Finch ve arkadaşları (30) *S. uberis*'e karşı yaptıkları aşılama çalışmasında, aşı uygulamalarını deri altı ve meme içi yapmışlar, takiben 2. ile 6. haftalar arasında deneysel enfeksiyon oluşturmuşlardır. Meme içi ve deri altı aşılanmış hayvanlarda klinik mastitis gözlemlenmezken kontrol grubunda klinik mastitisin şekillendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar aşı grubundaki hayvanlarda aşının koruyucu etkisini ve klinik mastitisin meydana gelmemesini, bakterilerin yangı şekillenmeden önce eliminasyonuna veya enfeksiyonun engellenmesine bağlamaktadırlar (30). Bu çalışmanın deneysel olması ve oluşturulan enfeksiyonda kullanılan suşun aşı içerisindeki bakterinin aynı suşuyla yapılmış olması nedeniyle aşı grubunda klinik mastitis şekillenmemiştir. Diğer yandan yaptığımız çalışma sonucunda; saha şartlarında mastitise yol açan bakteri sayısının çok fazla sayıda olması, bir bakteriye ait birden fazla suşun ve virulens faktörünün mevcudiyeti nedeniyle aşının memeyi mastitise karşı koruyamamaktadır.

Yapılan deneysel çalışmalarda aşılamanın kan ve süt serumunda antikor titresini artırması yanında, aşılı hayvanlarda bir mastitis oluşturulduğunda kontrol grubuna göre klinik seyrin daha hafif şiddette olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra deneysel enfeksiyonu takiben sütteki bakteri yükünün daha az ve iyileşme sürecinin aşılı grupta daha hızlı olduğu saptanmıştır. Bu da aşılama ile kan ve sütte artan antikor titresine ilişkilendirilmiştir (7, 23-25, 28, 34, 50). *E. coli*'ye karşı yapılan deneysel bir aşılama çalışmasında deneysel enfeksiyonlar doğum sonrası 30. günde heterelog bir *E. coli* suşuyla yapılmıştır. Çalışma sonunda aşılı grupta *E. coli*'ye karşı serum antikor titresi yüksek tespit edilirken, şekillenen klinik mastitisin şiddetinin kontrol grubuna göre daha hafif olduğunu saptanmıştır (28). *S. aureus*'a karşı yapılan bir saha çalışmasında aşı ve kontrol grupları arasında *S. aureus* klinik mastitisi arasında fark saptanamamış ancak aşılı grupta yangı derecesinin kontrol grubuna göre daha az olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar bunu *S. aureus*'a ve toksinlerine karşı oluşan antikor titresine bağlamaktadırlar (47). Yapılan bu



çalışmada aşı (15 adet) ve kontrol grubunda (3 adet) şekillenen klinik mastitislerin iyileşme süreçleri takip edilmiştir. Aşılı grupta şekillenen mastitislerden dolayı hiçbir hayvanda genel durum bozukluğu saptanmadı. Memelerin muayenesinde 15 hayvandan sadece 5'inde memelerinde sıcaklık artışı ve ödem tespit edildi. Sütün muayenesinde sadece 3 hayvanda süt karakterini kaybetmiş, diğer mastitislerde sadece sütte pıhtı belirlendi. Yapılan antibiyotik tedavisinde aşılı hayvanlarda iyileşme hızlı saptandı. Aynı zamanda klinik form değerlendirildiğinde mastitislerin antibiyotik tedavisine ihtiyaç duymadan sık sağım ve destekleyici tedavi ile iyileşebileceği kanısı uyanmaktadır. Diğer yandan mastitislerin klinik formu değerlendirildiğinde aşının spesifik antikor üretimine yol açtığı ve mastitise karşı korumada etkisi olduğu kanısı uyanmakla birlikte bu anlamda daha fazla deneysel çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışma sonunda SHS, CMT, klinik mastitis ve bakteriyolojik sonuçlar beraber değerlendirildiğinde mastitise karşı aşılamanın hastalığa karşı ölçülebilir bir koruma sağlayamadığı sonucuna varılmaktadır. Aşılama çalışmalarda elde edilen sonuç başarısız olduğunda araştırmacılar bunu aşı içerisindeki antijenik yapının mücadele edilecek olan patojen için uygun olmadığına veya aşı antijeninde süşun yanlış seçimi, uygun epitoplarn seçilmemesi, canlı aşılarında patojenlerin ölmesi ya da ölü aşı yapımı sırasında bakterinin antijenik yapılarının bozulmasına bağlamaktadırlar. Aynı zamanda aşı antijenlerinin yanlış seçiminin arzu edilmeyen Tip 2 immün yanıtın uyarılmasına yol açtığı da bildirilmektedir. Bazen de aşı materyali uygun olsa da aşının dozunun yetersiz olması, uygulama yolunun yanlış yapılmasının da başarıyı sınırladığı bildirilmektedir (32, 43, 44, 53, 54, 62).

Bazı durumlarda aşının dozuna ve tipine bakılmaksızın hayvanların vermiş oldukları immün tepkideki farklılıktan dolayı da aşı başarısız olmaktadır. İmmün tepkideki farklılıklar hayvanların genetik/biyolojik yapılarının farklı olmasına bağlanmaktadır. Aynı zamanda hayvanlardaki ağır parazit enfestasyonu, viral enfeksiyonlar, gebelik, yüksek sıcaklık ve soğukluk, yorgunluk gibi stres faktörleri ve beslenmedeki hatalar immüsupresyona yol açmakta ve bu da aşının başarısız olmasına neden olmaktadır (60).

Sonuç olarak; çalışmada kullandığımız polivalan aşının mastitise karşı belirgin bir koruma sağlamadığı düşünülmektedir. Ancak saha şartlarında aşılamanın mastitis bakımından problemlı sürülerde klinik mastitis sayısı ve *S. aureus* enfeksiyonunu azaltabileceği kanısı uyanmaktadır. Diğer yandan aşının başarısını etkileyen faktörleri belirlemeye ve başarıyı yükseltmeye yönelik daha bir çok araştırmanın yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

## EK

### **Kısaltma ve Tanımlama İndeksi**

APC	Antigen Presenting Cell
BÜ	Bakteri Üremeyen
ClfA	Clumping Factor A
CMT	California Mastitis Test
CnBP	Rekombinant Collogen Binding Protein
CPS	Capsuler Polysaccarid
CSF	Colony Stimulating Factor
FIA	Freud Complete Adjuvant
FIC	Freud Incomplete Adjuvant
FnBP	Fibronectin Binding Protein
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
GapC	Plasmin Reseptör Proteini
IFN	İntreferon
Ig	İmmunglobulin
IL	İnterleukin
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokoklar
LPS	Lipopolisakkarit
MHC	Major Histocompatibility Complex
Mig	Plasmin Reseptör Proteini
NK	Natural Killer
rBoIL-2	Rekombinant Bovine Interleukin-2
r-FnBP	rekombinant Fibronektin Bağlayıcı Protein
PauA	Plasminojen Aktivatörü
SHS	Somatik Hücre Sayısı
STTSHS	Süt Toplama Tankı Somatik Hücre Sayısı
Th1	Tip 1 Helper Hücreler
Th2	Tip 2 Helper Hücreler
TNF	Tumor Necrosing Factor

## KAYNAKLAR

- 1- ALAÇAM E.; Meme hastalıkları. Editörler: ALAÇAM E. ŞAHAL M. Sığır hastalıkları, No: 31, 1. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, sayfa 389-420, 1997.
- 2- SEYREK-İNTAŞ K. Meme hastalıkları ders notu. U.Ü. Basım Evi, Bursa, sayfa 57-86, 1997.
- 3- WENDT K, BOSTEDT H, MIELKE H. Euter und gesaugekrankheiten, Gutav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, page 94-104, 1994.
- 4- BAŞTAN A. Meme hastalıkları. Medisan Yayınevi, Birinci Baskı, Ankara, sayfa 27-82, 2003.
- 5- COLDITZ IG, WATSON DL. The immunophysiological basis for vaccinating ruminants against mastitis. Australian Veterinary Journal, 62(5): 145-153, 1985.
- 6- GIRAUDO JA, CALZOLARI A, RAMPONE H, RAMPONE A, GIRAUDO AT, BOGNI C, LARRIESTA A, NAGEL A. Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 1. Evaluation in heifers. Journal of Dairy Science, 80: 845-853, 1997.
- 7- HOGAN JS, WEISS WP, SMITH KL, TODHUNTER A, SCHOENBERGER PS. Effects of an *Escherichia coli* J5 vaccine on mild clinical coliform mastitis. Journal of Dairy Science, 78: 285-290, 1995.
- 8- HOGAN JS, TODHUNTER DA, TOMITA GM, SMITH KL. Opsonic activity of bovine serum and mammary secretion after *Escherichia coli* J5 vaccination. Journal of Dairy Science, 75: 72-77, 1992.
- 9- TOMITA GM, TODHUNTER DA, HOGAN JS, SMITH KL. Immunization of dairy cows with an *Escherichia coli* J5 lipopolysaccharide vaccine. Journal of Dairy Science, 78: 2178-2185, 1995.
- 10- WATSON DL. Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in dairy heifers. Research in Veterinary Science, 53: 346-353, 1992.
- 11- LITHNER G, LUBASHEVSKY E, GLICKMAN A, WINKLER M, SARAN A, TRAININ Z. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. I. Challenge trials. Veterinary Immunology and Immunopathology, 93: 31-38, 2003.
- 12- NICKERSON SC, PANKEY JW, WATTS JL. Enhancement of the cellular immune response of the bovine udder by local and systemic immunization against Staphylococcal mastitis. Agri-Practice, 6(3): 34-38, 1985.
- 13- YANCEY RJ. Recent advances in bovine vaccine technology. Journal of Dairy Science, 76: 2418-2436, 1993.

- 14- NOURHAUG ML, NESSE LL, NORCROS NL, GUDDING R. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 2. Antibody response. *Journal of Dairy Science*, 77: 1276-1284, 1994.
- 15- NICKERSON SC, OWENS WE, BODDIE RL. Efficacy of a *S. aureus* mastitis vaccine in dairy heifers. *International Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland, International Dair Fedaration, Stresa*, page,426-431, 2000.
- 16- LEITNER G, YADLIN N, LUBASHEVSY E, EZRA E, GLICKMAN A, CHAFFER M, WINKLER M, SARAN A, TRAININ Z. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. *Veterinay Immunology and Immunopathology*, 93: 153-158, 2003.
- 17- DEROSA DC, SORDILLA LM. Efficacy of bovine *Staphylococcus aureus* vaccine using interleukin-2 as an adjuvant. *Zentralbl Veterinarmed B*, 44 (10): 599-607, 1997.
- 18- GUIDRY AJ, BERNING LM, HAMBLETON CN. Opsonization of *Staphylococcus aureus* by bovine immunoglobulin isotypes. *Journal of Dairy Science*, 76: 1285-1289, 1993.
- 19- GUIDRY AJ, O'BRAIN CN, OLIVER SP, DOWLEN HH, DOUGLASS LW. Effect of whole *Staphylococcus aureus* and mode of immunization on bovine opsonizing antibodies to capsule. *Journal of Dairy Science*, 77: 2965-2974, 1994.
- 20- LITHNER G, LUBASHEVSKY E, TRAININ Z. *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows, composition and evaluation of its immunogenicity in a mouse model. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 93: 159-167, 2003.
- 21- TOLLERSRUD T, ZERICHOW L, ANDERSON SR, KENNY K, LUND A. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide type 5 cajugate and whole cell vaccines stimulate antibody response in cattle. *Vaccine*, 19: 3896-3903, 2001.
- 22- NICKERSON SC, OWENS WE, BODDIE RL. Effect of a *Staphylococcus aureus* bacterin on serum antibody, new infection and mammary histology in nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76: 1290-1297, 1993.
- 23- SMITH JL, HOGAN JS, SMITH KL. Efficacy of intramammary immunization with an *Escherichia coli* J5 bacterin. *Journal of Dairy Science*, 82: 2582-2588, 1999.
- 24- HOGAN JS, BOGACZ VL, ASLAM M, SMITH KL. Efficacy of an *Escherichia coli* J5 bacterin administered to primigravid heifers. *Journal of Dairy Science*, 82: 939-943, 1999.
- 25- ASLAM M, WHITEMORE HL, KAKOMA I. Effect of *E. coli* vaccine and intramammary challange with live *Escherichia coli* in lactating dairy goats. *Small Ruminant Reseach*, 17: 275-281,1995.
- 26- REINHARDT TA, STABEL JR, GOFF JP. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> enhances milk antibody titers to *Escherichia coli* J5 vaccine. *Journal of Dairy Science* 82: 1904-1909, 1999.

- 27- HOGAN JS, SMITH KL, SCHOENBERGER P, ROMIG S, THOMPSON L. Response of antibody titers to intramammary immunization with *Escherichia coli* J5 bacterin. *Journal of Dairy Science*, 80: 2398-2402, 1997.
- 28- HOGAN JS, WEISS WP, TODHUNTER DA, SMITH KL, SCHOENBERGER PS. Efficacy of an *Escherichia coli* J5 mastitis vaccine in an experimental challenge trial<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science*, 75: 415-422, 1992.
- 29- FONTAINE MC, PEREZ-CASAL J, SONG XM, SHELFORD J, WILLSON PJ, POTTER AA. Immunisation of dairy cattle with recombinant *Streptococcus uberis* GapC or a chimeric CAMP antigen confers protection against heterologous bacterial challenge. *Vaccine*, 3141: 1-9, 2002.
- 30- FINCH JM, HILL AW, FIELD TR, LEIGH JA. Local vaccination with killed *Streptococcus uberis* protects the bovine mammary gland against experimental intramammary challenge with the homologous strain. *Infection and Immunity*, Sep: 3599-3603, 1994.
- 31- FINCH JM, WINTER A, WALTON AW, LEIGH JA. Further studies on the efficacy of a live vaccine against mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *Vaccine*, 15(10):1138-1143, 1997.
- 32- RAINARD P, POUTREL B. Immunization against mastitis: a practical goal. *Flem. Veterinary Journal*, 62: 141-149, 1991.
- 33- LEIGH JA, FINCH JM, FIELD TR, REAL NC, WINTER A, WALTON AW, HODGKINSON SM. Vaccination with the plasminogen activator from *Streptococcus uberis* induces an inhibitory response and protects against experimental infection in dairy cow. *Vaccine*, 17: 851-857, 1999.
- 34- SHKRETA L, TALBOT BG, DIARRA MS, LACASSE P. Immune responses to a DNA/protein vaccination strategy against *Staphylococcus aureus* induced mastitis in dairy cows. *Vaccine*, 23: 114-126, 2004.
- 35- BARRIO MB, RAINARD P, GILBERT FB, POUTREL B. Assessment of the opsonic activity of purified bovine sIgA following intramammary immunization of cows with *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 86: 2884-2894, 2003.
- 36- BROUILLETTE E, LACASSE P, SHKRETA L, BELANGER J, GRODIN G, DIARRA MS, FOURNIER S, TALBOT BG. DNA immunization against the clumping factor A (ClfA) of *Staphylococcus aureus*. *Vaccine*, 20: 2348-2357, 2002.
- 37- DING H, LAMMLER C, VECT U. Measurement of *Actinomyces pyogenes* specific antibodies in bovine blood samples by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Zentralbl Veterinarmed B*, 45(5): 297-303, 1998.
- 38- PARK HM, YOO HS, OH TH, KIM D, HAN HR. Immunogenicity of alpha toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of *Staphylococcus aureus* in rabbit. *Journal Veterinary Medicine Science*, 61(9): 995-1000, 1999.

- 39- MAMO W, FROMAN G, MULLER HP. Protectin induced in mice vaccinated with recombinant collagen-binding protein (CnBP) and alpha toxin against intramammary infection with *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Immunology*, 44(5): 381-384, 2000.
- 40- PANKEY JW, BODDIE NT, WATTS JL, NICKERSON SC. Evaluation of protein A and a commercial bacterin as vaccines against *Staphylococcus aureus* mastitis by experimental challenge. *Journal of Dairy Science*, 68(3): 726-731, 1985.
- 41- BOLTON A, SONG XM, WILLSON P, FONTAINE MC, POTTER AA, PEREZ-CASAL J. Use of the surface proteins GapC and Mig of *Streptococcus dysgalactiae* as potential protective antigens against bovine mastitis. *Canadian Journal of Microbiology*, 50(6): 423-432, 2004.
- 42- WATSON DL, McCOLL ML, DAVIES HI. Field trial of staphylococcal mastitis vaccine in dairy herds: subclinical and microbiological assessments. *Australian Veterinary Journal*, 74(6): 447-450, 1996.
- 43- HOEDEMAKER M, KORFF B, EDLER B, EMMERT M, BLECKMANN E. Dynamics of *Staphylococcus aureus* infections during vaccinations with an autogenous bacterin in dairy cattle. *Journal Veterinary Medicine Series B*, 48: 373-383, 2001.
- 44- TENHAGEN BA, EDINGER D, BAUMGÄRTNER B, KALPE P, KLÜNDER G, HEUWIESER W. Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent post-partum mastitis in a dairy heifers. *Journal Veterinary Medicine Series A*, 48: 601-607, 2001.
- 45- BROCK JH, SHELL ED, RETTER B. The effect of intramuscular and intramammary vaccination of cows on antibody levels and resistance to intramammary infection by *Staphylococcus aureus*. *Research in Veterinary Science*, 19: 152-158, 1975.
- 46- CALZOLARI A, GIRAUDO JA, RAMPONE H, ODIERNO L, GIRAUDO AT, FRIGERO C, BETTERA S, RASPANTI C, HERNÁNDEZ J, WEHBE M, MATTEA M, FERRARI M, LARRIESTA A, NAGEL R. Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 2. evaluation in two commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 80: 854-858, 1997.
- 47- NORDHAUG ML, NESSE LL, NORCROSS NL, GUDDING R. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical parameters. *Journal of Dairy Science*, 77: 1267-1275, 1994.
- 48- HWANG CY, PAK SL, HAN HR. Effects of autogenous toxoid-bacterin in lactating cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Journal Veterinary Medical Science*, 62(8): 875-880, 2000.
- 49- HOGAN JS, SMITH KL, TODHUNTER A, SCHOENBERGER PS. Field trial to determine efficacy of an *Escherichia coli* J5 mastitis vaccine<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science*, 75: 78-84, 1992.

- 50- CLARK P, ROEKEL DE. Efficacy of an *Escherichia coli* bacterin for the control of coliform mastitis in dairy cows. *Agri-Practice*, 15(6): 19- 25, 1994.
- 51- WOLFF WA, FALES WH, KRAUSE GF, MIRAMONTI J. Effect of Re-17 mutant *Salmonella typhimurium* bacterin toksoid on clinical coliform mastitis. *Journal of Dairy Science*, 77: 2272-2280, 1994.
- 52- LEIGH JA. Vaccines against bovine mastitis due to *Streptococcus uberis* current status and future prospects. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 480: 307-311, 2000.
- 53- BURTON JL, ERSKINE RJ. Immunity and mastitis some new ideas for an old disease. *Veterinary Clinical Food Animal*, 19:1-45, 2003.
- 54- DOSOGNE H, VANGROENWEGHE F, BURVENICH C. Potential mechanism of J5 vaccine in protection against severe bovine coliform mastitis. *Veterinary Research* 33: 1-12, 2002.
- 55- FOSTER TJ. Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Vaccine*, 9: 221-227, 1991.
- 56- WATSON DL. Staphylococcal mastitis vaccine. *Vaccine*, 10 (5): 359,1992.
- 57- ANDERSON JC. Progressive pathology of staphylococcal mastitis with a note on control, immunisation and therapy. *Veterinary Record*, 17: 372-376, 1982.
- 58- TOLLERSRUD T, NORSTEBØ PE, ENGVİK JP, ANDERSEN SR, REITAN LJ, LUND A. Antibody response in sheep vaccinated against *Staphylococcus aureus* mastitis: a comparison of two experimental vaccines containing different adjuvants. *Veterinary Research Communication*, 26: 587-600, 2002.
- 59- WILSON DJ, GONZALES RN. Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis. *Veterinary Clinical Food Animal*, 19: 187-197, 2003.
- 60- CULLOR JS. The *Escherichia coli* J5 vaccine: investigating a new tool to combat coliform mastitis. *Veterinary Medicine*, 86(8): 836-844, 1991.
- 61- FIRAT G, UYSAL Y. Stafilokok orjinli mastitislere karşı bir aşı hazırlanması. *Pendik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2: 28-43, 1988.
- 62- HADİMLİ HH, ERGANİŞ O. Mastitis ve bağışıklık. *Veterinarium*, 13(1):37-42, 2002.
- 63- KÜÇÜK Ş, ALAÇAM E. Sütçü inek işletmelerinde mastitise karşı sistemik immunizasyon uygulamalarında meme ve sağım hijyenin etkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50(1):25-31, 2002.
- 64- RIŞVANLI 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, sayfa 59, 2001.

- 65- SCOTT HM, SARGEANT JM, IRELAND MJ, LISSEMORE KD, LESLIE KE, KELTON DF, MALLARD BA. Effects of a core antigen vaccine against Gram-negative bacteria on physiologic and yield parameters of dairy cows during late lactation and dry period. *Journal of Dairy Science*, 81: 1828-1935, 1998.
- 66- MUSSER JMB, ANDERSON KL. Effect of vaccination with an *Escherichia coli* bacterin-toksoid on milk production in dairy cattle. *JAVMA*, 209 (7): 1291-1293, 1996.
- 67- HILL AW, FINCH JM, FIELD TR, LEIGH JA. Immune modification of the pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis in the dairy cow. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 8 (2): 109-117, 1994.
- 68- PYÖRÄLÄ S. New strategies to prevent mastitis. *Reproduction in Domestic Animals*, 37: 211-216 2002.
- 69- BRADLEY AJ. Immunization against *E. coli* mastitis- a cost benefit analysis. *Proceedings of The British Mastitis Conference*, Garstang, page 93, 2001.
- 70- SCHUKKEN YH, KREMER DJ. Monitoring udder health: objectives, materials and methods. Editors: BRAND A, NOORDHUIZEN JP, SCHUKKEN YH, *Herd Health Management*, Wageningen Pers, Third reprint, Netherlands, page 351-370, 2001.
- 71- SPHIGEL NY, WINKLER M, ZIV G, SARAN A. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 35: 1-9, 1998.
- 72- KOSSAIBATI M. *Understanding&Tackling mastitis in dairy herds*. Solvay Duphar Veterinary Research, Solvay House, Southampton, 1996.
- 73- NAK D. *Sublinik mastitislerin teşhis yöntemleri üzerine çalışmalar*. U.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Bursa, 1994.
- 74- Gıda mevzuatı, Seri No II, Cilt 11/2. Türk gıda kodeksi; çiğ süt ve ısıtılmış içme sütleri tebliği, Tebliğ No. 2000/6, Lebib Yalkın Yayınları Basım İşleri A.Ş., İstanbul, sayfa 1549-1560, 2000.
- 75- BAKKEN G. Bovine mastitis and mastitis control strategy. *Irish Veterinary Journal*, 41: 235-241, 1987.
- 76- SORDILLO LM, SHAFER-WEAVER K, DeROSA D. Immunobiology of the mammary gland. *Journal Dairy Science*, 80: 1851-1865, 1997.
- 77- SORDILLO LM, STREICHER KL. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(2):135-146, 2002.
- 78- VURAL R, İZGÜR H. Mastitisten korunmada temel ilkeler. *Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyum Kitabı*, Burdur, sayfa 177, 2001.



- 79- HILL AW. Mastitis, the non-antibiotic approach to control. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement, 93-103, 1986.
- 80- KIRK JH, DeGRAVES F, TYLER J. Recent progress in treatment and control of mastitis in cattle. JAVMA, 204(8):1152-1157, 1994.
- 81- DALEY MJ, FURDA G, DOUGHERTY R, COYLE PA, WILLIAMS TJ, JOHNSTON P. Potentiation of antibiotic therapy for bovine mastitis by recombinant bovine interleukin-2. Journal of Dairy Science, 75: 3330-3338, 1992.
- 82- DİNÇ DA. Evcil hayvanlarda memenin deri hastalıkları, dolaşım bozuklukları ve operasyonları. Özgü Matbaası, Konya, sayfa 20-23, 1994.
- 83- KAWAI K, HAGIWARA S, ANRI A, NAGAHATA H. Laktoferrin concentration in milk of bovine clinical mastitis. Veterinary Research Communications, 23: 391-398, 1999.
- 84- MİMBAY A, ÇARLI T, ŞEN A. İmmunoloji ve seroloji. U.Ü. Basımevi, Bursa, sayfa 1-93, 1995.
- 85- NICKERSON SC. Immune mechanisms of the bovine udder: an overview. JAVMA, 187(1): 41-45, 1985.
- 86- AYDIN N. Aşılar, aşılamaların genel prensipleri ve immunoterapi. Editör: ARDA M. İmmunoloji. 1. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, sayfa 273-290, 1994.
- 87- DİKER KS. İmmunoloji. Medisan Yayınevi, seri no: 37, 1. baskı, sayfa 85-284, Ankara, 1998.
- 88- VESTWEBER JG, LEIPOLD HW. *Staphylococcus aureus* mastitis. Part I. Virulence, defence mechanisms and establishment of infection. Compendium, 15(11): 1561-1569, 1993.
- 89- DIARRA MS, PETITCLERC D, DESCHENES E, LESSARD N, GRONDIN G, TALBOT BG, LACASE P. Lactoferrin against *Staphylococcus aureus* mastitis lactoferrin alone or in combination with penicillin G on bovine polymorphonuclear function and mammary epithelial cells colonisation by *Staphylococcus aureus*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 95: 33-42, 2003.
- 90- PAAPE M, MEHRZAD J, ZHAO X, DETİLLEUX J, BURVENINCH C. Defens of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 7(2): 109-121, 2002.
- 91- DIONYSIUS DA, GRIEVE PA, MILNE JM. Forms of lactoferrin: their antibacterial effect on enterotoxigenic *Escherichia coli*. Journal Dairy Science, 76: 2597-2606, 1993.
- 92- TARGOWSKI SP. Role immun factors in protection of mammary gland. Journal of Dairy Science, 66(8): 1781-1789, 1983.

- 93- WATSON DL. Immunological functions of the mammary gland and its secretion-comparative review. Australian Journal Biological Science, 33: 403-422, 1980.
- 94- LASCELLES AK. The immun system of the ruminant mammary gland and its role in the control of mastitis. Journal of Dairy Science, 62 (1): 154-160, 1979.
- 95- BLECHA F. Cytokines: applications in domestic food animals. Journal of Dairy Science, 74: 328-339, 1991.
- 96- HOGAN JS, WEISS WP, SMITH KL, TODHUNTER DA, SCHOENBERGER PS. Vitamin E as an adjuvant in an *Escherichia coli* J5 vaccine. Journal of Dairy Science 76: 401-407, 1993.
- 97- YOSHIDA K, ICHIMAN Y, NARIKAWA S, EVANS B. Staphylococcal capsular vaccine for preventing mastitis in two herds in Georgia. Journal of Dairy Science, 67: 620-627, 1984.
- 98- TOLLERSRUD T, KENNY K, REITZ AJ, LEE JC. Genetic and serological evaluation of capsule production by bovine mammary isolets of *Staphylococcus aureus* and other *Staphylococcus spp.* from Europe and United States. Journal of Clinical Microbiology, 38(8): 2998-3003, 2000.
- 99- PICCININI R, BROZO V, MORONI PM, LUZZAGO G, ZECCONI A. Study on the relationship between immune factors and *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. Journal Dairy Research, 66: 501-510, 1999.
- 100-RAINARD P, LAUTROU Y, SARRADIN P, POUTREL B. Protein X of *Streptococcus agalactiae* induces opsonic antibodies in cows. Journal of Clinical Microbiology, 29 (9): 1842-1846, 1991.
- 101-DEMET İ. Mastitiste somatik hücre sayımı yöntemleri ve somatik hücre sayısının önemi. Veterinarium, 4(2): 47-56, 1993.
- 102-SCHALM OW, CAROL EJ, JAIN N.C. Bovine mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia, sayfa 72-152, 1971.
- 103-International Dairy Federation. Laboratory methods for use in mastitis work, document 132, Brussels, 1981.

## TEŞEKKÜR

Bu tez konusunun seçimi, yürütölmesi ve yazılmasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın hocam Doç. Dr. Kamil SEYREK-İNTAŞ'a, bilimsel katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Zeki YILMAZ, Yard. Doç. Dr. Yavuz NAK ve Yard. Doç. Dr. Deniz NAK'a, ęalışmanın deneysel kısmında destekte bulunan Sayın Prof. Dr. Tayfun ÇARLI, Prof. Dr. Suna GEDİKOğLU ve Yard. Doç. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a, bulguların istatistiksel değerlendirmesini sağlayan Sayın Prof. Dr. Sacit ERTAŐ ve Yard. Doç. Dr. Nuran BAYRAM'a, ęalışma kısmında beni yalnız bırakmayan AraŐ. Gör. Hasan Basri TEK, AraŐ. Gör. Bilginer TUNA ve AraŐ. Gör. Gülnaz YILMAZBAŐ'a ve desteğinden dolayı eŐim Adviye KESKİN'e teşekkür ederim.

Bu ęalışmayı mali açıdan destekleyen Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'ne, ęalışmada kullanılan aşılari temin eden GÜRTAV A.Ő.'ine ve ęalışma materyalinin temininde yardımda bulunan Bursa Holstein Damızlık İŞletmeler Birliği ęalışanlarına ayrıca teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Aksaray'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Aksaray'da tamamladım. 1993 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdim. 1998 yılında mezun oldum. Aynı sene içerisinde U.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. 1999 yılında U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açtığı sınavı kazanarak aynı Anabilim Dalında doktora eğitimine başladım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.