

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**EREĞLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İNEKLERDE MASTİTİSLERDEN
İZOLE EDİLEN STREPTOKOKLARIN PREVALANSI VE
ETKENLERİN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI**

Şirin BÜLBÜL ÖNAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MIKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr.Uçkun Sait UÇAN

KONYA-2016

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**EREĞLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İNEKLERDE MASTİTİSLERDEN
İZOLE EDİLEN STREPTOKOKLARIN PREVALANSI VE
ETKENLERİN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI**

Şirin BÜLBÜL ÖNAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MIKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr.Uçkun Sait UÇAN

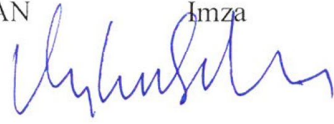
Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 13202019 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2016

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Şirin BÜLBÜL ÖNAL tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı/ Danışman: Prof.Dr. Uçkun Sait UÇAN
Selçuk Üniversitesi

İmza


Üye: Doç.Dr.Zeki ARAS
Aksaray Üniversitesi

İmza


Üye: Yrd.Doç.Dr.Zafer SAYIN
Selçuk Üniversitesi

İmza


ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

“Prof.Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ”

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

İnsan beslenmesinde sağlıklı süt tüketimi oldukça önemlidir ve Türkiye süt üretimin de Ereğli önemli paya sahiptir. Ancak sağlıklı süt sağlıklı hayvan ve sağlıklı memeden üretilir. Günümüzde işletmelerin büyük problemi haline gelen mastitis, hayvanların süt veriminde azalma, süt kalitesinde düşme ilaç ve tedavi giderleri ile işletmeleri maddi kayıba uğratan önemli bir meme hastalığıdır. Mastitis etkenleri arasında yer alan streptokoklar çevresel ve bulaşıcı olarak karşımıza çıkmakta, bu sebepten doğru izolasyon ve identifikasyonu uygun mastitis kontrol programlarının uygulanması açısından önem arz etmektedir. İzolasyon neticesinde etkene yönelik tedavi amacıyla antibiyogram yapılması hem dirençli suş gelişimini önlemek hem de memenin hızlı iyileşmesini sağlayarak işletmelerin ekonomik giderlerini minimum seviyeye indirmek adına önemlidir. Maalesef günümüzde birçok bakteri antibiyotiklere direnç kazanmış durumdadır. Bunun en önemli nedeni ise sahada gerek mastitis tedavisi gerekse diğer hastalıkların tedavisinde bilinçsiz antibiyotik kullanımıdır.

Sunulan çalışmada Ereğli ilçesinde ki işletmelerden alınan süt numunelerinden izole edilen suşların bakteriyolojik izolasyon ve konvansiyonel yöntemler ile identifikasyonunun yapılması, antibiyotik direnç ve duyarlılıklarının belirlenmesi hedeflendi.

Bu çalışma sırasında desteğini gördüğüm SÜ. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD öğretim üyelerinden danışmanım Prof. Dr. U. Sait UÇAN'a, ABD Başkanı Prof. Dr. Osman ERGANİŞ'e, Prof. Dr. Hasan Hüseyin HADİMLİ'ye, Yard. Doç. Dr. Zafer SAYIN'a, sürekli başarılarını ağırttığım Dr. Aslı SAKMANOĞLU'na, Dr. Yasemin PINARKARA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, daima maddi ve manevi anlamda yanımda olan babam Veteriner Hekim Mehmet BÜLBÜL ve ağabeyime, her Konya'ya gelişimde evlerinin kapısını açan dayım ve yengeme, oğluma büyük bir sevgiyle bakan canım annem ve kardeşime, tezimin en zor zamanlarında sevgisiyle güç veren eşime, yokluğumda beni sabırla bekleyen canım oğluma sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET.....	vi
SUMMARY	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 Memenin Yapısı ve Çalışma Şekli.....	2
1.2 Memenin Savunma Mekanizması	3
1.2.1 Anatolik (Mekanik) Savunma Mekanizması.....	3
1.2.2 İmmunolojik Savunma Mekanizması	4
1.3 Mastitise Duyarlılık Oluşturan Faktörler.....	6
1.3.1 İneğe Ait Faktörler	6
1.3.2 Çevresel Faktörler	6
1.4 Mastitis	7
1.4.1 Mastitis Etiyoloji ve Epidemiyolojisi.....	8
1.4.2 Mastitis Çeşitleri.....	10
1.4.3 Subklinik Mastitisin Ön Tanısı.....	11
1.4.4 Mastitisin Ekonomik Açından Önemi.....	13
1.4.5 Mastitisin Halk Sağlığı Yönünden Önemi.....	13
1.5 Streptokoklar	13
1.5.1 Genel Özellikleri	14
1.5.2 Streptokokların Sınıflandırılması	14
1.5.3 Streptokok Mastitislerin Epidemiyolojisi	15
1.5.4 Dünya’da Streptokok Mastitisleri	16
1.5.5 Türkiye’de Streptokok Mastitisleri	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
2.1. Gereç	19
2.1.1. İşletmeler ve Hayvan Materyali.....	19
2.1.2. İzolasyon ve İdentifikasyonda Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması.....	19
2.1.3. İzolasyon ve İdentifikasyonda Kullanılan Boyalar	23

2.2. Yöntem	25
2.2.1. Süt Numunelerinin Toplanması	25
2.2.2. Numunelerin Somatik Hücre Sayımı	25
2.2.3. <i>Streptococcus</i> spp. İzolasyonu	25
2.2.4. <i>Streptococcus</i> spp.'lerin Tür Düzeyinde İdentifikasyonu.....	26
2.2.5. Serotiplendirme.....	28
2.2.6. Antibiyogram	28
3. BULGULAR.....	30
3.1. Mastitis Yönünden İneklerin Taranması, CMT Pozitif Hayvan Bilgileri ve Somatik Hücre Sayımı.....	30
3.2. İzolasyon Sonuçları	30
3.3. İdentifikasyon Sonuçları.....	30
3.4. Serotiplendirme Sonuçları.....	30
3.5. Antibiyogram Sonuçları	30
4. TARTIŞMA	35
4.1. İzolasyon / İdentifikasyon Sonuçlarının Değerlendirilmesi	35
4.2. Antibiyogram Sonuçlarının Değerlendirilmesi	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
6. KAYNAKLAR.....	39
7. EKLER	43
8. ÖZGEÇMİŞ	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
β	Beta
Cl	Klor
CMT	California mastitis testi
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
gr	Gram
γ	Gama
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IgA	İmmünglobulin A
IgG1	İmmünglobulin G1
MHA	Muller Hinton agar
ml	Mililitre
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NAG ase	N-asetil β -D-Glukozaminidaz
NAG ase	N-asetil β -D-Glukozaminidaz
SÜ	Selçuk Üniversitesi
<i>Str. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Str. dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Str. uberis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
SHS	Somatik hücre sayısı
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TZOB	Türkiye Ziraat Odaları Birliği
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Ereğli ve Çevresindeki İneklerde Mastitislerden İzole Edilen Streptokokların Prevalansı ve Etkenlerin Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Şirin Bülbül Önal
Mikrobiyoloji (VET) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2016

Yapılan çalışmada Ereğli Yöresinden yapılan örnekleme ile mastitis vakalarının genel olarak sıklığının belirlenmesi; bunlar içerisinde Streptokok mastitislerinin prevalansı ile etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının tespit edilmesi amaçlandı. Çalışmada Ereğli ve Çevresinde 5 çiftlikten (en az 20 sağmal inek bulunan) 350 sağmal inek subklinik mastitis yönünden CMT ile tarandı. 146 adet süt numunesi CMT pozitif bulundu. Bu süt örneklerinde somatik hücre sayısı belirlendi. İzole edilen streptokokların tür düzeyinde identifikasyonu ve antibiyogramı konvansiyonel yöntemlere göre yapıldı. İzolatların serotipleri belirlendi.

Sekiz adet *Str. dysgalactiae*, 3 adet *Str. uberis* ve 9 adet *Str. feacalis* (*Enterococcus fecalis*) izole ve identifiye edildi. En baskın serotip Dgroup idi. İzolatların %60'ı enrofloksasin, %75 danofloksasin, %35 vankomisin, %15 pencilin G, %35 amoksisilin, %10 gentamisin, %20 eritromisin'e duyarlı bulundu. Neomisin ve spiramisine dirençlilik %100 idi.

Anahtar Sözcükler: İnek, Mastitis, Meme, *Streptococcus*.

SUMMARY
REPUBLIC of TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

**Determination of prevalence and antibiotic susceptibilities of Streptococci isolated
from mastitis of dairy cattle in Ereğli District**

Şirin BÜLBÜL ÖNAL
Department of Microbiology (VET)

MASTER THESIS / KONYA-2016

Determination of occurrence of bovine mastitis cases by sampling from Ereğli Region in which prevalence of Streptococcal mastitis and susceptibilities of the isolates to selected antibiotics were aimed by this study. A total of 350 cows from 5 number of dairy farms (containing 20 lactating cattle at least) located in Ereğli and its surroundings were sampled by subclinical mastitis using CMT. Number of positive mastitic milks by CMT were 146. SCC from these milk samples were also recorded. Isolation and identification of the streptococci were made by conventional methods. Serotypes of the isolates were also determined.

Eight, 3 and 9 numbers of isolates from *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis* and *Str. faecalis* (*Enterococcus faecalis*) were isolated and identified respectively in the study. The predominant serotype was group D. Sixty percent of the isolates were susceptible to enrofloxacin. Danofloxacin was found to be susceptible by 75% of the isolates. Vancomycin, penicillin G, amoxicillin, gentamicin and erythromycin were observed to be susceptible with the ratios of 35, 15, 35, 10 and 20%, respectively. However, all the isolates were resistant to neomycin and spiramycin.

Key words: cattle, mastitis, mammary gland, Streptococcus.

1.GİRİŞ

Gıda sanayisinin en önemli kollarından biri hayvancılıktır. Sağlıklı insan yaşamı için en önemli faktörlerinden biri süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Bu nedenle ilk defa 1957 yılında Atatürk Orman Çiftliği'nin Ankara ve İstanbul'da kurduğu tesislerde başlayan sanayide işleme tabi tutulmuş süt üretimi, 1980'li yıllarda yaşadığı durgunluğa rağmen, günümüzde sektörel düzeyde önemli gelişme göstermiştir (Önen ve Uzman 1999). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nun güncel verilerine göre Ülkemizde 2016'da ticari süt işletmelerince sadece Şubat ayında 749 597 ton inek sütü toplanmış ve geçmiş yıllara göre %7,4 oranında artış göstermiştir (TÜİK 2016).

Dünyadaki toplam süt üretiminin %83'ünü sığır sütü oluşturmaktadır. Üretim artışı, 2011 yılında önceki yıla göre %2,7 oranında gerçekleşmiş, 2012 yılında bir önceki yıla göre %2,1 artış gözlenmiştir. Sığır sütü 2011 yılında 612,7 milyon ton iken 2012 yılında 625,7 milyon tona ulaşmıştır (TÜİK 2014).

Türkiyede süt üretimi; hayvan varlığı ve süt üretimindeki artış ile birlikte yükselme eğilimi göstermektedir. 2013 yılında önceki yıl ile karşılaştırıldığında %4,7 oranında artmış 18 223 712 ton olmuştur. 1930 yılında çiğ sütün %38,24'ü sığırdan elde edilir iken 2013 yılında bu oran %91,4'e çıkmıştır (TÜİK 2014).

Konya 2013 yılında 772 785 ton süt üretimi ile birinci sırada yer almakta iken (T.Z.O.B 2013), 2015 yılı Kasım ayında 676 704 ton inek sütü toplanmıştır (TÜİK 2015).

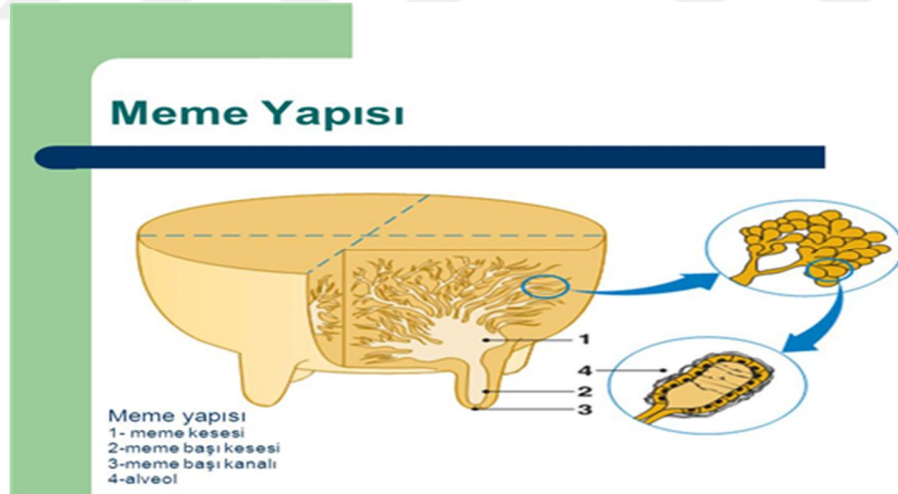
Türkiye'de hayvan varlığı niceliksel olarak pek çok A.B ülkesine göre daha fazladır. Türkiye; A.B sığır varlığının yüzde 12'sini barındıran Fransa ve Almanya'dan sonra 3, Dünya'da ise 27. sırada yer almaktadır (Onuncu Kalkınma Planı 2014). 12.02.2016 itibari ile alınan istatistiklere göre Türkiye'de bulunan toplam 2 889 467 işletmenin 104 415 adedi Konya'da bulunurken; 16 220 589 büyük baş hayvandan 938 649 adedi Konya'da yetiştirilmektedir (TÜRKVET 2016).

Mastitis dünyada olduğu gibi ülkemizde bulunan süt işletmelerinin en büyük sorunlarındandır. (Alnakip ve ark 2014). ABD'de mastitisten kaynaklı maddi zararın

yıllık 185 dolar/inek olmak üzere (Schroeder 1997) toplamda 2 milyar dolar (Sugimoto ve ark 2006); İngiltere’de maddi zararın yıllık 300 milyon sterlin olduğu tahmin edilmektedir (Hillerton ve Berry 2005). Türkiye’de mastitis kaynaklı yıllık maddi zararın 41.5 milyon YTL olduğu tahmin edilmektedir (Anonim 2007).

1.1 Memenin Yapısı Ve Çalışma Şekli

Memeli hayvanlarda ince tüylü deri ile kaplanmış dış salgı organı olarak bulunur. Süt inekleri yavrularının gereksiniminden fazla süt üretmelerinden dolayı memeleri daha fazla gelişmiş ve büyümüştür. İnek memesi dışarıdan bakıldığında dört bölüm olarak görünür ancak; sağ ve sol meme lobları orta olukla kesin olarak ayrılır iken ön ve arka meme lobları arasında kesin bir ayrım bulunmaz. Salgı dokusunu alveoller oluşturur. Süt meme içinde bulunan çok fazla sayıdaki alveoller tarafından salgılanmaktadır. Salgılanan bu süt ince kanallar yolu ile daha geniş kanallara geçerek meme sarnıcında birikir. Meme bezleri çok sayıda kan damarları ile damarlanmıştır ve sütteki birçok madde kandan alınır (Alaçam E. 1984). 1 lt süt üretimi için 500 lt kanın meme bezinden dolaşması gerekir.



Şekil 1: İnekte memenin anatomisi (Özer B. 2011).

1.2. Memenin Savunma Mekanizması

Ruminantlarda meme bezinin savunma sistemi karmaşık bir yapıya sahiptir (Outteridge ve Lee 1988). Mastitise direnç hem doğal direnç hem de kazanılmış bağışıklık ile sağlanır (Shkreta ve ark 2004).

1.2.1. Anatomik (mekanik) savunma mekanizması

Meme bezinde spesifik immun sistemin rolü olmadan oluşturulan savunma sistemidir. Yapılan çalışmalarda savunma hücresi yoğunluğunun, meme başı sinusundan fürstenberg rozetine doğru artış gösterir. Meme başı kanalıyla birleştiği bölgede en üst seviyeye ulaşır (Nickerson ve Pankey 1983).

Bu anatomik oluşumlar ;

- 1-Ductus Papillaris: Meme başı kanalıdır. Mikroorganizmalar meme bezine girebilmek için ductus papillaris geçmek zorundadır. Sağım sonrası 2 saat süresince meme başı kanalı kısmen açık kalır. Mastitis gelişimi açısından özellikle bu dönem kritiktir.
- 2-Meme başı keratini: Meme başı orifisyumu etrafında kassal bir yapıdır.
- 3- Meme başı sfinkteri bir diğer kassal yapı
- 4-Fürstenberg rozeti: Sağım ve buzağı emmesi dışında kalan zamanlarda sütün dışarı akışını engeller. Aynı zamanda dışarıdan memeye mikroorganizma girişini önler.
- 5-Son yapı olarak sağlıklı meme başı derisidir.

Meme başının anatomik unsurları veya doğal direnç yapısı ile ilişkili olarak aşağıdaki kimyasal unsurlar da doğal dirençte görev alırlar;

1-Laktoferrin: Demir bağlayıcı glikoprotein şeklindedir. Bakterilerin üremesi için önem teşkil eden demir elementinin kullanımını engeller.

2-Laktoperoksidaz-tiyosiyonat-H₂O₂ sistemi: Gram negatif bakteriler için bakterisit, gram pozitif bakteriler için bakteriyostatik etki gösterir.

3-Lizozim: Bakteri hücre duvarındaki N-asetil glukozamin ve muramik asit arasındaki bağlantıyı hidrolize ederek bakteriyi parçalar.

1.2.2. İmmunolojik savunma mekanizması

Konakçının meme içi enfeksiyona cevabı patojene ve suşa göre değişir (Bannerman 2008). Konakçının meme içi enfeksiyonu önlemesi kısmen nötrofillerin patojeni fagosite etmesi ve öldürmesine bağlıdır. Nötrofil etkisinden kaçabilen bir patojene ait suş kaçamayan suşa göre daha fazla enfeksiyon oluşturur. Farklı mastitis ajanları farklı yangısal ve immün cevap oluşmasına neden olmaktadır. Örneğin gram negatif bakteri mastitislerinde çok hızlı ancak kısa süreli nötrofil infiltrasyonu görülürken; *Staph.aureus* mastitislerinde meme bezlerinde düzenleyici T lenfositlerini de içeren farklı bir hücresel birikim olmaktadır (Chang ve ark 2005). İn vitro olarak, enterotoksinleri üreten *Staph.aureus* suşları bu toksinleri üretmeyenler kadar etkili yok edilemezler (Mullarky ve ark 2001). *Str. uberis* suşlarının klinik mastitis yapma yeteneği fagositoza direnç ve nötrofillerce öldürülmeye direnç ile ilişkilidir. Uluslar arası ve büyük sayılarda toplanan suşların analizleri hyaluronat sentetazı kodlayan ve kapsül oluşumuna katkıda bulunan hasA genine sahip suşların daha fazla klinik mastitise sebep olduğunu göstermiştir. Önceleri kapsülün *Str. uberis* 'in fagositoz ve nötrofilce öldürülmesine engel olduğu düşünülmeyle beraber artık kapsülün nötrofil bakterisidal etkisi ile doğrudan ilişkisinin olmadığı ispatlanmıştır. Dolayısıyla *Staph. aureus* ve *Str. uberis* türleri için suşa spesifik konakçı immün yanıtın oluşması gerekmektedir (Zadoks ve Watts 2009).

Humoral savunma sistemi: Antijenik uyarımlara karşı spesifik antikor aktivitesini içeren immunoglobulinler humoral savunma sistemini oluşturur. B hücrelerinden farklılaşan plazma hücreleri tarafından sentezlenen antikorlar görev alır. Ruminantların sütünde IgG1 IgA'ya oranla daha fazla bulunur. IgA bağırsaktan köken alan B hücrelerinden gelişir. Bu yüzden sütteki IgA bağırsak patojenlerine spesifiktir. IgG1 ise memede sentezlenmez kandan memeye taşınır. Memedeki antikor sentezi çok olmasına rağmen sütteki antikor düzeyi genelde düşüktür. Bunun nedeni antikorların süt ile birlikte sürekli dışarı atılmandandır. Bu yüzden lokal antikor yanıtı memeyi korumada yetersiz kalır (Diker 1998).

Hücresel savunma sistemi: İmmün sistem hücrelerinin çoğunu makrofaj, T ve B lenfositler oluşturur (Alnakip ve ark 2014). Lenfositlerin savunmada ki rolleri tam

anlamıyla anlaşılamamakla beraber makrofajlarında fagositoz ve öldürme yetenekleri azdır. Ancak lokal yangısal reaksiyonun başlatılması açısından önemlidir. Akut enfeksiyonlarda gelişen yangısal reaksiyon damar geçirgenliğinin artmasına ve nötrofillerin memeye göçüne neden olur (Diker 1998).

Lökositler : Bağışıklık sistemi içindeki uygun bir lökosit meme iltihabını çözmek için mikropları tanıyarak hücreleri korumayı amaçlar. Fagositoz özelliklerine ek olarak sitokinler, kemokinler ve antimikrobiyal protein ile peptidler gibi bileşenleri salgırlar. Lökositler hasarlı doku onarımına yardımcı olurlar.

Nötrofiller: Meme içi iltihabında doğal bağışıklık elemanları içerisinde ikinci sırayı polimorfonükleer hücreler oluşturur. Enfeksiyon bölgesine hızlı ve ilk gelen hücredir. Nötrofiller patojenik mikroorganizmaları fagosit ederek, sütle birlikte vücuttan uzaklaştırılırlar. Enfeksiyon sırasında nötrofil sayısı ve aktivitesi aşırı derecede artar. Sürekli sütle beraber atılmalarına rağmen sayıları hep yüksek kalır.

Makrofajlar; Meme dokusunaki kan monositlerinden farklılaşırlar. Laktasyon döneminin ve sağlıklı meme dokusunun baskın hücrelerini oluştururlar. Yabancı maddeleri ve bakterileri fagositoz ederek proteazlar ile yok ederler.

Lenfositler : Spesifite, bellek ve tolerans özellikleri ile immun sistemin gerçek hücreleridir. Lenfositler yabancı antijenleri tanıyan ve immun sistemi oluşturan hücrelerdir. T ve B lenfositler ile doğal katil hücreleri ayrı lenfosit alt gruplarıdır. Bir defa aktive edildiğinde lenfositler hem spesifik hem spesifik olmayan immun yanıt oluşturabilirler ve hızlı cevap oluşturmada en önemli faktör bellek T lenfositlerdir. T lenfositleri bakteriyel patojenlere karşı mukozal çevre için bariyer görevi yaparlar. Meme içi enfeksiyonu sırasında sütteki lenfosit sayısı ve kompozisyonunda ciddi değişiklikler kaydedilmiştir (Alnakip 2014). Sağlıklı meme bezlerinde bile lenfosit popülasyonlarının kompozisyonları laktasyon döngüsü esnasında değişiklik gösterir. Bu yüzden meme bezi bağışıklığında lenfositlerin rolü tam olarak anlaşılamamıştır. B lenfositlerin temel görevi ise patojenlere karşı antikor üretmektir. B lenfositleri patojenleri tanımak için kendi yüzey reseptörlerinden faydalanırlar. B lenfositlerin oranı laktasyon yada enfeksiyon dönemlerine bakılmaksızın çok değişkenlik göstermemektedir (Alnakip 2014).

1.3. Mastitise Duyarlılık Oluşturan Faktörler

1.3.1. İneğe ait faktörler

Yaş ve Laktasyon Durumu: Yaş ilerlemesi ile doğal bağışıklığın düşmesi ve ductus papillarisin koruyuculuğunun azalması mastitis riskini artırır.

Sağım Özelliği ve Sağım Sayısı: Sağımlar arası süre arttıkça mastitis riski artar. Mastitisin günde 3 sağım yapılan hayvanlarda görülme olasılığı daha azdır. Mastitis doğum öncesi 1 aylık dönemde, doğum sonrası 2 aylık dönemde ve kuruya alınan 2-3 haftalık süreçte daha fazla görülür.

Süt Verimi: Süt verimi yüksek olanlarda görülme olasılığı daha fazladır.

İrk: Mastitise predispozisyon yönünden ırklara göre farklılık gösterir.

Meme yapısı: Memenin büyük ve sarkık olması riski artırır.

Meme ve Meme başı Yaraları: Portantre işlevi görür. Bütünlüğü bozulmuş ve yangılanmış dokular memeyi mastitise predispoze eder.

1.3.2. Çevresel faktörler

Hava koşulları ve Mevsimin Etkisi: Havalarda yağışlı olması mikroorganizmaların üremesine ortam hazırlar.

Ahır ve Barınak Koşulları : Özellikle barındaki altlıklar ciddi tehlike oluşturur.

Beslenmenin Etkisi: Kuru dönemde Selenyum, E vitamini ve Çinko takviyesinin mastitisi önleyici etkisi vardır. Ayrıca süt üretimini yükseltmek için protein ağırlıklı besleme programı mastitis riskini artırır (Botss ve ark 1979).

1.4. Mastitis

Mastitis'in M.Ö. 9000 tarihinden bu günümüze kadar geçen süre içerisinde; süt işletmelerinde önemli ekonomik zararlara sebep olan ciddi meme hastalığı olduğu bildirilmiştir (Kesenkaş 1999).

Mastitis (memenin yangısı), meme bezlerinin enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan irritasyonlara karşı göstermiş olduğu tepkidir. Bunların arasında en önemlisi mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyöz kaynaklı mastitislerdir. Enfeksiyöz olmayan yangılar ise genellikle fiziksel travmalar sonucu ortaya çıkmaktadır. Mastitisin toplam sığır hastalıklarının % 26 'sını oluşturduğu tahmin edilmektedir (De Graves ve Fetrow 1993). Ekonomik kaybın % 70-80 'ini subklinik mastitisler, % 20-30 'unu ise klinik mastitisler oluşturmaktadır (Vestweber 1993, Miller ve ark 1993).

Mastitis sıklığı ülkeler arasında farklılık arz etmektedir.

Hollanda'da 38 süt üretim çiftliğinde yapılan araştırmada süt sığırlarının %32'sinin mastitisli olduğu tespit edilmiştir (Rougoor ve ark 1999).

Fransa ülkesinde bulunan süt üretim işletmelerinde yapılan çalışmada sığırların %29'unda mastitis tespit edilmiştir (Longo ve ark 2001).

Çek Cumhuriyetinde yapılan araştırmada süt işletmelerinde mastitis görülme insidensi %35 oranında tespit edilmiştir. Meydana gelen mastitis hastalığı laktasyonun ilk 10 günü ile 3. ay sonrasında daha sık görüldüğü ifade edilmiştir (Wolfova ve ark 2006).

Türkiyede; 1982 tarihinde Ankara'da %35,7; Adana'da %53,1; Kayseri'de %24,3; Eskişehir'de %15 ve Konya'da ise %5 oranında mastitisli inek tespit edilmiştir. (Öncel 1984).

Başka bir çalışmada ise Konya'da mastitis oranının %36,7 olduğu kaydedilmiştir (Ateş ve ark 1991).

Elazığ ve köylerinde CMT uygulamasıyla 1249 adet sığır üzerinde yapılan kontrolde mastitis varlığı %60,53 olarak tespit edilmiştir. Bu oranın %55,17'sinin subklinik, %5,36'sının da klinik mastitis olduğu belirtilmiştir (Rışvanlı ve Kalkan 2001).

Sabuncuoğlu ve ark (2003), Atatürk Üniversitesi sığırcılık ünitesinde mastitis seviyesinin %40 olduğunu bildirmişlerdir.

Mutluer (2001), Ülkede ki sağmal ineklerin %30'unda mastitis bulunduğunu bildirmiştir.

1.4.1. Mastitis Etiyoloji ve Epidemiyolojisi

Bakteriler, viruslar, mantarlar, mayalar, parazitler ve irritasyona neden olan organik/inorganik kimyasal maddeler mastitis sebepleri olarak bildirilmiştir. Bu etkenlerin en önemlisi bakterilerdir (Unerstad ve ark 2009, Alnakip ve ark 2014). Bakteriyel etkenlerin %95'inden fazlasını *Staph.aureus*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis* ve *Escherichia coli* (*E. coli*) oluştursa da 130'dan fazla mikroorganizmanın mastitis oluşturduğu bildirilmiştir (Hillerton 2005, Arslan ve ark 2009, Zadoks ve Fitzpatrick 2009). Bunlardan *Str. agalactiae* oldukça bulaşıcı olup çoğunlukla subklinik mastitise sebep olur. Sürülerde genel olarak %11-47 oranları arasında değişen prevalansa sahiptir (Radostits ve ark 2000). *Str. uberis* ve *Str. dysgalactiae* mastitisli inek sütlerinden sıklıkla izole edilen etkenlerdendir. Her 2 etken de gerek çevrede ve gerekse meme başı deri florasında bulunan ve tüm dünyada ineklerde subklinik veya klinik mastitise sebep olan streptokok türleridir. Bunlardan *Str. uberis* kuru dönem mastitis etkeni olarak dikkat çekmekte ve ilk laktasyonda görülen meme bezi yangılarının önemli bir etkeni olarak bildirilmektedir (Radostits ve ark 2000).

Mastitis etkenlerinin hastalık oluşturma yeteneği etkenin virulansına, sayısına, meme ve hayvanın direncine, mastitis etmenlerinin enfeksiyon oluşturmalarına zemin hazırlayacak faktörlerin bulunmasına bağlıdır (Guidry 1985, Anand ve ark 2012). Memelerde meydana gelen anatomik bozukluklar ve travmalar mastitis enfeksiyonunun yerleşimini ve oluşumunu hızlandırmaktadır (Blowey ve Edmondson 1995).

Mastitis etkeni olarak sıklıkla izole edilen bakteri türleri çizelge 1’de bulaşma şekilleri ile birlikte verilmiştir. Türkiye’de mastitislerin %95’ini *Staphylococcus aureus*, *Str. agalactiae* ve *Mycoplasma* gibi bulaşıcı mastitis etkenleri ile *E. coli*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis* gibi çevresel mastitis etkenleri meydana getirmektedir (Hadimli 2000, Baştan 2010, Acar ve ark 2012). Diğer taraftan klinik mastitislerde kültür negatiflik oranında bir artış yaşanmaktadır (Bradley ve ark 2007). Türkiye’de yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre kültür negatiflik %0-75 arasındadır (Dinç ve ark 1991, Alaçam ve ark 1994, Macun ve ark 2011).

Çizelge1: Süt ineklerinde majör mastitis patojenleri (Bramley ve ark 1996).

Bakteri	Mastitis Tipi	Primer Kaynak	Yayılma Şekli
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bulaşıcı	Enfekte olmuş meme	Sağım esnasında memeden memeye veya inekten ineğe
<i>Str. agalactiae</i>	Bulaşıcı	Enfekte olmuş meme	Sağım esnasında memeden memeye veya inekten ineğe
<i>Mycoplasma bovis</i>	Bulaşıcı	Enfekte olmuş meme	Sağım esnasında memeden memeye veya inekten ineğe
Koliformlar (<i>E.coli</i> toprak, <i>Klebsiella</i> spp, <i>Enterobacter</i> spp)	Çevresel	Altılık, su, dışkı, toprak	Çevreden ineğe
Çevresel Streptokoklar; <i>Str. uberis</i> , <i>Str. dysgalactiae</i>)	Çevresel	Altılık , dışkı	Çevreden ineğe

Mastitis enfeksiyonunun şekillenebilmesi için, mikroorganizmaların meme kanalına girerek, enfeksiyonu başlatması ve yangısal reaksiyon oluşturmaları gerekir (Vehmas ve Sandholm 1995, Akan 2006). Meme içi enfeksiyonun şekillenmesi için;

1-Kontaminasyon: Bakteri ile konağın karşılaşması,

2-Kolonizasyon: Konak dokusunda bakterinin çoğalması,

3-İstila (İnvazyon): Çoğalan bakterinin içeri girmesi,

4-Enfeksiyon:

5-Yangı aşamaları tamamlanmalıdır (International Dairy Federation 2003, Oviedo Boyso ve ark 2007).

1.4.2. Mastitis Çeşitleri

1.4.2.1.Klinik Mastitis: Hayvanda gözle görülebilen klinik semptomlara neden olur. Memede şişlik, kızarıklık, sütte bozulma, ateş, iştahsızlık gibi belirtiler gözlenmektedir. 4 farklı klinik form vardır.

Perakut Mastitis: Meme lobunda şişkinlik, kızarıklık, yem tüketiminde durma, titreme, nabız artışı gibi sistemik belirtiler ile aniden başlar. Memeden önce irinli akıntı sonrasında kanlı akıntı gelir. En kısa zamanda tedavi edilmezse ölüm ile sonuçlanır (Baştan 2007).

Akut Mastitis: Sütte pıhtılaşma, memede ağrı ve şişlik ile başlar. Hayvan sağım yaptırmak istemez ve memeden iltihaplı süt salgılanır (Baştan 2007).

Subakut Mastitis: Sistemik belirtiler gözlenmezken süttün pıhtılı olması en önemli özelliğidir (Baştan 2007).

Kronik Mastitis: Uzun zaman önce başlamış ve tedavi edilmeyen klinik/subklinik formların devamı şeklinde gözlenebilir. Sistemik belirtiler gözlenmez. Memede kızarıklık ve ödem şekillenebildiği gibi subklinik formda da seyredebilir. Tedavi edilmezse memeler körleşip süt salgısı durabilir (Baştan 2007).

1.4.2.2. Subklinik Mastitis: Memede yangı olmasına rağmen hiçbir belirti gözlenmez. Zamanla süt verimini ve kalitesini düşüren subklinik formu karşılaşılan en yaygın mastitis formudur. Subklinik mastitisin sahada tanısı screening testleri (sütte somatik hücre sayımı, CMT testi veya sütün elektriksel geçirgenliğinin ölçülmesi gibi) ile veya doğrudan tanı metodu olarak memeden alınan süt örneğinden yapılacak mikrobiyolojik analizlerle sağlanır (Harmon RJ 1994).

1.4.3. Subklinik Mastitisin Ön Tanısı

Somatik Hücre Sayısının Belirlenmesi

SHS işletmenin bakım-yönetim uygulamaları, meme sağlığı ve sütün hijyenik kalitesinin önemli bir göstergesidir (Barkema et al 1999, Harmon 2001, Göncü ve Özkütük 2002, Eydurur 2002). Somatik hücreler; nötrofiller, makrofajlar, lenfositler, eozinofiller ve meme dokusunun çeşitli epitel hücrelerinden oluşmaktadır (Yeruham ve ark 2000, Harmon 2001). Sütteki SHS'nin 300 000 hücre/ml üzerinde olması anormal olarak kabul edilmekte ve memede olası bir yangının göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Meme dokusundaki irkiltinin başlamasından sonraki 3 saat içerisinde kandan memeye polimorf çekirdekli lökosit geçişinin başladığı ve 24 saat sonra 500 000 hücre/ml'ye ulaştığı bildirilmektedir. Bu sebeple SHS'nin belirlenmesi subklinik mastitislerin teşhisi için en çabuk ve etkili bir yöntem olduğu kabul edilmektedir (Alaçam E 1988).

Standart Analiz Yöntemi: Basit, ucuz, hızlı ve kolay olmasından dolayı tercih edilen mikroskopik sayım yöntemidir. Çekirdeği metilen mavisi ile belirgin şekilde boyanabilen lökositler ve epitel hücreler gibi somatik hücrelerin mikroskopik sayım işlemidir. Bu yöntemde 0.01 ml çiğ süt örneğinde boyama sonrasında mikroskopik sayım yapılır, elde edilen sayım sonucundan formül yardımı ile 1 ml çiğ sütteki somatik hücre sayısı hesaplanır.

California Mastitis Testi (CMT): Sütte ki somatik hücre sayısının (SHS) basit bir göstergesidir. Subklinik mastitislerin teşhis edilmesinde pratik bir yöntem olan CMT;

sütteki ph değişimi ve SHS’de meydana gelen değişimi yaklaşık olarak tahmin etmeyi sağlayan görsel bir test tekniğidir (Philpot ve Nickerson 1991). Bromkrezol-mor içeren bir reaktif kullanılır. Bu reaktif somatik hücrelerin DNA yapısını ve hücre zarlarını bozarak viskoziteyi arttırarak jelimsi bir görüntü oluşturur. Hemen sonuç alınması, saha şartlarında ve bakıcı tarafından uygulanabilmesi avantaj sağlar.

Fossomatic Method: Etidyum bromürün DNA'ya nüfuz ederek optik florasana sinyal oluşturması prensibine dayanan bir cihazdır. Doğrudan sağım makinasına bağlanabilen basit sistemler olduğu gibi, somatik hücre sayımı analizinde kullanılan ticari cihazlarda mevcuttur.

Sütün Elektriksel İletkenliği

Mastitislerde meme dokusundaki geçirgenliğin artmasına bağlı olarak sütün iyonik bileşiminin değiştiği ve bazı mineral maddelerin düzeylerinin düştüğü ve bunların yanı sıra Na ve Cl içeriğinin arttığı, bunun sonucu sütün elektriksel iletkenliğinin yükseldiği uzun zaman önce ortaya konmuştu (Atroshi ve ark 1996). Bu değişimler dikkate alınarak sütün elektriksel iletkenliğinin saptanması ile subklinik mastitisler tanınabilir (Hilerton ve Walton 1991). Enfekte olmayan sütlerde elektriksel geçirgenliğin 5,4 ila 5,6 mili siemens iken mastitisli sütlerde bu rakamın 7,1 ila 7,5 mili siemens arasında değiştiği bildirilmiştir (Torgerson ve ark 1992).

Sütten-Asetil B-D Glukozaminidaz (Nag Ase) Enzim Aktivitesinin Tayini

Subklinik mastitis teşhisinde biyokimyasal testlerden N-asetil β -D-Glukozaminidaz (NAG ase) enziminin de tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır (Kaneko 1989). Çünkü bu enzim aktivitesi, lökosit anomalileri ve metabolik bozuklukların olduğu durumlarda önemli ölçüde artar (Erganiş ve ark 1992).

pH Testi

Mastitisli sütte pH yükselir. Bromotimol kullanılarak süt pH ölçülür.

Kültür Testi

Mastitise neden olan mikroorganizmaların tanısı bakteriyolojik muayenelerle laboratuvar ortamında yapılmaktadır (Kuyucuoğlu ve Uçar 2001). Etkenlerin izolasyon ve identifikasyonun yapılarak duyarlı antibiyotik seçiminin yapılabilmesi etkili tedavi edilebilmesini önemli ölçüde etkilemektedir.

1.4.4. Mastitisin Ekonomik Açıdan Önemi

Mastitis hastalığı süt işletmelerin en yüksek maddi kayıplara sebep olan hastalıkların başında yer almaktadır. Süt işletmelerinin ekonomik kayıplarının yanı sıra inek sağlığının olumsuz etkilenmesinden dolayı sütün kalitesini ve miktarının düşmesine neden olmaktadır. İşletmelerde klinik mastitise bağlı kayıplar; tedavi masraflarının artması, mastitisin başlamasından tedavi sonuna kadar sütün kullanılamaması, süt üretim miktarında azalma, hayvanın sürüden çıkarılması ile iş gücünün artması ve diğer indirekt kayıplar olarak sıralanabilir (Taponen ve Myllys 1995). Ancak mastitisin subklinik formu ekonomik açıdan daha önemlidir. Maddi kaybın %70-80'i subklinik mastitislerden kaynaklandığı açıklanmıştır (Miller ve ark 1993).

1.4.5. Mastitisin Halk Sağlığı Yönünden Önemi

Mastitisli sütte somatik hücre sayısı artmıştır ve SHS'nin 300 000 hücre/ml üzerinde olması süt kalitesinin bozulduğunun ve halk sağlığı açısından tüketime uygun olmadığını göstergesidir (Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği 2000).

Mastitis ve sağlık arasındaki ilişkide diğer önemli bir nokta da mastitis tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin sütte kalıntı bırakmasıdır. Sütteki bu antibiyotik kalıntıları sütün kalitesini etkilemektedir. Ayrıca bu kalıntılar insanlarda alerjik reaksiyonlara ve antibiyotiklere dirençli suşların gelişimine yol açmaktadır.

1.5. Streptokoklar

Streptokoklar insan, hayvan ve bitki olmak üzere çok çeşitli konakçıya sahiptir. 1884 yılında Rosenbach tarafından bu cins ilk olarak tanımlanmış, 1975 yılında Wilson ve Miles, 1978 yılında ise de Jones tarafından bildirimler yapılmıştır. Streptokokların

sınıflandırma çalışmalarında en önemli gelişmeler; 1906 yılında Andrewers-Horder, 1919 tarihinde Orla-Jensen, 1930 tarihinde Lancefield ve 1937 tarihinde ise Sherman tarafından ortaya konmuştur (Sherman 1937, Khan 2002). Brown 1919 tarihinde, kanlı agardaki aktivitelere göre streptokokları beta (β), alfa (α) ve gama (γ) hemolitik diye ayırmıştır.

1.5.1. Genel Özellikleri

Streptokoklar yuvarlak veya oval şeklinde, uzun ve kısa zincirler yaparak üreyen, sporsuz, hareketsiz, gram pozitif kok çiftler halinde bulunan ya da özellikle sıvı ortamda üretildiklerinde zincir oluşturmaya eğilimli mikroorganizmalardır. Streptokoklar kan, beyin veya kalp infüzyon, serum veya glukozla zenginleştirilmiş ortamlarda daha iyi ürerler. 24 saatten eski kültürlerden hazırlanan preparatlarda gram negatif boyanabilirler. Birçok türde kapsül bulunur. Fakültatif anaerobiktir. Katı kültürlerde 1 mm çapında şeffaf, parlak ve S tipi koloni oluştururlar ve sıvı besiyerlerinde ise dipte tortu oluşturarak ürerler. Katalaz ve oksidaz negatiftir. Eskülin Hidrolizi, türlere göre değişkenlik gösterir. Üreaz negatiftir. Üremeleri için 25-45 °C ye ihtiyaç duyarlar. Genellikle eritrositleri etkileyerek tam veya kısmi hemoliz oluştururlar. Hemoliz alanları türden türe değişiklik gösterir.

1.5.2. Streptokokların sınıflandırılması

Kanlı agar plak kültürlerinde hemoliz, biyokimyasal özellikler ve immünolojik karakterlerine göre sınıflandırılırlar. Kriterlere göre 3 tip sınıflandırma bulunur.

Brown Tarafından Hemoliz Özelliklerine Göre Yapılan Sınıflandırma

β -hemoliz oluşturanlar: Kolonileri çevreleyen eritrositlerin tamamen erimeleri sonucu belirgin ve şeffaf bir hemoliz zonu oluştururlar. Bu türler arasında *S.equi*, *S.agalactiae* ve *S.pyogenes* sayılabilir.

α -hemoliz oluşturanlar: Kolonileri çevreleyen eritrositlerin kısmi hemolizi sonucu yeşilimsi bir renk meydana getirirler. *S.dysgalactiae*, *Str. uberis* ve *S.bovis* örnek verilebilir.

Hemoliz oluşturmayanlar (γ): Besiyerindeki eritrositleri eritmezler. *Enterococcus faecalis* örnek verilebilir.

Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırma

1930 yılında Lancefield tarafından yapılmıştır. Streptokokların hücre duvarında bulunan polisakkarit yapıdaki grup spesifik C-maddesi temel alınarak yapılan ve presipitasyon esasına dayanan sınıflandırmadır.

Sherman Sınıflandırılması

Sherman tarafından biyokimyasal yapılarına, üreme özelliğine, hemoliz özelliğine ve antijenik yapılarına göre; Piyojen, Viridans, Laktik, Enterokok şeklinde sınıflandırılır.

1.5.3. Streptokok Mastitislerin Epidemiyolojisi

Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, Streptokok türleri içinde *Str. agalactiae* dışındaki diğer Streptokok türlerinin primer çevresel patojenler arasında olduğu belirlenmiştir. Çevresel mastitislere neden olan *Streptococcus*. spp. üyeleri içinde birinci sırada *Str. uberis* türünün olduğu ikinci sırada *Str. dysgalactiae* 'nin geldiği bildirilmiştir. Bu mikroorganizmalar hayvanların bulunduğu her alanda özellikle dışkı, barınak, rumen ve memede bulunduğundan mastitis için önem arz eder. Kuru dönem tedavisine dikkat edilerek enfeksiyon riski azaltılabilir.

S. agalactiae tipik bir bulaşıcı mastitis patojenidir. En önemli bulaşma kaynağı bu etkenle enfekte meme veya memelerdir (Uçan ve Erganiş 2005, Baştan 2010). Lancefield gruplandırmasında B grubundadır. CAMP testi pozitifdir. Kanlı agarda β hemolitik koloniler oluşturur. Çoğunlukla subklinik enfeksiyonlara neden olur ve bakıcılar tarafından fark edilemez. *Str. agalactiae* hızlı yayılım gösterip ani süt düşmelerine neden olmasından dolayı etkenin hızlı izolasyon ve identifikasyon yapılması süt işletmeleri için önem arz eder. Mastitis önleme programının uygulandığı batı Avrupa'da bir çok ülkede bu bakteriden kaynaklanan mastitisler görülmemektedir (Barkema ve ark 2006).

Str. dysgalactiae 'nın yol açtığı mastitislerde klinik semptomlar diğer streptokokların neden olduğu meme içi enfeksiyonlara oranla daha ciddi olabilmektedir (Baştan 2010). Mastitis şekli *Str. agalactiae* ile benzerlik göstermektedir. α -hemoliz yapar.

Str. uberis 'in oluşturduğu mastitislerde ise kronik, hafif seyirli, sütte hafif değişikliklere neden olan klinik enfeksiyon şekli gözlenmektedir (Akan 2006). α hemoliz yapar. *Str. uberis* çoğunlukla doğuma yakın dönemde meme içi enfeksiyona neden olmakta ve doğumdan sonra oranı giderek azalmaktadır (Aarestrup ve Jensen 1997).

1.5.4 Dünyada Streptokok Mastitisleri *Str. agalactiae* Belçika, Danimarka, Norveç ve İngiltere gibi bazı Avrupa ülkelerinde artık sadece sporadik vakalar olarak görülmektedir (Osteras ve ark 2006, Bradley ve ark 2007, Piepers ve ark 2007). Diğer bölge ve ülkelerde ise halen oldukça yaygındır. Örneğin New York'da %10 (Wilson ve ark 1997); Uruguay'da %11 (Giannechini ve ark 2002); Brezilya'da %60 (Duarte ve ark 2004); Almanya'da %29 (Tenhagen ve ark 2006) pozitifdir.

Lee ve Frost (1970), 683 meme lobundan alınan süt örneklerinin %15,4'ünden *Str. agalactiae* , %10'undan *Str. uberis* ve % 11'inden diğer streptokokları izole etmişlerdir.

Osteras ve ark (2006) süt ineklerinden *Str. dysgalactiae* %1,2 ve *Str. uberis* %0,04 izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Ebrahimi ve ark (2008) mastitisli süt ineklerinden izole ettikleri 42 adet streptokok izolatının *Str. dysgalactiae* %35, *Str. agalactiae* %26, *Str. uberis* %18 olarak tanımlanmışlardır.

Unnerstad ve ark (2009) *Str. dysgalactiae* oranını %15,6, *Str.uberis* oranını %11,1 bulmuşlar, *Str.agalactiae* etkenini izole edememişlerdir.

1.5.5. Türkiye'de Streptokok mastitisleri

Birçok araştırmacı farklı bölgelerde farklı oranlarda bakteri izolasyonu gerçekleştirmişlerdir.

Alibaşoglu ve ark (1969) köylerde ve devlet kurumlarında ki ineklerde yaptıkları çalışmada *Str. pyogenes* %7,8, *Str. agalactiae* %2,2, *Str. uberis* %2, *Str. dysgalactiae* %0,5 izole etmiş, ayrıca % 10.8 oranında karışık enfeksiyonlara rastlamışlardır.

Aydın ve ark (1995) *Str. epidermidis* %19,23, *Str. agalactiae* %0,25, *Str. dysgalactiae* %8,97, *Str. uberis* %7,69 ve diğer bakterileri değişik oranlarda izole etmişlerdir.

Dakman (2000) yaptığı çalışmada, %12,8 oranında *Streptococcus* spp. izolasyonu gerçekleştirmiş ve %4,5 oranında *Str. agalactiae* etkeni izole etmiştir.

Öncel ve ark (2001) yılında 25 adet süt numunesinin 4 tanesinden *Streptococcus* spp. 6 tanesinden ise *Streptococcus* spp. ile beraber *Staphylococcus* spp. izole etmişlerdir.

Hatay ilinde yapılan çalışmada 262 adet süt örneğinin 26'sı (%11,2) *Str. uberis* , 15'i (%6,5) *Str. agalactiae* , 8'i (%3,5) *Str. dysgalactiae* olarak tespit edilmiştir (Ergün ve ark 2004).

Elazığ'da 206 süt örneğinden %6,16 *Str. agalactiae* , %4,11 *Str. uberis* , %3,42 *Str. dysgalactiae* izole edilmiştir (Gülcü ve Ertaş 2002).

Tel ve ark (2009) Urfa yöresinde yaptıkları mastitis taramasında %8,9 oranında *Streptococcus* spp.izolasyonu gerçekleştirmişlerdir.

Şanlıurfa da yapılan başka bir çalışmada 332 adet süt örneğinin 23 (%8,9) adeti *Streptococcus* spp. olarak izole edilmiştir (Keskin ve ark 2009).

Hadimli ve ark (2013) tarafından yapılan çalışmada 104 adet KNGP kok izole edilmiştir. 13'ü *Str. agalactiae* (%12,50) ve 11'i *Str. uberis* (%10,57) olarak identifiye edilmiştir.

Ereğli ilçesi 226.000 ha alana sahip olup, Konya İlinin %5,54'ünü oluşturmaktadır. İlçe toplam kullanım alanının %58,13'ü tarım arazilerine, %34'ü çayır-meralara ayrılmıştır. İlçe tarım arazileri Konya tarım arazilerinin %5,84'ünü oluştururken, çayır-meralar Konya ili çayır mera alanının %10,09'unu oluşturmaktadır. İlçe süt üretimi bakımından Konya ili genelinin %13,72'sini karşılamaktadır. Ereğli ilçesinde 2013 yılı itibarıyla 90 823 adet büyükbaş hayvan mevcuttur. İlçede bulunan büyük baş hayvan sayısının 89 606 adeti saf kültür ırkı ve 1 158 adedi yerli ırktır. (Anonim 2014).

Süt sığırcılığının sorunlarının başında gelen mastitis yöre hayvancılığı için de önemli bir problemdir. Bu çalışma ile streptokok etiyoloji mastitislerin sağmal ineklerdeki sıklığı belirlenecek, ayrıca söz konusu etkenlerin duyarlı olduğu antibiyotikler tespit edilecektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. İşletmeler ve Hayvan Materyali

Araştırmada Konya'nın Ereğli ilçesinde rastgele seçilen en az 20 başlık 5 adet süt sığır işletmesi farklı zamanlarda ziyaret edildi. İşletmeler CMT ile taranarak sublinik mastitis tespit edilen 74 adet Holstein inekten asepsi ve antisepsiye uygun olarak alınan ve soğuk şartlarda SÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD'na getirilen toplam 146 adet süt örneği konvansiyonel metotlarla streptokoklar yönünden incelendi. Örneklerin toplandığı işletmeler çizelge 2 'de verildi.

2.1.2. İzolasyon ve identifikasyonda kullanılan besiyerlerinin hazırlanması

Koyun Kanlı Agar

Blood Agar Base	40 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi ve 50 -45 °C 'ye soğutulduktan sonra %7 oranında defibrine koyun kanı ilave edildi.

Edward's Medium Agar

Edward's Medium Base	41 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 115 °C'de 20 dk sterilize edildi ve 45-50 °C 'ye soğutulduktan sonra %7 oranında defibrine koyun kanı ilave edildi.

Mac Conkey Agar

Mac Conkey agar (Merck)	50 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dk sterilize edildi.

Mueller Hinton Agar

Mueller Hinton Base	38 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dk sterilize edildi.

Bile Aesculin Azid Agar

Bile Aesculin agar (Merck)	54,65 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dk sterilize edildi.

B.A.G.G. Broth Base (Buffered Azide Glucose Glycerol Broth.Base)

Tryptose	20 000 gr
Dipotassium phosphate	4 000 gr
Sodium chloride	5000 gr
Brome cresol purple	0,015
Glycerol	5 ml
Dextrose	5 000 gr
Monopotassium phosphate	1,5 gr
Sodium azide	0,5 gr
Distille su	200 ml

Besiyeri otoklavda 115 °C’de 15 dk sterilize edildi.

%6.5 luk NaCl Buyyon (Ulusal Mikrobiyoloji Standartlarına Göre)

Brain Heart buyyonu	2,5 g
---------------------	-------

İndikatör (%1.6'lık bromkrezol moru)	0.1 mL
Distile/deiyyonize su	100 ml
Sodyum klorür	6 gr
Glikoz	0,5

Burgu kapaklı tüplere 5 mL halinde dağıtılıp otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi.

Todd-Hewith Broth

Todd-Hewith Broth	36,4 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavda 115 °C'de 15 dk sterilize edildi.

Sodyum Hippurat

Sodyum Hippurat	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu ve -20 °C'ye kaldırıldı (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları).

Rafinoz

Pepton	5 gr
Bromcresol purple	0,001 gr
Rafinoz	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

Salisin

Pepton	5 gr
Bromcresol purple	0,001 gr
Salisin	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

Trehaloz

Pepton	5 gr
Bromcresol purple	0,001 gr
Trehaloz	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

Sorbitol

Pepton	5 gr
Bromcresol purple	0,001 gr
Sorbitol	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

Mannitol

Pepton	5 gr
--------	------

Bromcresol purple	0,001 gr
Mannitol	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

Laktoz

Pepton	5 gr
Bromcresol purple	0,001 gr
Laktoz	1 gr
Distile su	1000 ml

Çözündürüldükten sonra 0,2 mikron filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Steril tüplere 4'er ml konuldu (Cruickshank et. al 1975).

2.1.3. İzolasyon ve İdentifikasyonda Kullanılan Boyalar

Gram'ın Kristal Violet Boyası

Kristal viyole (Merck)	2 gr
Amonyum oksalat (Merck)	0,8 gr
Etil alkol (% 95'lik)(Merck)	20 ml
Distile su	80 ml

Etil alkol içinde kristal violet çözüldü, distile suda amonyum oksalat çözülerek alkolde çözülmüş olan kristal violet ile karıştırıldı. Gram boyama işleminde kullanıldı.

Gram'ın Lugol Çözeltisi

Iyot (Merck)	1 gr
Potasyum iyodür (Merck)	2 gr

Distile su 300 ml

İyot ve potasyum iyodür ezilip azar azar distile su eklenerek karıştırıldı. gram boyama işleminde kullanıldı.

Gram'ın Safranin Boyası

Safranin (Merck) 0,25 gr

Etil Alkol (%95'lik)(Merck) 10 ml

Distile su 1000 ml

Safranin etanolde çözüldükten sonra distile su ilave edilerek iyice karıştırıldı. Daha sonra filtre kağıdından süzülerek gram boyama işleminde kullanıldı.

Somatik Hücre Sayım Boyasının Hazırlanışı

Metilen mavisi 0,6 gr

% 96 'lık etil alkol 54 ml

1,1,1 trichloroethane 40 ml

Glasial asetik asit 6 ml.

Ağzı kapaklı bir şişede alkol ile trichloroethane karıştırıldı. 65 °C'ye kadar su banyosunda ısıtıldıktan sonra metilen mavisi eklenerek karıştırıldı ve buzdolabı sıcaklığına kadar soğutulup 12-24 saat bu sıcaklıkta bekletildi. Daha sonra asetik asit eklenilip filtre kağıdından süzülerek ağzı kapaklı şişede saklandı.

İndikatör (%1.6'lık Bromkrezol moru)

Brom krezol moru 1,6 gr

Etanol %95'lik 100 ml

Etik Kurul Onayı: Bu proje, SÜ Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü (Proje No: 13202019) tarafından desteklenmiş olup "Ereğli ve çevresindeki ineklerde mastitislerden izole edilen streptokokların prevalansı ve etkenlerin antibiyotik

duyarlılıkları" isimli araştırma projesi 20.03.2013 Tarih ve 2013/018 sayılı karar ile SÜ Veteriner Fakültesi Etik Kurulu (SÜVFEK) 'ndan onay alınmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Süt numunelerinin toplanması

İşletmelerde bulunan laktasyonun farklı evrelerindeki değişik yaşlarda ki 350 adet süt sığırı CMT ile tarandı. Bu amaçla her bir meme lobu %70 'lik alkollü bez ile silinip ilk süt damlaları sağılıp atıldı. CMT testi alınan süt örneklerinde yapıldı. Bu amaçla toplam 1400 adet süt numunesine farklı zamanlarda CMT testi uygulandı. CMT kabına her bir hayvanın dört memesinden alınan sütler konularak fazlası döküldü. Üzerlerine her birine eşit miktarda CMT ayracı damlatılarak oluşan jelleşmeye göre CMT testi derecelendirildi. CMT pozitif olan memelerden 10'ar ml sütler steril tüplere alındı ve üzerlerine hayvanın kulak numarası ve hangi meme lobundan alındığı not edildi. CMT pozitif olan hayvanların yaşı, ırkı, kaçınıcı laktasyonu olduğu, süt verimi, meme lobu, kaç yıldır işletmede bulunduğu, daha önce mastit geçirip geçirmediği (kaç kez), mastit aşısı uygulaması (ticari/otojen) gibi bilgiler kaydedildi. Hazırlanan sütler soğuk zincirde hızlı bir şekilde SÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına getirildi.

2.2.2. Numunelerin somatik hücre sayımı

Laboratuvara ulaştırılan sütlerin somatik hücre sayımları (SHS) yapıldı. Bu amaçla Torlak'ın (2005) bildirdiği Çiğ sütlerde mikroskopik somatik hücre sayım yöntemleri kullanıldı (Torlak 2005).

2.2.3 *Streptococcus spp.* İzolasyonu

% 7 koyun kanlı agar ve % 7 koyun kanı ile zenginleştirilmiş Edward's Medium agarlara süt numuneleri ekilerek 24-48 saat arasında 37 C'de inkübasyona bırakıldı. Üreyen kolonilerden 1-3 mm çapında şeffaf, parlak ve S tipi koloniler seçilerek gram boyama ile boyandı. Gram boyama aşamaları şu şekilde gerçekleştirildi.

- 1) Petrilerden seçilen koloniler öze ile alınarak lam üzerine yayıldı ve kendi haline kuruması beklendi bakteri kültürünün havada kuruması sağlanarak fiziksel tespit için 3 defa alevden geçirildi.
- 2) Lamın üzerine kristal viyole döküldü 1 dakika beklendi.
- 3) Kristal viyole lam üzerinden döküldü ve akan suda yıkandı.
- 4) Lam üzerine lugol döküldü ve 1 dk beklendi.
- 5) Lam üzerinden boya döküldü. % 95'lik Etil Alkol ile 30 sn bekletildi ardından su ile boya akmayıncaya kadar yıkandı.
- 6) Safranin dökülerek 15-20 saniye beklendi. Lam yıkanıp kurumaya bırakıldı. Bir damla immersiyon yağı damlatılıp mikroskopta incelendi (100 x). Mor renkli bakterilerin görülmesi ile gram pozitif denildi.

Gram pozitif olarak gözlenen bu kolonilere katalaz testi yapıldı. Katalaz testi için; kanlı agarda üremiş gram pozitif koloni temiz lam üzerine alındı. Koloni üzerine %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatıldı. Kabarcıkların oluşması katalaz enziminin varlığı olarak değerlendirildi (Hammes ve Vogel 1995).

H₂O₂ ile tepkime vermeyen kolonilere *Streptococcus spp.* denildi (Akan 2006). Bu koloniler hemoliz tipi yönünden değerlendirildi. Bu bakterilerden Todd-Hewith Broth besiyerine ekim yapıldı ve kültürler -20 °C'ye kaldırıldı.

2.2.4. *Streptococcus spp.*'lerin Tür Düzeyinde İdentifikasyonu

Tür düzeyinde identifikasyon için biyokimyasal testler olan rafinoz, sodyum hippurat, salisin, trehaloz, sorbitol, mannitol, laktoz, eskülin hidrolizi, %6,5'luk NaCl üreme testleri yapıldı. Mac conkey agar, B.a.g.g. agar üremeleri değerlendirildi. Renk değişikliği pozitif olarak değerlendirildi.

Hippurat solüsyonu içeren tüp derin dondurucudan çıkarıldı, erimesi ve oda sıcaklığına gelmesi beklendi. İzole edilen bakteriler kanlı agar kültürüne tek düşecek şekilde üretildi. Üretilen koloniden öze kullanılarak alınan bakteriler hippuratlı besiyerinde homojenize edildi. Ekim yapılan tüpler 37°C'de 2 saat süresince inkübasyona

bırakıldı. İki saat sonunda tüplere 4'er damla ninhidrin solüsyonu damlatılarak 37°C'de 30 dakika daha inkübasyon bırakıldı. Belirli aralıklarla tüplerdeki renk değişimi incelendi. Renk değişimi koyu mavi olanlar pozitif olarak değerlendirildi (Cruickshank et al 1975, Bergey's Manuali).

Rafinoz, salisin, trehaloz, sorbitol, mannitol, laktoz şekerleri ile hazırlanmış besiyeri tüplerine kanlı agarda üretilmiş bakteri kolonisinden ekim yapılarak (Cruickshank et al 1975, Bergey's Manuali) 37 °C 'de 24 saatlik inkübasyon sonunda renk değişimleri değerlendirildi.

Eskülin Hidrolizi için hazırlanan katı besiyerlerine ekim yapılarak 37 °C 'de 24 saatlik inkübasyon sonunda renk siyahlaşması pozitif olarak değerlendirildi (Cruickshank et al 1975, Barrow ve Feltham 1993).

% 6.5'luk NaCl'de üreme

Hazırlanan besi yerlerine bakteri kolonisinden ekim yapılarak 35 °C 'de 24 saatlik inkübasyon sonunda menekşe renginin sarı renge dönmesi üreme pozitif olarak değerlendirildi (Bergey's Manuali).

Mac Conkey agarda üreme

Bakteriyel ekim yapılarak 37 °C'de üremeye bırakıldı. 24-72 saat sonunda üreme olup olmadığı kontrol edildi.

CAMP Testi

Kanlı agar orta hattına merkezden aşağı doğru ince bir çizgi halinde toksin üretme düzeyi yüksek olduğu bilinen bir *Staph.aureus* suşu ekimi yapıldı. Bu hatta dik açıda doğrusal şüpheli *Streptococcus* spp. suşu inokule edildi. 37 °C 'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İki hattın birleşme bölgesinde hemoliz alanlarının görülmesi *Str. agalactiae* pozitif olarak değerlendirildi (Cruickshank et al 1975, Barrow ve Feltham 1993).

B.a.g.g. Broth Besiyerinde Üreme

B.a.g.g. broth besiyerine bakteriyel ekim yapıldı ve 45 °C 'de 24 saat inkübe edildi. Rengin sarı renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi. D grubu streptokoklar(*Str. bovis* ve *Enterococcus faecalis*) pozitif olarak bildirilmiştir.

2.2.5. Serotiplendirme

Serotiplendirme, izolatların (streptokok grupları A,B,C,D,F ve G) serolojik gruplandırma için StrepPRO Grouping ticari kiti ile lateks aglutinasyon prensibine göre yapıldı. Üretici tarafından tarif edildiği şekilde uygulandı. 1 numaralı reaktifden bir damla endorf tüpüne aktarıldıktan sonra 1-4 kolini alınarak ekstraksiyon içeren tüpe konuldu ve vorteks ile karışması sağlandı. 2 numaralı reaktiften 1 damla eklendi ve hafifçe karıştırıldı. 5 damla reaktif 3 eklenip karıştırıldıktan sonra üzerinde 10 adet dairesel halka bulunan reaksiyon kartının 6 halkasına birer damla damlatıldı. Üzerlerine 6 gruptan Blue Lateks Reagents damlatıldı ve farklı çubuklar ile karıştırıldı. Bir dakika sonunda aglutinasyon olması pozitif olarak değerlendirildi.

2.2.6. Antibiyogram

Antibiyogram testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. 18 saat 37 °C'de Nutrient Buyyonda suşlar üretildi. Steril swap bakteri üretilmiş olan buyyona daldırılarak içerisinde döndürüldü ve swap üzerinde ki fazlalığın atılması için tüpün boş iç duvarına bastırıldı. Muller Hinton Agar plağına ıslatılmış swap sürülerek plağın tüm yüzeyine ekim yapılması sağlandı. Son olarak plağın kenar kısımlarında gezdirilip işlem tamamlandı. aracılığı ile birkaç kez döndürülerek, süspansiyonun dışında tüpün iç duvarına bastırıldı. En az 5 en fazla 15 dk plağın yüzeyindeki sıvıyı içine çekmesi beklendi. Böylece eküvyon üzerindeki fazla sıvı atılmış oldu. Plağın üzerine belirtilmiş olan; vankomisin (30µg), sefoksitin (30 µg), sefaleksine (30 µg), kloksasilin (5 µg), amoksisilin (10 µg), sefaperazon (75 µg), gentamisin (10 µg), neomisin (30 µg), tetrasiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), spiramisin (100 µg), enrofloksasin (5 µg), danofloksasin (5 µg) ve penisilin (10 µg)) antibiyotik diskleri pens ile Mueller Hinton Agar plaklarına yerleştirildi ve üzerlerine bastırıldı. Kapakları alta gelmesine dikkat

edilerek 37°C ayarlanmış etüve kaldırıldı. Disk etrafında oluşan zon çapına gore duyarlı değeriendirildi.



3. BULGULAR

3.1. Mastitis Yönünden İneklerin Taranması, CMT Pozitif Hayvan Bilgileri ve Somatik Hücre Sayımı

Bu çalışmada Ereğli ve çevresinde 5 çiftlikte bulunan 350 sağmal ineğin 1400 meme lobu taranarak 146 (%10,42) adet meme lobu CMT pozitif bulundu. Bu ineklerin genel bilgileri toplandı (Çizelge 2). Somatik hücre sayımları sonucunda 2'si 500 000 /ml ile 650 000 /ml arasında, 5'i 700 000 /ml ile 950 000 arasında, 13'ü 950 000 /ml ile 1 200 000 arasında olduğu gözlemlendi.

3.2. İzolasyon Sonuçları

Toplanan 146 adet süt örneğinin 20'sinden (%13,7) *Streptococcus* spp. bakteri suşu izole edildi. Tüm izolatların gram pozitif ve katalaz negatif olduğu tespit edildi.

3.3 İdentifikasyon Sonuçları

İzole edilen 20 tane etkenin biyokimyasal test sonucunda 8'i (%40) *Str. dysgalactiae*, 3'ü (%15) *S.uberis*, 9'u (%45) *S. feacalis* (*Enterococcus fecalis*) olarak tespit edildi (Çizelge 3). Bu çalışmada *S.agalactiae* suşuna rastlanmadı.

3.4. Serotiplendirme Sonuçları

4'ü C grubu, 9'u D grubu, 4'ü G grubu, 3'ü F grubu olarak tiplendirildi. En baskın tip olarak D grubu gözlemlendi (Çizelge 4).

3.5. Antibiyogram Sonuçları

Enterococcus fecalis 2'si (% 22,2) Vankomisin, 5'i (% 55,5) Enrofloksasin, 7'si (% 77,7) Danofloksasin, 3'ü (% 33,3) amoksisilin, 2'si (% 22,2) Eritromisine duyarlı bulunmuştur.

Str. dysgalactiae 5'i (%62,5) danofloksasin, 4'ü (%44,5) enrofloksasin, 4'ü (%44,5) amoksisilin, 2'si (%22,2) gentamisin, 3'ü (% 33,3) vankomisine duyarlı bulundu.

Str. uberis 3'ü (% 100) enrofloksasin, 3'ü (% 100) danofloksasin, 2'si (% 66,7) vankomisin, 2'si (% 66,7) pensilin G, 2'si (% 66,7) eritromisine duyarlı bulunmuştur.

Bütün suşlar neomisin ve spiramisine direnç göstermiştir.

Çizelge 2. Konya ereğli ilçesinde numune alınan sağmal inek bilgileri.

No	Yaş	İrki	L. E.	Süt verim (L/gün)	Meme lobu	Kaç yıldır işletmede?	Daha önce hiç mastitis geçirdi mi?	Daha önce hiç mastitis aşısı yapıldı mı?
1	9	H	7	24,7	Sağ arka	4	E	E
2	5	H	4	22,6	Sol arka	3	E	E
3	6	H	4	26,8	Sol arka	5	E	E
4	4	H	3	26,4	Sağ ön	3	H	E
5	6	H	4	21,8	Sol arka	4	E	E
6	4	H	2	26	Sağ ön	4	H	E
7	5	H	3	25	Sağ arka	4	H	E
8	6	H	4	22,3	Sol arka	4	E	E
9	5	H	3	26,5	Sağ arka	3	H	E
10	5	H	3	24,2	Sağ ön	4	E	E
11	7	H	5	23	Sağ arka	7	E	E
12	5	H	3	28	Sol ön	4	H	E
13	4	H	2	25,3	Sağ ön	4	H	E
14	5	H	3	24,6	Sağ ön	4	H	E
15	4	H	2	31	Sağ arka	4	H	E
16	8	H	6	28	Sağ ön	3	E	E
17	5	H	3	27	Sol arka	5	H	E
18	6	H	4	24	Sağ ön	4	E	E
19	4	H	2	29	Sağ arka	4	H	E
20	9	H	7	27	Sol ön	7	E	E
H:Holstein		E: Evet		H: Hayır		L.E :Laktasyon Evresi		

Çizelge 3. İzole edilen suşların biyokimyasal test sonuçları.

No	CAMP	BAGG	Eskülin	Mc Con	SH	NaCl (%6,5)	Trehaloz	Sorbitol	Mannitol	Laktoz	Salisin	Rafinoz
1	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
3	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-
4	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
7	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
8	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
11	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
12	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
13	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
16	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
17	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
18	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
19	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
20	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-

CAMP: Camp testi. BAGG :Buffered Azide Glucose Glycerol Broth Base SH: Sodium hippurat; McCon: Mac Conkey Agar'da üreme. NaCl (%6,5): % 6,5 yoğunluğunda NaCl

Çizelge 4. İzolatların serotiplendirme sonuçları.

POZİTİF NUMUNE NUMARALARI	C GRUP	D GRUP	F GRUP	G GRUP
	1	5	18	2
	3	6	19	4
	12	7	20	8
	13	9		11
		10		
		14		
		15		
		16		
		17		
TOPLAM	4	9	3	4

Çizelge 5. İzole edilen suşların antibiyogram sonuçları.

Suş No	Kullanılan Antibiyotikler ve Duyarlılıkları													
	Enr	Gen	Dan	Ax	T	Sp	Van	Cl	Pen	Fox	Cep	Er	Cx	N
1	++	+	+++	++	+	-	+++	+	+	++	++	++	+	-
2	+++	+	+++	+	++	-	++	++	++	+	++	+	+	-
3	+++	++	+++	+	+	-	++	++	+	++	+	+	++	-
4	++	+++	+	+++	++	-	++	+	+	+	+	++	+	-
5	+++	++	+++	++	+	-	+++	++	+	++	++	+	++	-
6	+++	+	++	+	++	-	+++	++	++	+	++	+	+	-
7	+	++	+++	+++	++	-	++	+	+	+	+	++	++	-
8	++	+	+++	+++	+	-	++	++	++	++	++	+	+	-
9	++	++	+++	+++	+	-	+	+	+	++	+	+	+	-
10	++	++	+++	++	++	-	+	+	+	+	++	+++	++	-
11	+	+++	++	+++	+	-	+++	++	+	++	+	+	+	-
12	+++	++	+++	++	+	-	+++	+	++	+	++	+	+	-
13	+++	+	++	+++	++	-	+	++	+++	++	++	++	++	-
14	++	+	+++	+	+	-	++	+	+	+	++	+++	++	-
15	+++	++	++	+++	+	-	+	++	++	++	++	+	++	-
16	+++	++	+++	+	+	-	++	+	+	+	+	++	++	-
17	+++	++	+++	++	++	-	++	++	+	++	++	+	++	-
18	+++	+	+++	+	+	-	++	++	+++	+	+	+++	+	-
19	+++	++	+++	+	++	-	+++	++	++	++	++	+++	++	-
20	+++	+	+++	++	+	-	+++	++	+++	+	+	++	+	-

Enr: Enrofloksasin, Gen: Gentamisin, Dan: Danofloksasin, Ax: Amoksisilin, T: oksitetrasiklin, Sp: Spiramisin, Van: Vankomisin, Cl: Sefaleksın, Pen: Pencilin, Fox: Sefoksitin, Cep: Sefoperozon, Cx: Kloksasilin, N: Neomisin

(+++)= Etkili, (++)= Orta derecede etkili, (+)= Az etkili, (-)= Dirençli

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada Ereğli ve çevresinden 5 çiftlikten 350 adet sağmal inek subklinik mastitis yönünden taranarak *Streptococcus* spp. izolasyonu, konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonu, serotiplendirilmesi ve izolatların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmeye çalışıldı.

4.1. İzolasyon / İdentifikasyon Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Mastitis süt inekçiliğini etkileyen önemli sağlık problemlerindendir. Streptokok türleride sığır mastitislerinden sıklıkla izole edilir (Facklam 2002, Fortin ve ark 2003). En sık izole edilen türleri ise *Str.agalactiae*, *Str. dysgalactiae* ve *Str. uberis* olduğu bildirilmiştir (Khan et al 2003).

Teşhis laboratuvarlarında streptokok bakterilerinin identifikasyonu koloni morfolojisi, hemoliz özelliği ve biyokimyasal özelliklerine dayanmaktadır. Mastitis patojenlerinin hızlı identifiye edilmesi enfeksiyonun kontrol altına alınması ve tedavisi için oldukça önemlidir. *Streptococcus* spp. bakterisi mastitis olgularında önemli yer tutmaktadır. *Str. uberis* en çok karşılaşılan türdür (Leigh 1999). Enterokoklar içerisinde *E. faecalis* ve *E. faecium* sıklıkla izole edilmektedir (Wyder ve ark 2011).

İrlanda’da yapılan bir çalışmada 15 farklı işletmeden 285 sığır taranmış %19 *Str. uberis* izole etmişlerdir.

İsveç’teki bir araştırmada 226 değişik işletmeden 583 meme lobundan alınan süt örnekleri subklinik mastitis yönünden incelenmiş pozitif olan örneklerin bakteri dağılımının; *Str. dysgalactiae* %15, *Str. uberis* %14, *Streptococcus* spp. %3,1 şeklinde olduğu saptanmıştır.

Arda ve İstanbulluoğlu (1979) Ülkemizde bölgesel mastitis etkenleri içerisinde bulunan aerobik, mikroaerofilik ve anaerobik bakterileri üzerine yaptığı araştırma neticesinde *Str. agalactia* %8,7, *Str. uberis* %4,6 olarak identifiye etmişlerdir.

Ak Trakya’da yaptığı araştırmasında 77 adet sığır sütünü CMT pozitif bulmuş ve 105 etken izole etmiştir. Bu etkenlerin 42’sinin (%40) *Streptococcus* spp. olduğunu ve bunların 9’unun (%27,27) *Str. agalactiae*, 10’unun (%30,30) *Str. uberis*, 8’inin

(%24,24) *Str. dysgalactiae* ve 15'inin de (%45,45) diğer streptokok türleri olarak tanımlanmıştır.

Hadimli ve ark (2013) elde ettikleri mastitis izolatlarının 32'si (%30,76) *Enterococcus faecalis*, 13'ü (%12,50) *Str. agalactiae*, 11'i (%10,57) *Str. uberis* olduğunu bildirmişlerdir.

Osteras ve ark (2006) çalışmalarında %1,2 *Str. dysgalactiae* ve %0,04 *Str. uberis* olduğunu bildirmişlerdir.

Çokal ve Konuş (2012) Balıkesir ilinde yaptıkları araştırmada %8,5 *Streptococcus ssp.* izole etmişlerdir.

Büyükcangaz ve ark (2013) %15,92 *Str. agalactiae*, %10,44 *Str. uberis*, %0,99 *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır.

Acar ve ark çalışmalarında %5,88 *Str. agalactiae*, %47,05 *Str. dysgalactiae*, %11,76 *Str. uberis* ve %35,29 *Str. faecalis* olarak bildirmişlerdir.

Ankara Yöresinde yapılan bir çalışmada (2010) ise, 1135 süt örneği incelenmiş ve %6'sında (n=68) *Streptococcus* spp. izolasyonu yapılmış; bunların %19,1'i *Str. agalactiae*, %20,6'sı *Str. dysgalactiae* ve %60,3'ü *Str. uberis* olarak tanımlanmıştır.

Sunulan çalışmada ise 8 tane (% 40) *Str. dysgalactiae*, 3 tane (% 15) *Str. uberis*, 9 tane (%45) *Str. faecalis* olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalardan farklı olarak *Str. agalactiae* suşuna rastlanmamıştır. Bulaşıcı olan *Str. agalactiae* suşunun izole edilmemesi, örneklerin büyük işletmelerden alınması, işletme sahiplerinin sağım hijyeni ve sağım kurallarına önem göstermelerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bölgesel ve çiftlik farklılığının, bu çalışmada elde edilen izolat sayısı ve tür çeşitlerindeki değişik sonuçları açıklayabileceği düşünülmektedir.

4.2. Antibiyogram Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tel ve ark 23 tane *Streptococcus* spp. İzole etmiş ve bunların antibiyogram sonuçlarını; %4,3'ünün novobiyosin, %26,1'sinin ampicilin, %47,9'unun trimetoprim/sulfametaksazol, %56,6'sını amoksisilin'e, %69,6'sının eritromisin, %39,1'inin tetrasiklin, %13'ünün gentamisin ve %4,3'ünü de streptomisin duyarlılığında tespit etmişlerdir.

Macun ve ark 22 tane *Streptococcus* spp. izole etmiş ve bunlarını antibiyogram sonuçlarını; %90,90'nın sefoksitin, %90,90'unu penisilin, %95,45'in sefalekssin, %63,63'ünü kloksasilin, %95,45'ini amoksisilin, %90,90'ını sefaperazon, %95,45'ini gentamisin, %95,45'ini neomisin, %77,27'sini eritromisin, %90,90'ını spiramisin, %86,36'sını enrofloksasin, %90,90'ını danofloksasin ve %81,81'ini de tetrasiklin duyarlılığında tespit etmişlerdir.

Antibiyogram test sonuçlarına bakıldığında; streptokokkus suşlarının 7 tanesinin (%35) vankomisine duyarlı bulunması düşündürücüdür. Bu antibiyotik rutin mastitis tedavisinde kullanılmayan ancak özel durumlarda hekimin başvurduğu bir kemoterapötiktir. Sunulan bu çalışmada söz konusu suşların insana bulaşması araştırılmamış olmakla birlikte, olası bulaşma durumlarında etkili antibiyotik seçeneğinin sınırlı olacağı ifade edilebilir. Nitekim, ABD, Avrupa ve Asya ülkelerinde 2000 yılından sonra elde edilen surveyans sonuçların göre insanlarda vankomisin dirençli enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde en etkili antibiyotiklerin linezolid ve daptomisin olduğu gösterilmiştir (Tünger 2012). Diğer taraftan çalışmamızda pensilin G (%80) ve tetrasiklin (%95) direncinin yüksek bulunması bu ve benzeri (uzun süredir kullanımda olan) diğer antibiyotiklere karşı gelişmesi beklenen direncin göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda suşların %60'ı enrofloksasin, %75 danofloksasin, %35 vankomisin, %15 pencilin G, %35 amoksisilin, %10 gentamisin, %20 eritromisin'e duyarlı bulunmuştur. Sunulan çalışmada antibiyogram sonuçlarına bakıldığında neomisin ve spiramisine %100 direnç gözlenmiş olması bu antibakteriyellerin sahada farklı tedavilerde ve daha sıklıkla kullanılmakta olabileceği ihtimalini düşündürmektedir

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mastitis kontrolünde çeşitli metotlar uygulanır. Bunların esası, tıpkı diğer enfeksiyonlardan korunma prensibinde olduğu gibi, birincil ve ikincil korumayı sağlamaktır. Ancak bu önlemlerin alınmasına rağmen mastitis şekillendiğinde tedavi seçeneği başvurulmuş ve son koruma seçeneğidir (üçüncül koruma). Mastitis kontrol programlarının yeterince uygulanmadığı ülkelerde üçüncül koruma (tedavi) önemli yer tutar. Esas olan ise birincil koruma önlemleri ile enfeksiyondan korunmak, ancak olası ve birincil korumaya rağmen görülebilen enfeksiyonları ise ikincil koruma yöntemleri ile erkenden yakalamak ve önlem almaktır. Bu modern yaklaşımların değeri (ekonomi, pratiklik, az emek gerektirme, yetişmiş eleman gerektirmeme vb) birincilden üçüncüle doğru azalır ve gelişmiş ülkelerde enfeksiyonları kontrol altına almada birincil korumanın uygulanması esastır.

Bu araştırmada Ereğli ve Çevresinde ineklerde streptokok mastitis sıklığı %13,7 oranında belirlenmiş ve ikincil koruma yöntemlerinin daha etkin uygulanması ve zamanında tedavi ile enfeksiyonunun prevalansının düşürülmesi veya düşük oranlarda tutulması gerektiği kanaatine varılmıştır. Uygulanabilir olduğu çiftlik ve şartlarda mastitis aşılı, uygulaması ucuz, çevre dostu, pratik ve direnç gelişimi riski taşımayan koruma yöntemi olmasından dolayı önerilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Acar G, 2012. Hatay bölgesinde klinik ve subklinik mastitisli ineklerden *Streptococcus* spp. etkenlerinin izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi AVKAE Derg, 2(2).1-5.
- Ak S, 2000. Trakya yöresinde sığır mastitislerinden sorumlu bulaşıcı ve çevresel bakteriyel etkenler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 26(2), 353-365.
- Alaçam E Süt ineklerinde sağım ve meme bakımı, Selçuk Üniv Vet Fak Derg özel Sayı s. 91-105, eurasinajvet sci org.
- Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O, 1986. Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde cefoperazonun etkisi üzerinde çalışmalar. Selçuk Üniv Vet Fak Derg 2: 65-74.
- Alnakip ME, Quintela-Baluja M, Böhme K, Fernández I, Caamaño-Antelo S, Calo-Mata P, Barros-Velázquez J, 2014. The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. Journal of Veterinary Medicine, Article ID 659801,1-31.
- Amosun EA, Ajuwape ATP and Adetosoye AI. Bovine streptococcal mastitis in southwest and northern states of Nigeria. Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria
- Anonim, 2014. Mevka Ereğli ilçe raporu 2014. Erişim tarihi, 13.04.2016. Erişim adresi <http://www.mevka.org.tr>.
- Anonim, 2015 Türkiye istatistik kurumu bölgesel istatistikler. Erişim tarihi, 13.04.2016. Erişim adresi : <http://www.tuik.gov.tr>.
- Anonim, 2016. Türkiye istatistik kurumu haber bülteni. Sayı: 21643, Erişim tarihi, 13 Nisan 2016. Erişim adresi, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21643>.
- Anonim Türkiye kalkınma bankası a.ş. sektörel araştırmalar, Erişim adresi : www.daga.org.tr > planlama > süt ürünleri.
- Arda M, İstanbulluoğlu E, 1979. Mastitislere neden olan aerob, anaerob ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili olan antibiyotik ve fungusitlerin saptanması. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 26, 14-29.
- Arda M, İstanbulluoğlu E, 1980. Mastitislere sebep olan aerobik, mikroaerofilik anaerobik bakterilerin izolasyon ve identifikasyonu üzerin-de çalışmalar, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu, Proje no: VHAG-304.
- Arslan E, Açık L, Uçan US, 2005. Mastitisli ineklerden izole edilen *s.aureus* ve *s.intermedius* suşlarının RAPD-PCR ile akrabalık derecelerinin belirlenmesi. Veteriner Bilimler Dergisi, 21(1-2), 65-69.
- Arslan E, Uçan US, 2005. Mastitisli ineklerden izole edilen *s. aureus* ve *s. intermedius* suşlarının slime üretiminin araştırılması. Veteriner Bilimler Dergisi, 21(1-2), 61-63.
- Arslan E, Çelebi A, Açık L, Uçan US, 2009. Characterization of coagulase positive *staphylococcus* species isolated from bovine mastitis using protein and plasmid patterns. Turkish J Vet Ani Sci, 33(6), 493-500.
- Atroshi F, Parantainen I, Sankaris JM, Lindberg LA, Salonieni H, 1996. Changes in inflammation.related blood constituents of masitis cows. Vet Res, 27, 125-32.
- Barrett DJ, Healy AM, Leonard FC, Do-herty ML, 2005. Prevalence of pathogens cau-sing subclinical mastitis in 15 dairy herds in the R. I. Irish Vet. J., 58, 333-37.

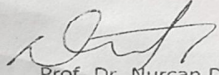
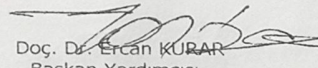
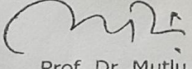
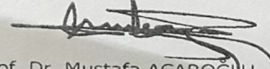
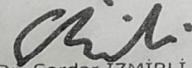
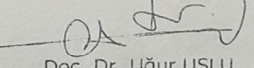
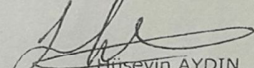
- Bauer AU, Kirby WM, Sherris JC, Tack M, 1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. J Clin Pathol, 45, 493-94.
- Blowey R and Edmondson P, 1995. Mastitis control in dairy hards. Farming Press, Ipswich, UK.
- Büyükcangaz E ve ark, 2012. Subklinik mastitisli sığır sütlerinin mikrobiyolojik analizi ve izolatların antimikrobiyal direnç profili. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Vol 31 Issue 2, 35-44.
- Cengiz AT, 1999. Temel ve klinik mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi, s. 349-369.
- Cengiz S, 2010. Sığır mastitislerinde Streptokok türlerinin izolasyonu ve moleküler tiplendirilmesi. A.Ü.SBE, Mikrobiyoloji ABD Doktora Tezi, Ankara.
- Chang BS, Bohach OA, Lee SU et al, 2005. İmmunosuppression by T regulatory cells in cows infected with staphylococcal superantigen. J Vet Sci 6 (3), 247-250.
- Cruickshank R, Duguid JP, Marmion BP, Swan RHA, 1975. Medical microbiology, 12th ed, Churchill Livinstone, Edinburgh London, 587 pp.
- Çelik İ, Aştı RN, 1992. Normal ve subklinik mastitisli ineklerin meme dokusunun humoral ve hücrel savunma sistemleri üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. Selçuk Üniv Vet Fak Derg, 8(2) 6-11.
- Çokal Y, Konuş R, 2012. Subklinik mastitisli ineklerin sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu, Balıkesir Sağlık Bil Derg,1(2), 2146-9601.
- Diker S, 2005. İmmünoloji. İkinci basım, Ankara, Medisan yayın evi, s. 137-44.
- Dogan B, Schukken YH, Santisteban C et al, 2005. Distribution of serotypes and antimicrobial resistance genes among *Str. agalactiae* isolates from bovine and human hosts. J Clin Microbiol 43 (12), 5899-906.
- Ekin İH, Gürtürk K, 1998. İneklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların serogruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar, YYÜ Sağ Bil Ens Derg, 4 (1-2), 21-27.
- Erdem H, Atasever S, 2004. Süt sığırlarında mastitis tanımı, teşhisi ve korunma yolları. O.M.Ü. Ziraat Fak. Derg 20(2), 79-84.
- Erganiş O, Uçan US, 2001. Veteriner epidemiyoloji. İkinci basım, Konya, Selçuk Üniv Veteriner Fakültesi yayın ünitesi. ISBN:975, s. 543-018.
- Erganiş O, Nizamlioğlu M, Dinç DA, Kalaycıoğlu L. 1992. İneklerde subklinik mastitisin erken teşhisi amacıyla sütte N-asetil : S -D glukozaminidaz (NAG ase) enzim aktivitesinin tayini S. Ü. Vet. Fak. Derg., 8(2), 60-63
- Eyduran E, Özdemir T, Yazgan K ve Keskin S, 2005. Siyah alaca inek sütündeki somatik hücre sayısına laktasyon sırası ve döneminin etkisi. YYÜ Vet Fak Derg, 16(1), 61-65.
- Farrow JAE and Collins MD, 1984. Taxonomic studies on streptococci of serological groups C.G.. and L. and Possibly related taxa. Syst. Appl. Microbiol, 5, 483-493.
- Hadimli HH, 2000. Süt ineklerinde stafilocokkal mastitisler için aşı çalışmaları. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Hadimli HH, Erganiş O, 2001. Süt ineklerinde stafilocokkal mastitisler için aşı çalışmaları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

- Hadimli HH, Sayın Z, Erganiş O, Kav K. 2013 Subklinik mastitisli süt ineklerinden izole edilen katalaz negatif gram pozitif kokların identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Eurasian Journal of Veterinary Sciences. 29(3), 153-59.
- Hilerton JE, Walton AM, 1991. Identification of subclinical mastitis with a hand held electrical conductivity meter. Vet Rec, 128, 513-15.
- Hilerton JE, Leigh JA, Ward PN et al, 2004. *Str. agalactiae* infection in dairy cows. Vet Rec 154(21), 671-72.
- Hilerton JE and Berry A, 2005. Treating mastitis in the cow – a tradition or an archaism. J45. Appl Microbiol 98, 1250-55.
- Holt John G, Krieg NR et al. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9th ed. Pages 538 - 539 + 552 - 558. <http://faculty.sdmiramar.edu/dtrubovitz/micro/Streptococcus.pdf>
- Karahan M, Taşdemir B, Açık MN, Çetinkaya B, Kalın R, Koç O. Mastitisli inek sütlerinde önemli patojenlerin direkt tespiti için bir multipleks polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin geliştirilmesi. Hayvan Sağlığı Araştırmaları Programları Değerlendirme Toplantısı, 07-11 Mart 2011, Antalya.
- Kesenaş H, 1999. İzmir ili ve çevresinde seçilen pilot işletmelerde mastitisin belirlenmesi ve süt kalitesine etkisi üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Koç A. Aydın'da yetiştirilen siyah alaca ve esmer ırk sığırlarda sütteki somatik hücre sayısının değişimi. 4. Ulusal Zootehni Kongresi. 1-3 Eylül 2004, Süleyman Demirel Üniversitesi Zootehni Bölümü, Isparta.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Jr. (eds). The Gram-positive cocci Part II: Streptococci and Streptococcus-like bacteria. Chart 11-4: Salt tolerance test. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed., J.B. Lippincott Company, Philadelphia. 1992, 460.
- Macun HC, Yağcı İPR, Ünal N, Kalender H, Sakarya F, Yıldırım M, 2011. Kırıkkale'de belirlenen subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve antibiyotik direnç durumu. Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg, 8(2), 83-89.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, 2005. Principles and practice of infectious diseases. 6 th ed. Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, 2361-457.
- Milne MH, Biggs AM, Barrett DC et al, 2005. Treatment of persistent intramammary infections with *Streptococcus uberis* in dairy cows. Vet Rec, 157(9), 245-50.
- Persson Y, Nyman AKJ, Andersson UG, 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. Acta Vet. Scandinavica, 53:36.
- Pitkala A, Haveri M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T, 2004. Bovine mastitis in Finland 2001- prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. J Dairy Sci, 87, 2433- 41.
- Radostits OM, Gay CC, Blood CC, Hinchcliff KW, 2000. Veterinary medicine 9th Ed. London UK, W B Saunders Co, 603-53.
- Raubertas R, Shook GE, 1982. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. J. Dairy Sci, 65, 419-25.
- Rossitto PV, Ruiz L, Kikuchi Y, Glenn K, Luiz K, Watts JL, Cullor JS, 2002. Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci isolated from bovine mastitis in central California dairies. J Dairy Sci, 85, 132-38.
- Sabancıoğlu N, Çoban Ö, 2006. Mastitis Ekonomisi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootehni Anabilim Dalı, 25700, Ilıca-Erzurum. Atatürk Üniv Vet Fak Biyometri Anabilim Dalı, 25700, Ilıca-Erzurum. *e-posta: ncoban@atauni.edu.tr.

- Schroeder JW, 1997. Trouble – Shooting a mastitis problem herd. Dairy men coping with winter. NDSU Extension Service Fact Sheet.
- Shpigel NY, Winkler M, Ziv G, Saran A, 1998. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy herds. Prev. Vet. Med. 35(1), 1- 9.
- Smith KL and Hogan JS, 1992. Control of environmental mastitis. In: Proc. Atti International Symposium on Bovine Mastitis. Universita Degli Studi di Milano, Milan, 37- 52.
- Smith KL and Hogan JS, 1993. Environmental mastitis. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 9(3), 489- 98.
- Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS, 1985. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy. Sci. 68(6) 1531- 53.
- Torgerson PR, Gibbs D, Anderson B, 1992. High incidence of clinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in two dairy herds with low milk cell counts. Vet Rec, 130, 54-55.
- Tel YO, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim Kaya NB, 2009. Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. FÜ Sağ Bil Ens Derg, 23(2), 101-06.
- Torlak E, 2005. Çiğ Sütlerde Mikroskopik Somatik Hücre Sayım Yöntemleri. Panel: AB sürecinde kaliteli süt üretimi ve somatik hücre sayısı, Konya İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Şelale Matbaa ve Ciltevi, Konya. 57-64.
- Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K., Kennedy R. Mastitis detection: current trends and future perspectives. Biomedical Diagnostics Institute, National Centre for Sensor Research, Dublin City University, Dublin 9, Republic of Ireland 2 Enfer Scientific Unit T, M7 Business Park, Newhall, Naas, Co. Kildare, Republic of Ireland 3School of Biotechnology, Dublin City University, Dublin 9, Republic of Ireland.
- Wicks HC, Leaver JD, 2006. Influence of genetic merit and environment on somatic cell counts of Holstein - Friesian cows. Vet j 172(1), 52-57.
- Wilson DJ, Gonzalez RN and Das HH, 1997. Bovine mastitis pathogens In New York and Pennsylvania; prevalence and effects on somatic cell count and milk production. J Dairy Sci 80,10, 2592-98.
- Yıldırım AO, Lammler C, Weiss R et al, 2002. Pheno-and Snotypic properties of streptococci of serological group B of canine and feline origin. Fevis Microbial Lett 212(2), 187-92.
- Zadoks RN, Schukken YH, 2006. Use of molecular epidemiology in veterinary practice. Vet Clin North Am Food Anim Pract 22(1), 229-61.
- Zadoks RN 2007. Sources and epidemiology of *Streptococcus uberis*, with special emphasis on mastitis in dairy cattle. CAB Reviews; Perspectives in Agriculture. Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2(030), 15.
- Zadoks RN, Fitzpatrick JL, 2009. Changing trends in mastitis, Irish Vet J, 62 suppl, 59-70.

7.EKLER

EK-A: Etik kurul kararı

Toplantı Tarihi	20.03.2013	Toplantı Sayısı	2013/04	Karar Sayısı	2013/018
S.Ü. Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Uçkun SAİT UÇAN tarafından sunulan "Ereğli ve Çevresindeki İneklerde Mastitislerden İzole Edilen Streptokokların Prevalansı ve Etkenlerin Antibiyotiklere Duyarlılıkları" başlıklı Tez Projesi başvurusu değerlendirilmiştir. Projede cansız hayvan materyalinin kullanılacağı bildirilmektedir. Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin araştırma etiği açısından "Uygun olduğuna" oy birliği ile karar verilmiştir.					
 Prof. Dr. Nurcan DÖNMEZ Başkan		 Doç. Dr. Ercan KURAR Başkan Yardımcısı			
 Prof. Dr. Mutlu SEVİNÇ Üye		 Prof. Dr. Mustafa ACAROĞLU Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi			
 Doç. Dr. Serdar İZMİRLİ Raportör Üye	 Doç. Dr. Uğur USLU Üye	 Hüseyin AYDIN Sivil Üye			

8.ÖZGEÇMİŞ

1987 tarihinde Konya'nın Ereğli ilçesinde dünyaya geldi. İlkokul ve lise öğrenimini Ereğli ilçesinde tamamladı. 2006 yılında baba mesleği olan Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesine yerleşti. Bir dönem Harran Üniversitesinde okuduktan sonra SÜ. Veteriner Fakültesine yatay geçiş yaptı. SÜ Veterinerlik Fakültesini 2011 yılında tamamlayarak mezun oldu. Mezun olduğu yıldan bu yana aile şirketlerine ait veteriner ecza deposunda mesul müdür olarak görev yapmakta.



EK 4. Onay Sayfası Örneği 2,5 cm S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne (Adayın Adı Soyadı) tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Anabilim Dalında Yüksek Lisans / Doktora Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir. Jüri Başkanı: Unvanı Adı SOYADI İmza Üniversitesi 4cm Danışman: Unvanı Adı SOYADI İmza Üniversitesi Üye: Unvanı Adı SOYADI İmza Üniversitesi Üye: Unvanı Adı SOYADI İmza Üniversitesi Üye: Unvanı Adı SOYADI İmza Üniversitesi ONAY: Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili 2,5cm maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir. Unvanı Adı SOYADI Enstitü Müdürü

