

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SUBKLİNİK MASTİTİSLİ KOYUNLARDA GSH,  
SERULOPLAZMİN, A VİTAMİNİ, C VİTAMİNİ VE E VİTAMİNİ  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Biyoloji Öğretmeni Barış ERTUNÇ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Nihat MERT

2. DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR

VAN-2017

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SUBKLİNİK MASTİTİSLİ KOYUNLARDA GSH,  
SERULOPLAZMİN, A VİTAMİNİ, C VİTAMİNİ VE E VİTAMİNİ  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Biyoloji Öğretmeni Barış ERTUNÇ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı  
Prof. Dr. Nihat MERT

Üye  
Prof. Dr. Tevhide SEL

Üye  
Prof. Dr. Handan MERT

TEZ KABUL TARİHİ  
...../...../2017

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında hiçbir desteğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Prof. Dr. Nihat MERT'e, Prof. Dr. Handan MERT ve Anabilim Dalımızın diğer Öğretim Üyelerine, tezimin yazım aőamasındaki yardımlarından dolayı ikinci danışmanım Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR'a ayrıca hayatımın her döneminde bana manevi destek olan eőim Esra ERTUNÇ ve çocuklarıma, hayatımın her döneminde maddi manevi desteğini esirgemeyen anne ve babama teőekkürlerimi sunmayı zevkli bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay .....	II
Teşekkür .....	III
İçindekiler .....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar .....	VII
Şekiller Dizini.....	VIII
Tablolar Dizini.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Mastitisin Tanımı.....	2
2.2. Mastitisin Etiyolojisi.....	2
2.3. Mastitisin Sınıflandırılması.....	4
2.3.1. Klinik mastitis.....	4
2.3.2 Subklinik mastitis.....	5
2.4. Mastitisin Patogenezi.....	6
2.5. Mastitisin Teşhisi.....	7
2.5.1. Sütteki somatik hücre sayısı (SCC).....	8
2.5.2. Kaliforniya mastitis testi .....	10
2.5.3. Mikrobiyolojik muayeneler.....	10
2.5.4. Sütün elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi.....	11
2.5.5. Biyokimyasal yöntemler.....	11
2.6. Mastitisin Tedavisi.....	13

2.7. Mastitisten Koruma ve Kontrol.....	14
2.8. Antioksidanlar.....	15
2.8.1. Glutasyon GSH).....	15
2.8.2. Seruloplazmin.....	17
2.8.3. AVitamini.....	19
2.8.4. E Vitamini .....	22
2.8.5. C Vitamini .....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Gereç.....	28
3.1.1. Canlı materyal.....	28
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler.....	28
3.1.3. Kimyasal maddeler.....	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Mastitis indikatör kâğıt ile sütün incelenmesi.....	29
3.2.2. CMT'in yapılışı.....	30
3.2.3. Kan örneklerinin alınması.....	31
3.2.4. Redükte glutasyon GSH tayini .....	31
3.2.5. Seruloplazmin tayini.....	32
3.2.6. A ve E vitamini analizleri.....	33
3.2.7. C vitamini analizi.....	34
3.2.8. İstatistik analizler.....	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40

ÖZET.....	48
SUMMARY.....	49
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	62
EKLER.....	63
Ek1. Tez orjinallik raporu.....	63
Ek 2.Etik kurul onayı.....	64



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>°C</b>	: Santigrad derece
<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>ALP</b>	: Alkalen fosfataz
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>BCP</b>	: Brom-cresol purple
<b>BTB</b>	: Brom-tymol blue
<b>CMT</b>	: Kaliforniya mastitis testi
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>g</b>	: Gram
<b>GSSG</b>	: Okside glutatyon
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>HPCL</b>	: Yüksek performans likit kromatografi
<b>L</b>	: Litre
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrogenaz
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>Na-Gase</b>	: N-asetil- $\beta$ -D glukozaminidaz
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>SCC</b>	: Somatik hücre sayısı
<b>SDS</b>	: Sodyum-dodesil sülfat
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b><math>\mu</math>mol</b>	: Mikromol

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. GSH'ın açık yapısı.....	15
Şekil 2. Vitamin A'nın yapısı.....	19
Şekil 3. $\alpha$ -Tokoferol (5,7,8 trimetiltokol)'ün kimyasal yapısı.....	23
Şekil 4. Askorbik ve L-askorbik asidin L-dehidroaskorbik aside dönüşü.....	26
Şekil 5. Mastitis indikatör kâğıdı.....	30
Şekil 6. CMT solüsyonu ve kabı .....	30
Şekil 7. A ve E vitaminlerinin çalışma grafikleri ve doğru denklemleri.....	34
Şekil 8. Kontrol ile mastitisli koyunlara ait GSH düzeyleri.....	37
Şekil 9. Kontrol ile mastitisli koyunlara ait seruloplazmin düzeyleri.....	37
Şekil 10. Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin A düzeyleri .....	38
Şekil 11. Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin C düzeyleri .....	39
Şekil 12. Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin E düzeyleri.....	39

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Mastitisli ve sağlıklı koyunlara ait GSH, seruloplazmin, vitamin A, vitamin C ve vitamin E düzeyleri ile katalaz aktiviteleri.....	36
--	----



## 1. GİRİŞ

Mastitis, çoğunlukla bakteriyel ya da mikotik patojen faktörlere bağı olarak oluşan meme dokusu yangısıdır (Shearer ve Haris, 2003). Memede görülen şap, çiçek, ekzama gibi bozukluklarla birlikte süt kalitesine en fazla etki eden hastalıktır (Büyükpamukçu, 1980).

Mastitis enfeksiyonları, hastalığın klinik formuna göre subklinik ve klinik olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Subklinik mastitis, dışarıdan bakıldığında meme dokusu ve sütte herhangi bir değişikliğin fark edilemediği formudur. Klinik mastitis, sütte belirlenebilir değişikliklerin meydana geldiği meme yangısıdır. Mastitislerin bu tipleri ya direk kendi kendine iyileşir veya hastalığın devamı sonucunda akut veya kronik duruma gelebilir (Anonim, 2010).

Mastitis dünya üzerinde süt sığırıcılığına etki eden en maliyetli hastalıktır. Mastitis hem hayvan sağlığında hem de insan sağlığında öneme sahiptir. Hayvanlarda sağlık sorunlarına sebep olduğu gibi insanlarda da çeşitli problemlere sebep olabilmektedir. Hayvanlarda süt verimliliğinin düşmesi ve ölüm nedenidir. İnsanlar için ise düşük kalitede süt ve süt ürünlerinin yanında sütte antibiyotik kalıntıları bulunması sağlık açısından sakıncalı durumlardır (Jayarao, 2004). Süt sığırıcılığı için mastitisin süt verimini azaltması ve gıda güvenliği açısından sorunlar teşkil etmesi pek çok ülke tarafından kabul görmektedir (Smith ve Hogan, 1996).

Sunulan bu tez ile subklinik mastitisli koyunlarda kanda GSH, seruloplazmin, A, C ve E vitamini düzeylerinin araştırılması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mastitisin Tanımı

Mastitis, Grekçe meme anlamına gelen “mastos” ve yangıyı anlatan “itis” ekinin bir araya getirilmesi sonucu ortaya çıkmıştır (Thomson, 1984). Mastitis terimi yerine “mammitis” kelimesi de kullanılır. Bu kelimedeki “mamma” meme anlamına gelmektedir (Jones ve Hunt, 1983; Alibaşoğlu ve Yeşildere, 1988). Mastitis, akıtıcı süt kanalları, meme parankimi ve interstisyel dokunun yangısıdır (Batu, 1980; Büyükpamukçu, 1980; Aydın ve Coşkun, 1983; Berkin ve Milli, 1984; Aydın ve ark. 1985). Subklinik mastitis; meme dokusunda ya da bütün vücut içerisinde hiçbir klinik belirti göstermeyen fakat süte uygulanan farklı testler (California mastit test-CMT, White side testi, Brabant mastitis testi, Winconsin mastitis testi, Katalaz testi, Strip-cup testi) ile belirlenebilen mastitlerdir. (Batu, 1980; Aydın ve Coşkun, 1983; Ünal ve ark., 1985; Alaçam ve ark., 1986; Alaçam ve ark., 1988; Saxena ve ark., 1993;). Meme ve meme başında meydana gelen yaralanmalar, kalıtım ve ırk, hayvan yaşı ve fazla süt verimi gibi nedenler mastitin meydana gelmesinde önemli faktörlerdir (Akay, 1986).

### 2.2. Mastitisin Etiyolojisi

Mastitisin oluşma sebepleri içerisinde kimyasal irritasyon, fiziksel travma, toksinler ve enfeksiyon ajanları gibi pekçok sebep vardır. Fakat çiftlik hayvanlarında mastitis oluşumunun en önde gelen sebebi bakteriler ve onların meydana getirdiği toksinlerdir (Anonim, 1996). Bakteriyolojik nedenler bulaşıcı mastitis patojenleri (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* ve *Mycoplasma bovis*) ile çevresel patojenler (çevresel koliform ve streptokok bakteriler) tarafından oluşturulurlar (Oliver ve ark., 1992; Murinda ve ark., 2002). Mastitisin oluşumunda bakteriyolojik, viral ve travmatik sebeplerin yanında hazırlayıcı faktörlerin de önemi çok fazladır. Bunlar, ırk, süt verim düzeyi, yaş, anatomik nedenler, laktasyon dönemi ve sırası, barınak ve ahır şartları ile hayvanın hormonal ve metabolizma dengesi olarak verilebilirler (Deveci ve ark., 1994). Enfeksiyona yol açan etkenlerin sağlıklı memeye geçişi genellikle sağım esnasında meydana gelmektedir. Enfekte olmuş memeler burada esas önemli nedenlerden biridir. Bulaşmanın meydana gelmesinde en

önemli faktörler sağım makineleri, meme yıkama ve kurulama bezleri ve sağım yapan kişinin elleridir (Anonim, 1996).

Hayvan memesinde farklı türden pekçok faktör, yangıya sebep olmaktadır. Bu faktörler enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenler diye ikiye ayrılırlar. Enfeksiyöz olmayanlar, meme dokusunda tahrişe neden olan organik ve inorganik kimyasal yapılarıdır. Enfeksiyöz nedenler içersinde virüsler, bakteriler, parazitler ve mayalar bulunmaktadır. Bunların içersinde en önemli etken bakterilerdir. Mastitise en çok neden olan mikroorganizmalar streptokok, stafilokok ve koliformlardır. Fakat memede enfeksiyonların ortaya çıkmasında streptokokların stafilokoklara göre daha çok etkili olduğu bilinmektedir (McDonald, 1984; Philpot ve Nickerson, 1991).

*Stafilokok* bulaşması sonucu oluşan mastitisler, koyunlarda perakutdan kroniğe doğru ilerleyebilir. Perakut stafilokokal mastitisler çoğunlukla doğum sonrasındaki ilk günlerde meydana gelir. Şiddetli semptomlara neden olurlar. Bu semptomların belirmesi çok anidir ve hayvanın ölümüne sebep olabilirler (McDonald, 1984; Philpot ve Nickerson, 1991).

Akut stafilokokal mastitisler genelde laktasyon döneminin başında görülür. Hayvanda iştahsızlığa sebep olur. Mastitis oluşmuş meme lobları kızarık, ödemli sıcak ve ağrılıdır. Ağrı sebebiyle hayvanın yürüyüşünde aksamalar meydana gelir. Süt salgısı düşer; memeden pıhtılı, irinli, serözlü ya da kanlı bir sıvı salgılanır. Stafilokokların salgıladıkları toksin nedeniyle toksemi veya gangrenli mastitis oluşabilir. (Jain, 1979; Akay, 1984; Berkin ve Milli, 1984; McDonald, 1984; Jones ve Ward, 1989; Philpot ve Nickerson, 1991).

Kronik stafilokokal mastitis başlangıcında bir belirti görülmez. Zaman içersinde süt verimi düşer. Meme yapısında atrofi ve sertlik meydana gelir. Daha ileri durumlarda ise meme körelir (Büyükpamukçu, 1980; McDonald, 1984; Jones ve Ward, 1989; Batu, 1991).

Koliformlar çoğunlukla akut seyirli mastitislere neden olurlar. Doğumun hemen akabinde perakut şekli de görülebilir. Şiddetli klinik belirtileri vardır. Bu belirtiler iştahsızlık, ateş ve titremedir. Bu belirtiler ile birlikte memede ağrı, sertlik, şişlik, ödem

ve hassasiyet görülebilir. Enfeksiyonun başlangıç döneminde süt normal veya hafif suludur. İlerleyen periyotta süt seröz olurken en son döneme gelindiğinde süt miktarı düşer veya tamamen kaybolur. Perakut koliform mastitis çoğunlukla ölüme sebep olur. Akut koliform mastitisler ise kendi kendine sağalabilirler (Diker, 1984; Batu, 1991; Philpot ve Nickerson, 1991).

Streptotekok'lar sebep olduğu mastitisler yavaş ve gizli olarak ilerler ve çoğunlukla kronik enfeksiyona sebep olurlar. Özellikle kuru dönemde enfeksiyona neden olurlar. Düşük ihtimal laktasyon döneminde de görülebilir (Jain, 1979; İzgür, 1984; Jones ve Ward, 1989; Philpot ve Nickerson, 1991; Keefe, 1997).

### **2.3. Mastitisin Sınıflandırılması**

Mastitisler oluşan semptomlara ve yangının derecesine göre farklı şekillerde sınıflandırılır. Fakat yapılan araştırmalarda patolojik bulgulara göre mastitisler genel olarak, subklinik ve klinik mastitis olarak iki sınıfa ayrılmıştır (Eskiizmirli, 2004; Deveci, 2007).

#### **2.3.1. Klinik mastitis**

Memede ve sütte gözle görülebilir değişikliklerin bulunduğu bir hastalıktır. Klinik mastitisin süreci hastalığa sebep olan etkenin virulansına ve hayvanın savunma sisteminin etkinliğine göre değişebilir. Bazen bir ya da birden çok meme lobunda, süt salgılanması tümüyle durmuş olabilir. Sütte renk farklılıkları, koku, sulanma ve pıhtı görülebilir. Klinik mastitis, yangının oluşma zamanına göre perakut, akut, subakut ve kronik mastitis diye sınıflandırılmaktadır (Baştan, 2002).

##### **a) Perakut mastitis:**

Memede ani bir şekilde, sütte serözite ve ciddi yangı ile ortaya çıkar. Perakut mastitisin pek çok sebebi olabilir. Septisemiye bağlı sistemik hastalık sonucu iştah kaybı, toksemi, rumen motilitesinde azalma, dehidrasyon, sıcaklık artışı ve kimi zaman da ölüm ile sonuçlanabilir (Alaçam ve ark., 1986; Baştan, 2007). Yangının nedeni enzimler, toksinler veya lökosit ürünleri olabileceği gibi mikroorganizmalarda olabilir (Anonim, 1996).

### **b) Akut mastitis:**

Bu tip mastitisler aniden ortaya çıkıp orta şiddetli inflamasyona sebep olur. Sütün yapısında seröz/fibrinli oluşumlar gözlenebilir (Alaçam ve ark., 1986; Baştan, 2007). Rumen fonksiyonlarında azalma, ilgi kaybı, dehidrasyon ve ateş gibi semptomlar görülebilir ancak perakuta göre daha hafif seyreder (Anonim, 1996).

### **c) Subakut mastitis:**

Mastitisin bu formunda akut ve perakut mastitislerde görülebilen şiddetli lokal ve genel semptomlar oluşmaz. Bu tip mastitislerde belirtiler ağır ağır gelişir. Hastalığın başlangıcında sağım güçlükleri ve süt içersinde pıhtılar görülebilir. Enfeksiyonun ilerlemesi sonucunda memede kızarıklık, ısı artışı, ağrı ve şişlik gelişir. Hayvanın verdiği süt miktarı düşer ve memeden prulent, seröz ya da seroprulent bir içerik salgılanır (Batu, 1978; Büyükpamukçu, 1980; Batu, 1991; Philpot ve Nickerson, 1991; Harmon, 1994).

### **d) Kronik mastitis:**

Mastitisin uzun zaman devam etmesini takiben meme yapısında fibröz oluşumların geliştiği görülmektedir. Kronik mastitis gösteren hayvanlarda genel semptomlar görülmez. Meme yapısında meydana gelen değişiklikler çoğunlukla kalıcı olur, enfeksiyon bitse bile daha sonraki süreçte hayvanın süt veriminde düşme ve tümüyle kesilme görülebilir (Aytuğ ve ark., 1989).

### **2.3.2. Subklinik mastitis**

Subklinik mastitis, klinik mastitis türlerine göre daha yaygındır, fakat memede ve sütte görülebilir değişimler oluşmadan ortaya çıkar. Semptomlar görülmeden oluştuğu için subklinik mastitisin teşhisi oldukça zordur ve büyük kayıplara sebep olabilir. Süt üretiminde azalma ve süt kalitesinde düşme gözlenir. Teşhisi enfekte mikroorganizmaların süt içersinden izolasyonu ve sınıflandırılması ya da süt içersindeki yangısal ürünlerin ortaya çıkarılması ile mümkündür (Aytuğ ve ark., 1989). Bu enfeksiyonların diğer bir özelliği klinik mastitise dönüşebilmesi ya da subklinik olarak memede uzun zaman devam edebilmesidir (Baştan, 2010).

Ülkemizde son yıllarda süt sığırcılığında yüksek verime sahip kültür ırklarının kullanılması süt üretimindeki artış ile beraber mastitis, özellikle de subklinik mastitis vakalarının artması önemli miktarda ekonomik kayıplara sebep olmuştur. Koyun sürülerinde mastitis ile ilişkili en önemli kayıplar subklinik mastitis sebebiyle meydana gelmektedir. Süt miktarının düşmesi ve süt içerisindeki elementlerin bazılarının azalması sebebiyle, kayıplar özellikle kuzu ölümleri ya da beslenme bozukluğuna sahip kuzular, sütün işlenmesinde meydana gelen zorluklar ve hastalığa sahip hayvanların sürü içersinden erken dışlanmasıyla sonuçlanmaktadır (Pir Yağcı, 2005).

#### **2.4. Mastitisin Patogenezi**

Farklı pek çok etken memede yangı oluşmasına sebep olur. Memede enfeksiyon oluşumuna neden olan bu etkenlerin memeye giriş ve dokudaki yayılışı 3 farklı yol ile olmaktadır.

- 1- Galaktojen enfeksiyon: Meme başındaki delikten memeye giren etken, süt kanalları yolu ile meme dokusu içersinde yayılır.
- 2- Yara enfeksiyonu: Meme üzerinde ve meme başı derisinde meydana gelen yaralar sonucu memeye giren etkenler burada enfeksiyona sebep olurlar.
- 3- Lenfo-hematojen enfeksiyon: Vücutta herhangi bir bölgede bulunan hastalık odağından lenf ve kan yoluyla mastitise sebep olan etkenler memeye gelir. (Berkin ve Milli, 1984; Oliver ve Sordillo, 1988; Deveci ve ark., 1994).

Bu yollar ile meme içersine gelen mikroorganizmalar her zaman hastalık oluşumuna sebep olmayabilir. Hastalığın meydana gelebilmesi için etkenin meme içersine girmesi, burada üremesi, meme içersinde üreyen etkenin yayılması ve yangı meydana getirmesi gerekir. Bu olayların meydana gelmesi meme içersine giren mikroorganizmaların sayısına, virulansına, vücut ve memenin direncine bağlıdır. (Henderson, 1974; Berkin ve Milli, 1984; Oliver ve Sordillo, 1988; Blood ve Deveci ve ark., 1994; Harmon, 1994).

## 2.5. Mastitisin Teşhisi

Teşhis, hayvanın, memenin ve hayvanın sütünün klinik muayenesi, süt içersinde fiziksel, kimyasal, hücrenel ve mikrobiyolojik muayeneler sonucunda konulabilir (Batu, 1979; Akay,1984; Kılıçoğlu, 1984; İzgür ve Kılıçoğlu, 1984; Batu, 1991; Devenci ve ark, 1994).

Hayvanın memelerinde yapılacak klinik muayenede yaşı, laktasyon dönemi, beslenme ve bakım şartları, süt çıkışında görülen anormallikler ve daha önce geçirmiş olduğu hastalıklar dikkate alınır (Öztürk, 2007).

İnspeksiyon ve palpasyon ile memedeki dış görüntüye, meme lobları ve başları büyüklüğüne, şekline, memenin baş ve derisinin görünümüne göre hastalığın teşhisi yapılabilmektedir. Süt miktarında düşüş, sütün kanlı, fibrinli, irinli ya da pıhtılaşmış oluşu, meme içersinden seröz, purulent ya da seropurulent bir akıntının gelişi hastalığın süt içinde oluşturduğu farklılaşmalardır (Kılıçoğlu, 1984; İzgür, 1984; İzgür ve Kılıçoğlu, 1984; Jones ve Ward, 1989; Jones, 1990).

Memede enfeksiyon oluşmuşsa sütün içeriğinde de bazı değişiklikler olmaktadır. Enfeksiyon oluşumuna bağlı olarak süt içeriğinde lökosit miktarı artar. Fakat sağlıklı olan bir memede, kan-meme bariyeri sebebiyle lökositlerin süt içerisine geçişi sınırlıdır. Mastitiste kan-meme bariyerinin geçirgenliği yükselir ve bu sebeple süt içerisine fazla sayıda lökosit geçebilir. Lökositlerin süte normalden fazla geçmesi sonucu sütün bileşimi kanın içeriğine benzemeye başlar. Kandaki pH değeri ve klor miktarı sütün içeriğinden yüksek olmasına rağmen glukoz, yağ ve kazein miktarı süte göre daha düşüktür. Enfeksiyon sonucunda lökosit miktarındaki yükselme sonucu süt içeriğindeki klor miktarı artar, laktoz ve potasyum miktarları düşer. Sütteki klor miktarının artması sonucu sütteki yağ ve kazein düzeyleri azalır. (Baştan, 2002). Sütün pH değerinin ölçülmesi ile de sütte enfeksiyon olup olmadığı anlaşılabilir. Hayvandan taze sağılmış sütün pH'sı hafif asidik olarak görülür (pH 6,5), hasta hayvanın sütünün pH'sı ise hafif alkaliktir (Öztürk, 2007).

### 2.5.1. Sütteki somatik hücre sayısı (SCC)

Süt içeriğinde normalde nötrofil, lenfosit, makrofaj ve çok az miktarlarda meme bezi epitel hücreleri bulundurulabilir (Colditz ve Watson, 1985). Memenin gösterdiği patolojik ve fizyolojik duruma göre süt içeriğindeki hücrelerin çeşitliliği ve miktarlarında değişiklikler görülebilir. Meme dokusunda bulunan epitelyum hücreleri fizyolojik olarak ya da meme dokusunda oluşan yıkım sonucu ile süte geçebilirler (Schalm ve ark., 1971; Nickerson, 1985). Sağlıklı bir inekte laktasyon döneminde 1 ml sütte yaklaşık 200.000 hücre bulunabilir, bu hücrelerin %60'ını makrofajlardan, %28'ini lenfositlerden ve %12'sini polimorf nükleer lökositlerden meydana gelir (Concha, 1986). Sağlıklı bir koyunun sütünde ise, bu hücrelerin %50-70'ini makrofajlar, %15-40'ını polimorf nükleer lökositler, %6-14'ünü lenfositler ve %5'ini ise farklı hücre yapıları (eozinofiller, epitel hücreler) oluşturmaktadır (Pir Yağcı, 2008).

Hastalığı oluşturan mikroorganizmalar memeye girer, çoğalıp bir yangı oluştururlar. Memeye giren bu mikroorganizmaları parçalamak için kandan meme içersine lökositler aktarılır. Meme içersindeki bakteri miktarının yükselmesine göre lökosit miktarı ve buna bağlı olarak hücre sayısı da artış gösterir. Bu sebeple süt içeriğindeki ortalama hücre miktarı hayvanın meme sağlığı ile ilgili bilgi sağlar (Pearson ve ark., 1971; Taylor ve Phillips, 1972; Chamings, 1984; Philpot ve Nickerson, 1991). Süt içersinde makrofajlar da görülebilir ayrıca meme yapısında yangı meydana geldiği zaman memede bulunan kan damarlarının geçirgenliği artar bunun sonucunda polimorf nükleer lökositler ve nötrofiller kandan süt içeriğine geçebilir (Jain ve ark., 1972; Hill, 1986).

Süt içeriğindeki somatik hücre sayısı değişik faktörlerle değişse de genellikle meme sağlığının bir göstergesidir (Dohok ve Meek, 1982). Sütteki somatik hücre sayısının subklinik mastitiste teşhis için önemli olduğu uzun yıllardır kabul edilmektedir (Andwers ve ark., 1983; Madsen, 1986). Sağlıklı bir hayvanı sütü ile mastitisli sütteki SCC arasında istatistiki yönden önemli farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,01$ ) (Dhakal, 1995).

Sütteki SCC mastitisten başka hayvanın yaşı, bu testin yapıldığı ay ve mevsim, süt verimi ve laktasyon dönemine göre farklılıklar göstermektedir (Braund ve Schultz,

1963; Frank ve Pounden, 1961). Çiğ sütte düşük sayıda olan SCC mastitis durumunda normalin üzerine görülmektedir. Bundan ötürü mastitisli sütlerin insan sağlığını tehdidini önlemek amacıyla 14 Şubat 2000 tarihinde yayınlanan Türk Gıda Kodeksi ile çiğ ve ısıtılmış sütlerle alakalı olarak somatik hücre sayısının mililitrede  $5 \times 10^5$  adetten düşük olması gerektiği bildirilmektedir (Kesenkaş ve ark., 2001). Koyun sütü içerisindeki  $SCC > 1.000.000$  olduğunda peynir üretiminde veriminin düştüğü ve peynirde acımsı bir tat oluştuğu ileri sürülmektedir (Jaeggi ve ark., 2003).

Koyun sütlerinde mililitresindeki normal SCC'yla ilgili değişik görüşler bulunmaktadır. Bazı görüşler koyun sütünde mililitresindeki normal SCC'nın 100.000 ile  $1.574 \times 10^6$  değerleri arasında olduğunu söylerken (Green, 1984; Fthenakis ve ark., 1991; Nizamlıoğlu ve Erganiş, 1991; Regi ve ark., 1991; Bergonier ve ark., 2003; Mavrogenis ve ark., 1995) farklı bir görüş olarak da sağlıklı bir koyunun memesindeki SCC için eşik değerin 250.000 hücre/ml olması söylenmektedir (Menzies, 2000; Pengov, 2001).

Subklinik mastitis durumlarında ml'deki SCC'nın artarak 600.000 ile  $3.99 \times 10^6$  arasına ulaştığı bildirilmektedir (Green, 1984; Fthenakis ve ark., 1991; Mavrogenis ve ark., 1995; Billon ve Decremoux, 1998). Fakat; hayvanda immun cevap meydana gelmeden önce, enfeksiyon oluşumunun başlangıç dönemlerinde alınan süt numunelerinin bakteriyolojik bakımdan pozitif oluşuna rağmen düşük SCC'na sahip olabileceği söylenmektedir (Fthenakis ve ark., 1991). Sütçü koyun ırkları için fizyolojik ve patolojik olarak SCC'nın  $0.25 - 1.0 \times 10^6$  hücre/ml olması gerektiği bildirilmektedir (El-Saied ve ark., 1998; Pengov, 2001).

Laboratuvara mikrobiyolojik muayeneye gönderilmesi gerekli olan süt numunesindeki SCC ile ilgili pekçok görüş bulunmaktadır. Ortalama miktarlar 100.000 ile 1.000.000 ve üstü arasında değişmekte ve kabul gören miktar 1.000.000 olarak kabullenilmektedir (Anonim, 1981; Menzies, 2000; Bergonier ve ark., 2003).

Süt içeriğindeki SCC'nin artışı sonucunda sütün kazein, total protein, laktoz, yağsız kuru madde, total kuru madde, fosfor, kalsiyum ve potasyum miktarı azalmakta, immunoglobulinler, bazı enzimler, sodyum, klor ve bazı iz elementlerin miktarı yükselmektedir. Bu içerik değişikliği sonucu süt diyetel özelliğini kaybetmekte, sütün

işlenmesi ve sütte elde edilen maddelerin üretiminde de çok fazla soruna sebep olmaktadır (Philpot ve Nickerson, 1991; Sargeant ve ark., 1998).

Avrupa birliği 1994 yılından geçerli olacak şekilde süt endüstrisinde çiğ süt pazarında tank sütleri için 400.000 hücre/ml, bireysel süt numunelerinde 250.000 hücre/ml üst sınırlarını kabul etmiştir (Loufter ve ark., 1995; Smith ve Hogan, 1996).

### **2.5.2. Kaliforniya mastitis testi (CMT)**

Uzun zamandır kullanılan CMT ilk kez 1957 senesinde (Schalm ve Noorlander, 1957) tarafından keşfedilmiştir. Bu zamandan beri CMT, subklinik mastitis teşhisinde yaygın bir şekilde yer almaktadır. CMT saha koşullarında hızlı sonuçlar vermesi, ucuz ve pratik olması sebebiyle yaygın bir kullanıma sahiptir (Daniel ve ark., 1966).

CMT, mastitis teşhisi için sütteki DNA bileşimini yani somatik hücre bileşimini ölçebilen kolay bir yöntemdir (Schalm ve Noorlander, 1957; Gray ve Schalm, 1960; Marshall ve Edmondson, 1962; Kapur ve Singh, 1977). Bu testin temelini, süt içerisinde bulunan hücre materyali ile CMT çözeltisi arasındaki kimyasal tepkime oluşturur (Aynsley ve Buol, 1965). CMT çözeltisi içerisinde anyonik bir deterjan olan sodyum-dodesil sülfat (SDS) bulunur ve bu madde somatik hücrelerin zar ve çekirdeklerini ayırır. Bu olay sonucunda DNA serbest kalarak SDS ile geçici bir jel yapısı meydana getirir. Sütün içerisindeki DNA miktarına göre göre jelin kıvamı doğru orantılı olarak artar (Schalm ve ark., 1971). CMT çözeltilerinin bazıları içerisinde brom-tymol blue (BTB) ve brom-cresol purple (BCP) gibi pH indikatörleri içerebilir. Bu maddeler varlığında sağlıklı süte göre alkali olan mastitisli sütün rengi mor olur (Atroshi ve ark., 1986).

### **2.5.3. Mikrobiyolojik muayeneler**

Sağım yapılmadan evvel aseptik şartlarda alınan süt numuneleri en kısa sürede laboratuvara götürülmelidir. İlk önce laboratuvarında bakteriyoskopi yapılır. Mikroskopik incelemede gözükten bakteri ve hücre türleri kaydedilir (Aydın ve Akay, 1984). Sonrasında alınan numuneler uygun besi yerine ekilerek inkübasyon için bırakılır. 35-37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılır daha sonra numunelerin değerlendirilmesi gerçekleştirilir. Kültür sonucu negatif çıkan fakat fiziksel bakımdan anormal olan süt

numunelerinde ilaç tedavisinin varlığı ve bu sebeple inhibitör faktörlerin olabileceği düşünülebilir. Bu şekilde mikroorganizmaların identifikasyonunu sağlamak için süt numuneleri santrifüj edilerek ve çöktelden yapılan smearlerin mikroskopik olarak incelenmesi yapılır. İdentifikasyon yapılırken, kanlı agar içersinde iki çeşitten fazla koloni bulunması süt numunelerinin kontamine olduğu düşündürülebilir. Ekim tamamlandığında besi yerlerinde üremiş olan mikroorganizmaların biyokimyasal, koloni morfolojisi ve diğer mikrobiyolojik özellikleri değerlendirilir. Besi yerlerinden izole edilen etkenlerin patojen olup olmadıkları daha sonra deney hayvanlarına enjekte edilerek saptanır (Anonim, 1981; Aydın ve Akay, 1984; Pir Yağcı, 2008).

#### **2.5.4. Sütün elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi**

Mastitis oluştuğunda sütte  $Na^+$  ve  $Cl^-$  iyonlarının derişiminde artış  $K^+$  iyon derişiminde ve laktoz miktarında azalma görülür. Bu değişiklikler sonucunda sütün elektriksel açıdan iletkenliği artar. İletkenlikteki bu değişiklik elde taşınabilen cihazlar ya da sağım sisteminde bulunan cihazlar yardımıyla ölçülebilir. Bilgisayarlı sağım sistemlerinde iletkenlik her sağımda ölçülerek kaydedilir. Elde edilen bilgilerin analizi sağlanarak elektriksel iletkenliği değişikliğe uğrayan hayvan tesbit edilir (Hillerton, 2000; Viguier ve ark., 2009; Anonim, 2011). Fakat tek başına elektrik iletkenliği mastitisin teşhisi için yeterli değildir (Pyörala, 2003). Sütteki elektrik iletkenliği; sütün miktarı, bileşimi, ısısı, mevsim, hayvanın ırkı, laktasyon dönemi, bakteriyel flora, sağım sıklığı ve numunelerin sağım başlangıcı ya da sonunda alınmasına göre farklılık göstermektedir (Baştan ve ark., 1997a; Baştan ve ark., 1997b; Baştan, 2002; Pir Yağcı, 2008).

#### **2.5.5. Biyokimyasal yöntemler**

Hayvan mastitis olduğunda meydana gelen ilk patolojik farklılık, süt içersine kandan albümin geçişidir. Bunun yanında sütün pH'sı içersine klor, sodyum ve bikarbonat geçişinin artması ile değişmektedir. Kazeinin sentezi düşerken, laktozun sentezi tamamen durur (Ergun ve Mert, 1984; Alaçam, 1990). Hasta olmayan hayvanın sütüne göre mastitisli hayvanın sütünde glikojen ve histamin içeriği yüksektir. Lökosit miktarının artması glikojen artışına sebep olur. Yangı sırasında süt içersine özgü olan pek çok enzimin aktivitesinde değişiklikler olur. Sütün sentezi ile ilgili görev yapan

enzimler azalırken yangıyla bağlantılı enzimler artar (Kılıçoğlu, 1984; Alaçam, 1997, Pir Yağcı, 2008).

**a. Enzimler:**

Günümüzde kullanılmakta olan somatik hücre sayımı, CMT ve mikrobiyolojik inceleme gibi mastitis tanı yöntemlerinin yanında kullanılmakta olan bazı enzimler de bulunmaktadır. N-asetil- $\beta$ -D glukozaminidaz (NA-Gase), laktat dehidrogenaz (LDH), alkalin fosfataz (ALP) enzimleri tanıda kullanılan enzimlerdir (Nizamlioğlu ve ark., 1989a; Nizamlioğlu ve ark., 1989b; Nizamlioğlu ve ark., 1992).

**b. Mineraller:**

Süt içeriğindeki en önemli mineraller sodyum, fosfor, kalsiyum, kükürt, potasyum, magnezyum ve klor'dur. Sütte çinko, bakır, flor, manganez, demir, selenyum ve molibden eser miktarda bulunabilir (Baştan, 2002). Mastitisli hayvanlarda mastitis oluşumu sonrası miktarları değişen başlıca iyonlar potasyum, klor ve sodyumdur. Bakteriyel enfeksiyon sonucu süt içeriğinde  $K^+$  azalırken,  $Cl^-$  ve  $Na^+$  derişimi yükselir, potasyumun düşüşü ile pH'da artar. Ayrıca yangı sebebiyle sütteki yağ içeriği de düşer (Alaçam, 1997; Baştan ve ark., 1997a; Baştan ve ark., 1997b). Subklinik mastitisli koyunlar arasında yapılmış bir araştırmada bu hayvanlardan alınan sütlerdeki  $Na^+$  derişiminin önemli oranda yükseldiği,  $K^+$  derişiminde önemsiz değişiklikler meydana geldiği belirtilmiştir (Nizamlioğlu ve ark., 1992).

Subklinik mastitisli koyunlarda yapılan bir çalışmada mastitisli sütlerin değerlerinin önemli derecede arttığı, değerlerinde meydana gelen değişimlerin ise önemsiz olduğu belirtilirken, başka bir çalışmada ise hasta olmayan ve subklinik mastitisli olan hayvanlardan alınan süt numuneleri arasında sodyum ve klor derişimleri bakımından önemli farklar olduğu görülmüş. Bunun sonucunda klor ve sodyum derişimlerinin koyunlarda subklinik mastitis tanısı için öteki yöntemler ile birlikte bir belirteç olarak kullanılabilceği ifade edilmiştir (Pir Yağcı ve Kaymaz, 2006).

### c. Diğer yöntemler:

Süt içersinde sitokin tespiti (Persson-Waller ve ark., 1997) ve *Staph. aureus* antikorlarını tespit etmek için geliştirilmiş olan sütte antikor tespiti (Hurley ve Morin, 2002) mastitisin tanısı için kullanılmakta olan öteki yöntemlerdir.

### 2.6. Mastitisin Tedavisi

Mastitisli hayvanlarda tedavinin erken olması, tedavi için uygun metodunun seçimi, uygulama şekli ve zamanı öneme haizdir (Kalkan ve Rişvanlı, 1996). Mastitisin hayvana verdiği zarar, yangının meme lobunda meydana getirdiği zarara ve hayvanın tedaviye karşı gösterdiği dirence göre değişmektedir. Bu hastalıktan korunma daha önemli ve ekonomik olacaktır (Alaçam, 1984; Blowey, 1984; Philpot ve Nickerson, 1991; Deveci ve ark., 1994; Kalkan ve Rişvanlı, 1996). Tüm hastalıklar için olduğu gibi bu hastalık için de kontrol ve korunma, erken teşhis ve etkili bir tedavi mücadele için önemli etkenlerdir. Hastalıktan korunmak için hayvanın bulunduğu çevrenin ve sağımda kullanılan materyallerin temizliği, sağımdan önce ve sonra hijyen açısından dikkat, hayvanın sağım işleminin zamanında ve düzenli periyotlar halinde yapılması, hayvanın bakım ve beslenmesinde özen gösterilmesi, hastalığa sahip hayvanların ayrılması ya da sürüye katılmaması ve kuru dönem tedavisi gibi yöntemler önem arz etmektedir (Şimşek, 2002).

İlaç kullanımı bu hayvanların tedavisi için en etkili yol olarak görülmektedir. Tedavinin başarısı için aşağıdaki noktalara dikkat edilmesi gerekmektedir:

- Tedavi sürecinin doğru belirlenmesi
- Tedavi için kullanılan antibiyotiğin seçiminde yan etkisinin en az olanının tercih edilmesi
- Tedavi için kullanılan antibiyotiğin etkisinin artmasını sağlayacak destekleyici uygulamanın yapılması
- İlaç dozunun ayarlanmasında hayvanın bulunduğu dönemin dikkate alınması
- Meme içersinde fibroz doku bulunurluğuna dikkat edilmesi

-Tedavide hijyen kurallarına dikkat edilmesi

-Meme loblarının tümüyle boşaltılması (Alaçam, 1984; Batu, 1991; Philpot ve Nickerson, 1991; Deveci ve ark., 1994).

## **2.7. Mastitisten Koruma ve Kontrol**

Hayvancılıkta hayvan sahibi için ekonomik olması en önemli durumdur. Hasta hayvanın tedavisi zor olmakla birlikte aynı zamanda ekonomik açıdan masraflıdır. Bu sebeple hayvanı mastitis olmadan önce korumak çok daha etkili bir yöntemdir. Bunu sağlamak için hayvanı koruma ve kontrol yöntemleri geliştirilmiş ve etkili de olmaktadır (Faull ve ark., 1984; Philpot ve Nickerson, 1991).

Bu yöntemler:

1- Hayvanın bakım ve beslenme koşullarının iyileştirilmesi

2- Mastitise sebep olacak etkenlerinin ortadan kaldırılması

3- Hijyen kurallarına tamamen uyulması (Schalm ve ark., 1971; Dodd, 1983).

Bu koruma ve kontrol yöntemlerinin hayvan sahiplerince uygulanabilmesi için, hayvan yetiştiricilerin eğitilmesi gerekmektedir. Hayvana mastitis teşhisi konduğunda acil tedaviye başlanmalı, eğer hastalık ilerlemiş ve tedavisi güç ise bu hayvan sürü içersinden çıkarılmalıdır (Schalm ve ark., 1971; Faull ve ark., 1984; Batu, 1991; Philpot ve Nickerson, 1991). Sürüye sürü dışından gelen hayvan belli bir zaman karantinaya alınarak bekletilmeli sağlıklı olduğundan emin olduğunda sürüye katılmalıdır. Memesinde şekil olarak bozukluk olan hayvan sürüden ayrılmalıdır. Barınağın büyüklüğü, hayvan sayısına uygun olmalı bunun yanında havalandırma ve ışıklandırma sistemi de düzgün olmalıdır (Schalm ve ark., 1971; Deveci ve ark., 1994).

Sağım makinelerinin hijyenine dikkat edilmeli, sağımdan önce ve sağımdan sonra hayvanın memesi dezenfektan yardımıyla temizlenmelidir. Düzenli aralıklarla barınağın duvarları ve zemini uygun bir dezenfektan ile yıkanmalıdır (Galton ve ark., 1982; Faull ve ark., 1984; Deveci ve ark., 1994).

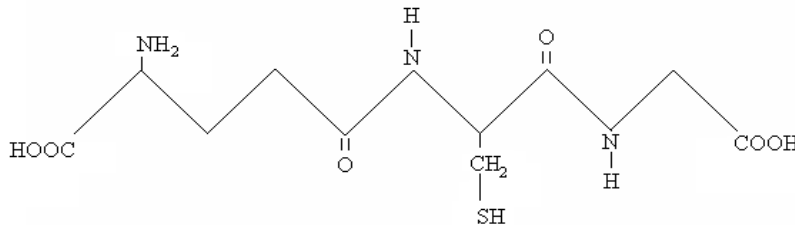
## 2.8. Antioksidantlar

En dış orbitallerinde eşlenmemiş  $e^-$  bulunduran ömrü kısa reaktif molekül veya atomlar serbest radikaller şeklinde tanımlanır, serbest radikallerin etkilerini önlemeye çalışan yapılara ise antioksidant adı verilir. Serbest radikaller aslında metabolizmanın normal ürünleriyken, etki olarak gen mutasyonu, moleküler değişim, doku hücre yıkımı ve yaşlanmaya sebep olmaktadır. En sık görülen serbest radikaller; süperoksit ( $O_2^-$ ), hidrojen ( $H^+$ ), nitrojenoksit (NO), peroksit radikali ( $HO_2$ ), hidroksil (OH), nitrojendioksit ( $NO_2$ )'dir (Dündar ve Aslan, 2000 ).

Antioksidantlar bu serbest radikalleri elemine eden sistemlerdir. Radikal madde üretilmesinin engellenmesi, antioksidant savunma, serbest radikallerin yok edilmesi, sekonder zincir reaksiyonlarını durdurmak, antioksidant madde kapasitesinin yükseltilmesi ve hücre onarımında görevli sistemlerdir. Seruloplazmin, A vitamini, C vitamini, süperoksit dismutaz, tokoferol, l glutatyon peroksidaz, glutatyon, glukoz, ürik asit gibi yapılar antioksidant özellik gösteren maddelerdir (Dündar ve Aslan, 2000). Alınan besinlerde bulunan vitaminler kanın vitamin ihtiyacını karşılayabilir. Süt içerisindeki ve diğer besinlerdeki vitamin oranı ağırlık artışı, mortalite, enfeksiyonlara karşı korunmada ve üremede önemlidir (İmik ve ark., 1998).

### 2.8.1. GSH (Glutatyon)

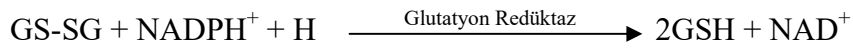
GSH (Glutatyon), ilk defa 1888 yılında De Rey Pailhade eliyle saflaştırılmış, 1921 yılında Hopkins eliyle de kristalleştirilmiş ardından 1929 yılında kimyasal yapısı ortaya konmuş bir tripeptiddir (Gözükara, 1989). GSH'ın yapısında sistein, glisinden ve glutamik asit bulunur (Tucker, 1971).



Şekil 1. GSH'ın açık yapısı (Stryer, 1994).

Oksidasyon ve redüksiyon olaylarında, hücre membranında amino asitlerin taşınması işinde görev yapmaktadır. GSH, glutatyonun redükte halidir; buradaki SH sisteindeki sülfidril grubunu gösterir ve yapının fonksiyonel kısmıdır (Stryer, 1994).

Hücreyi, reaktif oksijen çeşitlerine, serbest radikallere, ekzojen ve endojen kaynaklı toksik yapılara karşı korumaktadır (Rose, 1984; Murray ve ark, 1993). Glutatyonların ikisi disülfid bağı ile bağlanarak okside glutatyon (GS-SG) oluşur. Oluşan bu yapı sonradan pentoz fosfat geçidi ile sentezlenmiş olan NADPH + H<sup>+</sup> yapısıyla reaksiyona girip, redükte halini oluşturur (Gözükara, 1989).

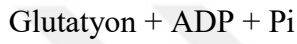
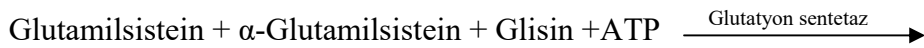
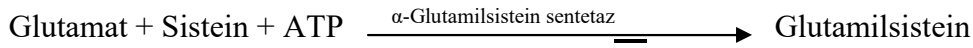


Redükte glutatyon, yapısında serbest halde sülfidril grubu bulunduran bir tripeptit yapısıdır. Redükte halinde eritrosit hücre proteinleri ve hemoglobinin sistein artıklarını koruyan bir sülfidril tamponu şeklinde görev yapar. Glutatyonun redükte yapısının organik peroksitler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in neden olduğu detoksifikasyon olaylarında hayati görevi vardır (Murray ve ark, 1993; Stryer, 1994). Ayrıca glutatyonun eritrositlerin hücre yapılarının devamlılığı ve hemoglobin yapısında bulunan demirin ferro değerliğinde kalması için de gerekli olduğu söylenmektedir. İçersinde daha az miktarda redükte glutatyon bulunduran hücreler, hemolize olmaya daha yatkındır (Stryer, 1994).

Hücre içersinde toplam GSH proteine bağlı ya da serbest şekilde bulunabilir. Hücredeki serbest GSH'ın önemli bir bölümü indirgenmiş formdadır ve oksidatif stres etkisiyle oksitlenmiş forma dönüşür. Tekrar antioksidan savunma işi için glutatyon redüktaz enzimi vasıtasıyla indirgenmesi gerekmektedir (Pastore ve ark., 2003). GSH'ın redoks kabiliyeti, redükte ve okside formlarının miktarlarının oranına (GSH/GSSG) bağlıdır. Esasen GSH/GSSG oranı genelde 100'ün üzerinde bulunmaktadır, fakat pekçok oksidatif stres modelinde GSH/GSSG oranı 1-10 aralığında görülmektedir (Chai ve ark, 1994). Glutatyonun organizmadaki vazifeleri, hücreyi reaktif oksijen türevlerine karşı savunarak hücre içersinde redoks dengesini sağlamak, hücre membranının dengesini sağlamak, amino asitlerin taşınması, DNA, protein sentezi ve ksenobiyotiklerin organizmadan uzaklaştırılması gibi fizyolojik olaylarda görev yapmaktadır (Çavdar ve ark., 2006).

Kanda bulunan GSH'ın büyük bir çoğunluğu alyuvarlarda bulunduğu ve redükte özellikle olduğu için alyuvarları her türlü oksidatif zarara karşı savunduğu bildirilmiştir (Tucker, 1971; Kalaycıoğlu, 1984).

GSH alyuvarlarda üç basamaklı bir sistem ile sentez edilir. Sentez basamaklarında herhangi bir genetik bozukluk meydana gelmesi, GSH eksikliğine neden olur. (Tucker, 1971; Kalaycıoğlu, 1984).



Hücrede membran yapısındaki doymamış yağların peroksitler vasıtasıyla oksitlenmesi sonucunda, patolojik değişiklikler oluşur. Vücutta meydana gelen akciğer, kalp, sindirim, kas, savunma sistemi ile ilgili hastalıklar, arteroskleroz, yaşlanma, diabet, romatoid artrit, kanser gibi pekçok patolojik duruma serbest radikallerin sebep olduğu düşünülmektedir. GSH çeşitli ilaçlar ve karsinojenler gibi farklı toksik yapılara karşı önemli bir savunma yapısıdır (Sinclair ve ark., 1990; Janssen ve ark., 1993; Yagi, 1994). Koyunlarda yapılan bir çalışmada MDA düzeylerinin subklinik mastitis durumunda arttığı gözlenmiştir (Zengin ve ark., 2017).

### 2.8.2. Seruloplazmin

Memeli ve kanatlılarda serumda bulunan bakırın büyük bir kısmı bir  $\alpha$ -globulin protein olan seruloplazminin yapısında bulunur. Curzon ve Vallet (1960)'e göre bu protein, ilk defa 1948'de domuz ve insan plazmasından Laurel ve Holmberg tarafından ayrılmış ve mavi rengi sebebiyle adı seruloplazmin olarak verilmiştir.

Seruloplazmin molekül ağırlığı 130.000 daltondur ve bakırı bünyesine bağlayan bir glikoproteindir. Yakın zamanda yapılan klinik çalışmalar, seruloplazminin 124-134 bin daltonluk bir molekül ağırlığına sahip olduğu ve seruloplazmin molekülü dissosiasyon kamçılayıcı etkenlerle karşı karşıya kaldığında molekül ağırlığı sırayla 16.000, 53.000 ve 69.000 olan 3 alt ünite (L, H, HL) oluştuğu, aminoasit olarak N-

terminal ucunda valin ve lizin içeren L<sub>2</sub>H<sub>2</sub> tetramerinden meydana geldiği ileri sürülmüştür (Cederbland, 1979).

Seruloplazmin karaciğerde bulunan paransim hücreleri tarafından sentez edilir (Amer ve ark., 1975; Chang ve ark., 1975; Chang ve ark., 1976). İnsanlarda seruloplazmin sentezi fetusta döllemenin 32. günü itibari ile başladığı bildirilmiştir. Domuzda durum farklıdır onlarda fötusta sentez olmamaktadır. Ancak doğumdan 10-15 saat sonra ölçülebilir seruloplazmin etkinliği saptanabilmektedir (Chang ve ark., 1975). İnsan serumunda seruloplazmin miktarı doğum gerçekleştikten sonra artar ve yetişkin insanların miktarına 1-2 sene içerisinde ulaşır (Cederblad, 1979).

Gebelik döneminde de serumda seruloplazmin miktarı artmaktadır. Burrows ve Pekala, (1971) insanlarda gebelikte serumda seruloplazmin düzeylerinin gebeliğin başlamasıyla arttığı ve en üst seviyeye 22. haftada geldikten sonra miktarının azaldığı, doğumdan önce miktarının tekrar arttığını saptamışlardır. Ancak yapılan başka bir çalışmada serum seruloplazmin miktarının gebelikte üçüncü aydan itibaren artmaya başladığı ve dördüncü ayda en üst seviyeye ulaştığı doğum öncesinde de miktarının yine azaldığını bildirmektedirler (Hankiewicz ve Sevecek, 1974).

Serum seruloplazmin varlığı organizma içerisinde bakır depoları ile birbirine bağımlıdır ve serumdaki seruloplazmin varlığının %97 oranında azalması depo organlarında bakırın tükendiğini göstermektedir. Aynı araştırmacılar bu sırada serum bakır miktarındaki düşüşün %46 dolayında bulunduğunu bildirmişlerdir (Kirschgessner ve ark., 1978). Bakır yetmezliği olan sıçanlarda serum seruloplazmin etkinlikleri serum Cu değerlerine oranla daha hızlı bir düşme gösterir ve değerlerde saptanamayacak seviyeye düşer. Bu sıçanlara bakırın oral veya parenteral formları verildiğinde ise seruloplazmin etkinliklerinde yine serum değerlerine göre daha hızlı bir artış görülür (Davies ve Wahle, 1978; Malinowska, 1986).

Bakırın antiagonisti olarak etki gösteren CaCO<sub>3</sub>, Pb (Hemingway ve ark., 1962; Roberts, 1978), Zn, Mo, S (Roberts, 1978), Cd (Ghargariu, 1978) gibi maddeler seruloplazmin düzeylerinde azalmaya sebep olurlar. Bu durum Ilari (1975)'ye göre, bakırın kimyasal kompleksler şeklinde bağlanma yatkınlığıyla açıklanabilir. Selenyumun oral olarak alınması ile serum seruloplazmin düzeylerinin hızla azaldığı, bu

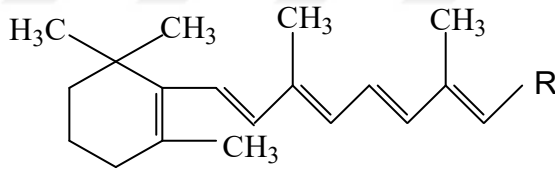
halin karaciğer içersinde depolanmış olan selenyumun seruloplazmin biyosentezini aksatması sonucu olabileceği bildirmektedirler (Amer ve ark., 1975).

Seruloplazmin hücre dışı bir antioksidandır, süperoksit radikallerini nötrleştirirken (Byung, 1994), serbest oksijen radikallerini ise kendi yapısına bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını engelleyici bir etki gösterir (Akkuş, 1995).

### 2.8.3. A Vitamini

A Vitamini, retinol olarak adlandırılan bir alkol türevidir, all-trans ya da 11-cis izomerleri şeklinde özellikle karaciğerde bulunmaktadır. (Montgomery ve ark., 1996). Saf olarak, sarı kristaller şeklinde bulunur. Aseton, kloroform, katı ve sıvı yağlar içersinde kolayca erirken su içersinde erimez (Mert ve ark., 1999).

$\beta$ -karoten A vitamininin metabolik olarak öncü maddesidir, bir bitki pigmenti olan karotenoidler ailesinin üyelerinden biridir.  $\beta$ -karoten, süperoksit radikallerini temizler, singlet oksijeni bastırabilir ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşime girip antioksidan etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Akkuş, 1995).



R = -CH<sub>2</sub>-OH = Retinol = Vitamin A<sub>1</sub> alkol

R = -CO -H = Retinal = Vitamin A<sub>1</sub> aldehit

R = -COOH = Retinoik asit = Vitamin A<sub>1</sub> asit

**Şekil 2.** Vitamin A'nın yapısı (Mert ve ark., 1999).

Oksijen ve ultraviole ışına karşı hassastır, fakat ısıdan çok etkilenmez. Vitamin A Sarı kristaller halindedir ve karotinlerden oluşur. Vitamin A'nın öncü maddesi olan ve provitamin olarak isimlendirilen karotinler  $\beta$ -iyonon halkası içerirler.  $\beta$ -karotin iki başta birer tane  $\beta$ -iyonon halkası bulundurur ve oksidatif olarak parçalanarak iki molekül A vitamini açığa çıkarır. Ancak  $\gamma$ -karotin ve  $\alpha$ -karotin'lerden bir molekül A

vitamini oluşturur. A Vitamini primer bir alkol grubu ve pek çok doymamış bağ olan yapıdan oluşur. A vitamini büyümede görevlidir, aldehit (retinal), alkol (retinol) ve asit (retinoik asit) olarak 3 formda olabilir. Vitamin A doğal olarak iki şekilde bulunur. Bu yapılar; retinol (A<sub>1</sub>) ve 3-dehidroretinol (A<sub>2</sub>)'dür. Memeliler aktif olarak A vitamin sentezleyemedikleri için, provitamin şeklinde aldıktan sonra aktif hale dönüştürürler. Bazı türlerde kaslarda az miktarda karotinoid bulunur. Yapısında klorofil bulunan bitkilerde, bol miktarda karotinoid bulunur. Karotinoidler A Vitamininin provitaminidir ve bitkilerce sentezlenir. Vitamin A<sub>1</sub> memelilerin karaciğerinde, tuzlu suda yaşayan balıklarda yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Vitamin A<sub>2</sub> tatlı suda yaşayan balıklarda bulunur. Ot, süt, yeşil, yonca, kolostum, yumurta sarısı, tereyağı, yapılarında bol miktarda A vitamini bulundurmaktadırlar (Mert ve ark., 1999).

Vitamin A'nın görme olayındaki esas etki ettiği nokta gözün karanlığa adaptasyonunu sağlamaktır (Mert ve ark., 1999). Görme olayında, retinadaki fotoreseptör hücreler olan, konlar ve rodler işlev görür. Konlar renkli görüşü sağlarken, rodler siyah-beyaz görüşü sağlar. Bu iki hücrede görülebilir pigmentlerin oluşumu için A vitaminine ihtiyaç duyar. 11-cis-retinal ile opsin proteini serbest amino grubunun yapmış olduğu schiff bazı aracılığı ile birleşerek görme pigmenti olan rodopsini meydana gelir. Rodopsin, ışığı absorbe ettiği zaman 11-cis-retinal'e dönüşür. Bu izomerleşme, opsin proteini içersindeki konformasyonel değişiklikle alakalıdır. Bu durum, sinyali sinir uyarısına dönüştüren G protein adıyla bilinen heterotrimerik guanin trifosfat-bağlayan proteinin aktifleşmesini sağlar. Sonrasında all-trans-retinal opsinden ayrılır ve aldehit grubunun indirgenmesi sonucu primer alkolü olan all-trans-retinol meydana gelir. Retinol dolaşım içersine katılarak karaciğerde depolanır. İhtiyaç halinde, retinol tekrar dolaşıma katılır ve retina ile all-trans retinal'e sonrasında da izomeri olan 11-cis-retinal'e dönüştürülmek üzere alınır. 11-cis-retinal, opsin ile rodopsin'i tekrar meydana getirmek için birleştiği zaman döngü tamamlanmış olur (Montgomery ve ark., 1996).

Renkli görüş hem kon hem de rod hücrelerinde birbiriyle hemen hemen aynı fotokimyasal olaylar ile gerçekleşir. Ancak, kon hücrelerinden her bir üç farklı renge duyarlı pigment içersinden yani, mavi (430 nm), yeşil (540 nm) ve kırmızı (575 nm)'dan sadece birine sahiptir. Bu üç pigment aynı 11-cis-retinal parçasını

bulundururlar ancak opsinleri birbirinden farklıdır. Bu pigmentlerden her bir değişik maksimum absorpsiyon dalga boyuna sahip olduğundan fotokimyasal reaksiyonu, kendisini uyarmakta olan ışığın üç primer renk bileşeninden yalnızca bir tanesine karşılık vermektedir. Bir kez aktivasyon sağlanınca, aynı rodlardaki rodopsin ile olan şekilde görme döngüsü devam eder (Montgomery ve ark., 1996).

Yalnızca gün ışığında görebilen canlılar, örneğin güvercinler yalnız kon hücreleri bulundururlar, alacakaranlıkta veya gece gören canlılar, mesela baykuşlar sadece rod hücrelerine sahiptirler (Ersoy ve Bayşu, 1986).

A vitamini replasmanı; fotokimyasal olaylarda vitamin A kullanıldığı için, vitaminin sürekli olarak dışarıdan diyet ile alınması gerekmektedir. Eksiklik durumu, vitamin A'nın kanda miktarının azalması ile sonuçlanır ve rodopsinin ışığa maruz kalması sonrasında yenilenmesi için gerekli zaman artar. Karanlığa uyum sağlama şeklinde isimlendirilen bu süreç, dokularda vitamin A miktarı az olduğu durumlarda yavaşlar. A vitamini karaciğer içersinde yüksek miktarda (0,2–2,0 µmol/g karaciğer) depolanır, klinik sorunlara sebep olacak şiddette eksiklik, en azından birkaç ay kadar uzun zamanlar devam etmediği takdirde gözlenmez (Montgomery ve ark., 1996).

Vitamin A yetersizliği durumunda, görme, gelişme, büyüme ve epitel hücrelerin farklılaşmasında düzensizlikler meydana gelir. A vitamininin eksikliği kanser riskini arttırmaktadır. Östrus siklusunda düzensizlikler, böbrek bozuklukları, plasentada gelişim eksikliği, fetal rezorpsiyon, üremede eksiklik ve kongenital bozukluklar A vitamini eksikliği durumunda oluşan bozukluklardır. Retinada meydana gelen dejeneratif bozukluğu izleyen ilk semptom karanlığa adaptasyonda yetersizlik ve gece körlüğüdür. Bunu izleyen sürede, gözde kseroftalmi ve göz konjunktivalarında kurumalar meydana gelir. Bu durumlar A vitamini takviyesi ile düzelmez (Mert ve ark., 1999).

Daha tehlikeli olarak görülebilen bir başka bozukluk ise korneada keratinleşmesidir. Bozukluklar görülmesinin sonrasında körlük oluşur. A vitamini yetersizliği sonucu bağışıklık sisteminin bozulması ve direncin düşmesi hastalıkların daha kolay görülmesini sağlar. A vitaminin vücuda fazla miktarda alınması sonucunda semptom olarak önce kemiklerde lezyonlar görülür. Yanlış A vitamini uygulamalarında veya fazlalığı durumunda hipervitaminozis olayı gözlenir. Pek çok hayvanın günlük

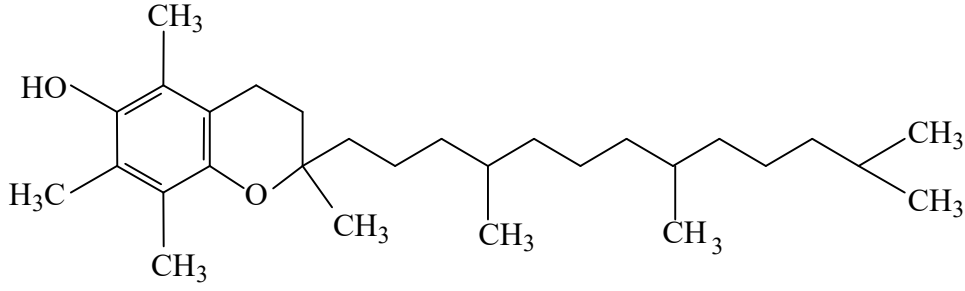
olarak ortalama A vitamini gereksinimi kilogram başına 100–200 IU'dir (IU/kg/gün). Erişkin insanlar için A vitamini gereksinimi günlük 1000 mg'dır. Hayvanlarda verilen besinlerin kuru maddesinde 300–10000 IU A vitamini bulunması gereklidir. 0,3 mg A vitamini, bir IU A vitaminine denk gelmektedir. Gebelik ve laktasyon süreçlerinde bu gereksinim miktarları daha fazla artmaktadır (Mert ve ark., 1999).

Lenfositler gibi bağışıklıkta önemli görevi olan hücrelerin farklılaşması için vitamin A gereklidir. T lenfositlerin aktive edilmesi için de all-trans retinoik asidin retinoik asit reseptörüne bağlanması gereklidir (Basu ve Dickerson, 1996).

A vitamini eksikliği duktal ve alveolar meme epitellerinde gelişim bozukluklarına sebep olarak bağışıklığın zayıflamasına ve mastitisin şiddetinin artmasına neden olur (Nockels ve Blair ,1996). A vitamini güçlü bir antioksidan olmamakla birlikte immün sistemin pekçok etkisinde görev alır. (Weiss ve ark., 1997).

#### **2.8.4. E Vitamini**

Vitamin E'nin keşfi ilk olarak 1921 yılında olmuştur. Daha sonra zaman içerisinde tanımlanıp saflaştırılmıştır. Tokoferoller de denen E vitamini buğday embriyosu ve bitkisel yağlardan elde edilir. Tokoferol aslen yunanca bir sözcüktür. E vitamini etkisi gösteren ve bitkilerden elde edilen 8 adet doğal tokoferol bulunmaktadır ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\zeta_1$ ,  $\zeta_2$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ). Tokoferollerin tümü tokol çekirdeğinden türemektedir. Tokoferollerdeki farklılık tokol çekirdeğinin değişik yerlerine metil grubunun bağlanmasından dolayıdır. Yan zincirlerinde doymamış bağlar bulunmaktadır. Tabiatta en fazla buluna tokoferol;  $\alpha$  tokoferoldür. Bundan dolayı tokoferollerin etkileri de farklıdır. Vitamin E, sadece karaciğerde depolanmaz. Bu vitamin çoğunluğu yağ dokusunda olmak üzere bütün dokularda depolanır. Taşınması için ayrıca özel bir proteine gerek yoktur. Tokoferoller, suda erimezler, sarımsı renkte yağlar olup ve oksitlenmeye karşı duyarlıdırlar (Mert ve ark., 1999).



**Şekil 3.**  $\alpha$ -Tokoferol (5,7,8- trimetil tokol)'ün kimyasal yapısı (Mert ve ark., 1999).

Oral yolla alınan tokoferol genellikle iyi absorbe edilir. Yağlar ve safra tuzları vitamin E'nin absorpsiyonunu kolaylaştırır. Tokoferoller safranin yardımıyla ince barsakta emülsiyon haline gelir ve ardından absorbe olurlar. Vitamin E sindirim sistemine alındıktan birkaç saat sonra Maksimum absorpsiyon görülür. Bozulmuş yağlar vitamin E'yi oksidasyona uğratarak bozulmasına sebep olur. Mineral yağlar ise bu vitaminin absorpsiyonuna mâni olur. Vitamin E plazmada  $\beta$ -lipoproteinlere bağlanarak taşınır. Tokoferol safra ile nispeten küçük miktarlarda atılır. İnsanlara yüksek dozda tokoferol verildikten sonra idrarında metabolitleri 2-(3-hidroksi-3-metil-5-karboksi pentil)-3.5.6-trimetil hidrokinon ve tokoferolün gama laktonu izole edilmiştir (Karagül ve ark., 2000).

Vitamin E karaciğer ve yağ dokularında depo edilir. Depolama miktarı cinsiyete ve yaşa göre değişir. Yaş artıkça depolama kapasitesi artar. Ayrıca dişi hayvanların birçok organlarının erkek hayvanlara oranla daha fazla miktarda vitamin barındırdığı bulunmuştur. Bütün hayvanlarda vitamin E miktarının en fazla olduğu yerler hipofiz, adrenal bezler ve uterus olarak görülmüştür. Vitamin E, vitamin A'nın aksine plasentada da depolanır. Fakat fötüse transferi çok sınırlıdır ve yeterli değildir. Hücre içerisinde ise tokoferol mitokondri, mikrozom ve lizozomlarda konsantre olur (Karagül ve ark., 2000).

Diğer vitaminlerden farklı olarak tokoferol görevini tamamladıktan sonra yeniden sisteme dahil olmaz. Bu vitamin hücredeki biyolojik görevini devam ettirmek için sürekli olarak yenilenmelidir. Tokoferolün antioksidan etkisi özellikle yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı yüksek oksijen basıncına maruz

kalan lipit yapılarında, mesela eritrosit membranlarında solunum sistemi membranlarında yoğunlaşmışlardır (Kesseb ve Hamliri, 1986).

Vitamin E'nin öncelikle en önemli işlevi antioksidant etkili olmasıdır. Membranlar içinde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksitlenmesini engelleyen vitamin E, membranlarda oluşabilecek yıkımlanmayı engellemektedir. Membranda bulunan fosfolipidlerin doymamış yağ asitleri bölümü, flavoprotein oksidaz tarafından meydana getirilen hidrojen peroksit üretimiyle oksitlenir. Evcil veya deney hayvanlarında öncelikle meydana gelen bozukluklar, embriyo, karaciğer, böbrek, yumuşak doku, pankreas ve iskelet kaslarında görülür. Oksidasyon esnasında ortaya çıkan süperoksit, diğer radikaller ve peroksit, membran enzimleri sitokrom P450 oksidaz ve ksantin oksidaz tarafından katalizlenir ve diğer proteinlerle serbest radikalleri meydana getirir. Bu serbest radikaller daha sonra mikrozomal, mitokondriyel ve hücre membranları fosfolipidlerinin doymamış yağ asitlerini okside ederek bozuklukların oluşmasına sebep olur (Mert ve ark., 1999).

Vitami E, oksijene duyarlı bir vitamin olan A vitaminin parçalanmasına engel olarak vücudun A vitamin ihtiyacının daha yüksek bir düzeyde karşılanmasını sağlar (Ersoy ve Bayşu, 1986; Karagül ve ark., 2000).

Tokoferol hem dişilerde hem de erkeklerde üreme için gereklidir. Aksi halde germinal epitellerde tedavisi imkânsız bir dejenerasyon ortaya çıkar. Dişiler gebe kalsa bile embriyo ölür ve rezorbe edilir (Ersoy ve Bayşu, 1986; Karagül ve ark., 2000).

Bitkisel yağlarda E vitamini bol miktarda bulunmaktadır. Vitamin E'nin bol bulunduğu besinler karaciğer, yumurta, süt ve süt ürünleridir. Bu besinlerin yetersiz alınması durumunda eksiklik belirtileri ortaya çıkar. Gıdalarla doymamış yağ asitlerinin fazla alınması E vitamin ihtiyacını artırır. Yağda eriyen bir vitamin olduğu için lipit emilim bozukluklarında vitamin eksikliği ortaya oluşabilir. Noksanlık durumunda eritrositlerin peroksidasyona duyarlılığı artmakta ve bu nedenle anormal hücre membranı oluşmaktadır (Mert ve ark., 1999).

Lipit sindiriminin, absorpsiyonunun veya transportunun etkilendiği herhangi bir durumda E vitamin eksikliği meydana gelebilir. Kolestatik karaciğer hastalıkları ve

kistik fibrosis E vitamini eksikliği ile meydana gelen en genel kronik malabsorbsiyon sendromlarıdır ve serum vitamin E seviyesi şiddetli yağ malabsorbsiyonu sebebiyle abetalipoproteinemiye sahip hastalarda sık sık belirlenmemektedir (Moslen, 1994).

E vitamininin uzun süreli eksikliğinde progresiv nörolojik sendrom belirlenmiştir. Böylece vitamin E'nin sinir sisteminin ve iskelet kaslarının işlevlerini devam ettirmesi ve optimal gelişiminde ne kadar önemli olduğu belirlenmiş olmaktadır. Araştırmalar göstermiştir ki kuvvetli vitamin eksikliği olan hastalarda vitamin E ihtiyacı diğer endojen ve eksojen antioksidanlar tarafından karşılanamamaktadır. Vitamin E eksikliğinde oluşan nörolojik disfonksiyon çocukluk döneminde tedavi edilebilir. Vitamin E eksikliği aynı zamanda prematüre doğumlara da sebep olabilir. Bunların yanında çalışmalar göstermiştir ki uygun serum vitamin E düzeyini, vitamin E takviyesi ile başarmak mümkündür (Pecker ve Landvik, 1990).

Mastitiste vitamin E; Zn, Mn, Se gibi eser elementler ile beraber bağışıklık sisteminin güçlenmesinde etkindir (Nockels ve ark., 1976).

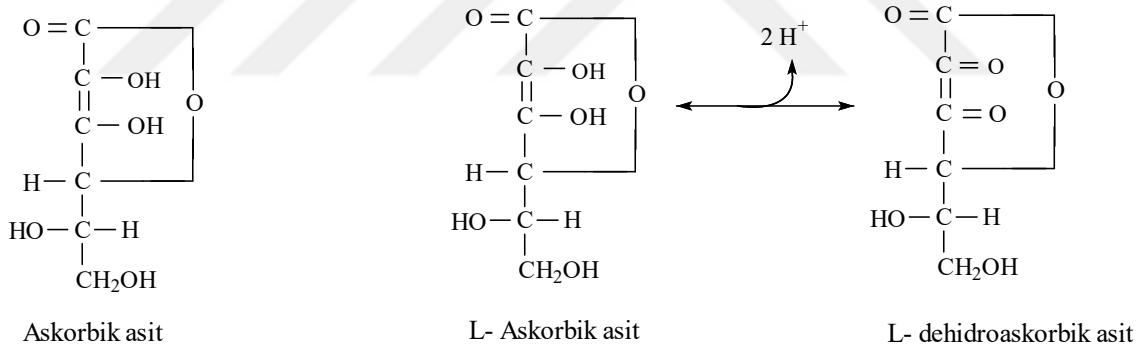
İntraperitoneal ve intraruminal E vitamini enjeksiyonu yapılan koyunlarda adrenal bez, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas ve dalağın E vitamini yönünde yapılan 15 analizinde; dokularda en yüksek E vitamini konsantrasyonunun intraperitoneal enjeksiyon yapılan grupta elde edildiği ve E vitamininin biyolojik yararlılığının saptanmasında en uygun indeksin kan plazması olduğu bildirilmiştir (Hidiroğlu ve Charmley, 1990). Mastitisli ineklerde E vitamini uygulamasından sonra mastitisli ve tedavi grupları arasında Na, Ca ve K ( $p<0.05$ ) istatistiksel olarak farklı bulunurken, LDH, trigliserit, albumin, kreatin, total protein ve kolesterolün farkının ise önemsiz olduğu saptanmıştır (Şimsek ve Aksakal, 2005).

Vitamin A, vitamin E,  $\beta$ -karoten, selenyum (Se), çinko (Zn) ve bakır (Cu) içeren antioksidan aktivite ile ilgili olan mikrobelerin klinik mastitisin sürekliliğini, şiddetini ve görülme sıklığını azaltabildiği belirtilmiştir (Erskine ve ark.,1989). Mastitisli sağmal sığırlarda A vitamini noksanlığı duktal ve alveoler meme epitellerinde gelişim bozukluklarına yol açarak immünitinin zayıflamasına ve mastitisin şiddetlenmesine neden olur (Nockels ve ark., 1976). A vitamini immün sistem fonksiyonları üzerinde etkili olup noksanlığında IgG ve IgM seviyeleri düşer ve

immüitedeki aksamadan dolayı hayvanda sekonder enfeksiyonlar gelişir. Süt veren sığırların sağlıklı olmaları ve immün fonksiyonlarının güçlenmesi için rasyonlarına vit A katılması önerilir (Kızıl ve Altıntaş, 2000).

### 2.8.5. C vitamini

1790 yıllarından beri bilinen vitamin C 1933 yılında C. Glen King tarafından limondan izole edilmiştir. İzole edilmesinden hemen sonra kimyasal yapısında açıklanmıştır. Suda eriyebilen askorbik asit, beyaz kristaller halinde, katı yapıda olup yağda ve organik eriticilerde erimez (Mert ve ark., 1999). C vitamini (askorbik asit), kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir ketolaktondur. Özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. İnce bağırsaklardan kolayca emilir. Dondurulmaya dayanıklı, Isıtılmaya ise dayanıksızdır. Plazma konsantrasyonu 0.5-1.5 mg/dl kadardır (Akkuş, 1995). Vitamin C memelilerde karaciğerde, kuşlarda, kurbağa ve sürüngenlerde ise böbreklerde sentezlenir. Oksidasyona karşı oldukça duyarlı olan vitamin C pişirme ve depolama sırasında kayba uğrar (Mert ve ark., 1999).



**Şekil 4.** Askorbik ve L-askorbik asidin L- dehidroaskorbik aside dönüşümü.

Çoğu doku ve plazmada askorbik asit, askorbat şeklinde bulunur. Dehidroaskorbat, fizyolojik pH'da glutatyonla ya da enzimatik olarak glutatyon dehidroaskorbat oksidoredüktaz tarafından askorbata indirgenir (Akkuş, 1995).

Bağırsaklardan vitamin C'nin emilmesi monosakkaritlerin emilmesi gibidir. Bu vitamin hücreye girmeden önce dehidroaskorbik asit şeklinde, hücreye alındıktan sonra askorbik asit şeklini alır. Askorbik asitin emilimi daha çok dehidro şekline dönüştüğü yer olan midede olmaktadır (Mert ve ark., 1999).

İnsanlarda C vitamininin dışarıdan alınması gerekmektedir. Çünkü vitamin C sentezini sağlayan L-glunogamalakton oksidaz enzimi bulunmamaktadır. Vücuttaki vitamin C depoları yavaş yavaş tüketilir. Bu sebeple diyetle vitamin C eksikliğine bağlı olarak baş gösteren Skorbüt hastalığının ortaya çıkışı için en az 3-4 aylık bir süre gerekir (Lunce ve Blake, 1990; Özdener ve Çelik, 1993).

Organizmada C vitamini indirgeyici ajan olarak birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında görev yapar. Kollagen sentezinde lizin ve prolin'in hidroksilasyonu için CC vitaminine ihtiyaç vardır. Epinefrinin tirozinden sentezinde dopamin  $\beta$ -hidroksilaz basamağında, tirozinden sentezinde p-hidroksi-fenil pirüvatın homogentisata oksidasyonunda ve safra asitlerinin oluşumunda 7  $\alpha$ -hidroksilaz başlangıç basamağında gereklidir (Niki,1991).

C vitamini çoğu dokuda, timus, adrenal korteks, hipofiz ve korpus luteum gibi bezlerde plazmada bulunan miktardan 20-30 kat daha fazladır. İnsanlarda 100 ml kanda 1.0 mg C vitamini bulunur. Yarılanma ömrü 16 gün olan Vitamin C'nin bilinen en önemli görevi, p-otokollogen hidroksilaz için kofaktör olarak görev yapmasıdır. Bu enzim konnektif doku proteinlerindeki peptidlerde hidroksilasyon olayının oluşmasını sağlar. Kuvvetli bir indirgeyici ajandır. Antioksidan olarak oksidasyon ve redüksiyon olaylarında görev yapar. Bazı durumlarda demir ve bakır kofaktör olarak kullanılır (Champe ve Harvey, 1997).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Canlı materyal

Bu çalışma için canlı materyal olarak Van İli Çaldıran İlçesi Toprakseven köyünde bulunan bir çiftlikteki aynı beslenme ve bakım şartlarına sahip, laktasyonun ilk dönemindeki, 3-5 yaş aralığındaki toplam 30 Akkaraman koyunu kullanıldı.

Başlangıçta sürüde bulunan tüm koyunlara klinik muayene gerçekleştirildi, koyunlar içersinden memelerinde kronik ya da akut yangı belirtisi olmayanlar ile genel bir enfeksiyonu bulunmayanlar ayrıldı. Koyunlar içersinden seçilenlerin sütleri mastitis indikatör kâğıdı ve CMT ile değerlendirilerek mastitis teşhisi yapıldı (Housawi ve ark., 2008; Megersa ve ark., 2010). CMT ve mastitis indikatör kâğıdı ile negatif sonuç gösteren sağlıklı 10 koyun kontrol grubunu, pozitif sonuç veren 20 koyun ise deneme grubunu oluşturdu.

##### 3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Spektrofotometre (Perkin-Elmer Lambda 1 A UV \ VIS)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Agilent 1100 serisi, Germany),

HPLC kolonu (C-18, 250x4,6 mm, Ace, Scotland),

HPLC enjektörü (Hamilton, 50 µl).

Millipore vakum pompası

Azot gazı tankı

Vorteks (MS2 Minishaker)

Sıcak su banyosu (BM 101 Nüve)

Derin dondurucu (Uğur)

Cam tüp (Antikoagulantlı)

Soğutmalı santrifuj (Heraeus Sepatech Minifuge RF)

Hassas terazi (Bosch S 2000)

Otomatik pipet (Socorex micropipette)

Tüp (Eppendorf)

Plastik santrüfuj tüpleri

### 3.1.3. Kimyasal maddeler

Redükte glutatyon (GSH)(Boehringer-Mannheim)

Metafosforik asit (HO<sub>3</sub>P) (Sigma)

5-5'-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) (Sigma)

Sodyum klorür (NaCl) (Merck)

Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)(Merck)

Disodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Merck)

Sodyum dihidrojen fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Merck)

Retinol standardı (Sigma),

$\alpha$ - tokoferol standardı (Sigma),

Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (Merck),

Metanol (CH<sub>3</sub>OH) (HPLC Grade) (Merck),

n-Hekzan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) (Merck),

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Mastitis indikatör kâğıt ile sütün incelenmesi

Enfeksiyon olduğunda sütte meydana gelen asidite değişikliğini ölçmek için mastitis indikatör kâğıtlarından yararlanılabilir. Bu amaçla, klinik muayene edilerek seçilen koyunların sütleri mastitis indikatör kağıt ile değerlendirildi. Öncelikle hayvanların memeleri alkolle ıslatılmış bez ile temizlendi. Memedeki ilk süt dışarıya boşaltıldı. Daha sonra meme lobunun altına yaklaştırılan mastitis indikatör kağıdının (BOVI-VET, indicator paper, Kruuse, Denmark) sarı renkteki dairesel bölümüne 2 damla süt damlatıldı, diğer meme lobundan da 2 damla süt sonraki bölüme akıtıldı (Şekil 5). Bir süre bekleddikten sonra mastitis indikatör kağıdındaki renk değişikliğine

bakıldı. Sarı olan dairesel bölgelerde herhangi bir renk değişikliği gözlenmeyen (negatif sonuç) koyunlar kontrol grubunda kullanılmak üzere ayrıldı. Dairesel alandaki sarı renk yeşile veya mavimsi yeşile dönen (pozitif sonuç) koyunlar ise deneme grubunda yer aldı.



Şekil 5. Mastitis indikatör kâğıdı.

### 3.2.2. CMT'in yapılışı

Mastitis indikatör kâğıdı ile değerlendirilen koyunların sütlerinde CMT de yapıldı. CMT kabı sıcak su ile yıkanıp kurutuldu (Şekil 6).



Şekil 6. CMT solusyonu ve kabı.

Seçilmiş olan koyunların memeleri alkolle (%70) ıslatılmış bir bez ile temizlendi ve kâğıt havlu ile kurutuldu. Memedeki ilk süt dışarıya boşaltıldı. CMT kabının A bölümüne bir meme lobu 5 kez sağılmak suretiyle süt bırakıldı. B bölümüne de diğer meme lobundan aynı miktarda süt konuldu. Daha sonra sütlerin üzerine CMT solüsyonundan (Kruuse, Denmark) 5 damla A, 5 damla da B bölümüne damlatıldı. Dairesel hareketlerle süt ile solüsyonun karıştırılması sağlandı. A ya da B kabında bir çökelme olduğunda veya sütün kıvamı koyulaştığı zaman, sonuç (+) kabul edildi ve mastitis tanısı konuldu. Şayet sütün kıvamında bir değişiklik yoksa sonuç (-) olarak değerlendirildi ve bu koyunlar kontrol grubuna alındı. İşlem yapılan CMT kabındaki A ve B bölümleri yıkandı ve kurutuldu. 2. koyunda aynı işlem C ve D bölümünde yapıldı.

### **3.2.3. Kan örneklerinin alınması**

Kan örnekleri tüm koyunlarda vena jugularisten usulüne uygun olarak 10 ml'lik heparinli ve antikoagülantsız cam tüplere alındı. Heparinli tüpe alınan kanlar alt üst edilerek kanın antikoagülant ile karışması sağlandı. Kanların serum ve plazması 2500 devirde 10 dk. santrifüj edilerek çıkarıldı ve analizler yapılmaya kadar -18 °C' de serum ve plazmalar saklandı.

### **3.2.4. Redükte glutatyon (GSH) tayini**

#### ***Prensip:***

Antikoagülantlı kanın distile su ile hazırlanan hemolizinde, sülfidril (SH) taşımayan tüm proteinler çöktürücü (presipitasyon) çözelti ile çöktürüldü. İndirgenmiş glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB (5',5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçüldü. Antikoagülantlı kanlarda indirgenmiş glutatyon seviyesi ölçümü, 24 saat içerisinde, spektrofotometre'de 412 nm'de gerçekleştirildi (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

### ***Ayıracılar***

1. Çöktürücü Çözelti: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl 100 ml' ye distile suda eritilerek tamamlandı.

2. Fosfat çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat distile su ile hazırlandı.

3. DTNB (Ellman's ayıracı): 40 mg DTNB, % 1'lik sodyum sitrat ile 100 ml'ye tamamlandı.

### ***Deneyin yapılışı***

Antikoagülanlı tüm kandan 200 µl alındı. Üzerine 1,8 ml distile su eklendi ve hemoliz gerçekleştirildi. Çöktürücü çözeltinin 3 ml' si ile hemolizat karıştırıldı. Beş dakika bekleme sonrası, karışım Whatman süzgeç kâğıdından süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süpernatantın 2 ml' si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1 ml DTNB ayıracı eklendi. Blank için 2 ml çöktürücü çözelti (3 kısım çöktürücü çözelti+ 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1ml DTNB ayıracı tüpe alınarak hazırlandı. Standart için, 40 mg/100 ml distile su GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Boeco S-22 UV/Vis spektrofotometresinde 412 nm'de blanke karşı standart numunelerin optik dansiteleri okundu. Sonuçlar mg/dl tüm kan olarak hesaplandı.

### **3.2.5. Seruloplazmin tayini**

#### ***Prensip***

Serumda seruloplazmin tayini spektrofotometrik olarak modifiye Ravin metoduna göre gerçekleştirildi (Ravin, 1956).

#### ***Kullanılan çözeltiler***

- 1- 0.34 M' lık asetat tamponu (pH 5,6): 1.34 ml glasiyel asetik asit ve 26.44 g sodyum asetat distile suda eritilip, distile su ile 1 lt' ye tamamlandı.
- 2- 7.95 M' lık fenilendiamin substrat çözeltisi: 36 g fenilendiamin dihidroklorür, 25 ml asetat tamponunda eritildi. 0.1 N NaOH ile pH 5,6' ya ayarlandı.

3- 460 mM'lık sodyum azid eriyiği: 3 g sodyum azid 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

### **Yapılışı**

Deney	Deney Körü
5 ml Fenilendiamin	5 ml Fenilendiamin
-----	1 ml Sodyum Azid
0.1 ml Serum	0.1 ml Serum
Karıştırılır	
37 °C'de 15 dk bekletilir	
1 ml Sodyum Azid	-----
15 dk bekletilir	
546 nm'de absorbansları (optik dansite) okunur	

### **Hesaplanması**

$$\text{Seruloplazmin \% mg} = (\text{Deney} - \text{Deney Körü}) \times 237$$

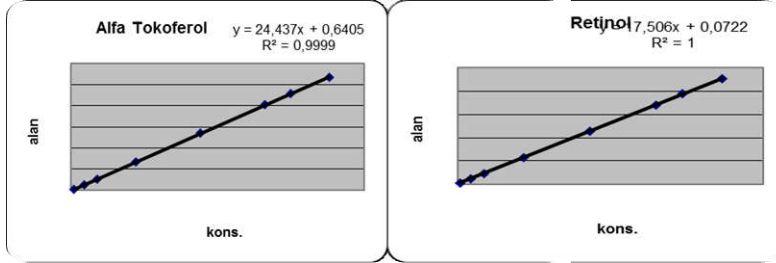
### **3.2.6. A ve E vitamini analizleri**

Plazma numunelerindeki vitamin A (retinol asetat) ve vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) düzeyleri Miller ve Yang (Miller ve Yang, 1985)'in belirttiği ekstraksiyon metodu kullanılarak belirlendi.

Bu amaçla her bir numune için 200  $\mu$ l plazma plastik tüplere alındı. Üzerlerine proteinleri çöktürmek amacıyla 200  $\mu$ l etanol ilave edildi ve 1 dakika süre ile vorteks edildi. Daha sonra 700  $\mu$ l hekzan eklenerek homojenize edildi ve tekrar 1 dakika vortekslendi. Homojenat 2000 rpm' de 10 dakika süre ile santrüfuj edildi ve oluşan lipofilik faz alındı. Hekzan uygulama işlemi iki kere yapıldı ve toplanan fazlar azot gazı akışı altında kurutuldu. Kalıntı 100  $\mu$ l etanolde çözündürüldü ve HPLC kolonuna enjekte edildi.

Vitamin A ve vitamin E düzeylerinin HPLC ile ayırımında C 18 kolonu, (25 cm x 4,6 mm) metanol-su (98:2) mobil fazı ile 1.5 ml/dak. akış hızında kullanıldı. Tanılar deidore dedektörü ile 325 ve 290 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. (Zaspel ve Csallany, 1983).

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan stok vitamin A ve E çözeltilerinin pik alanları ölçülerek çalışma grafiği çizildi. Çalışma grafiğinin doğru denklemi yardımıyla vitamin miktarları belirlendi. Vitamin E ve A çalışma grafiği ve doğru denklemi aşağıda verilmiştir



Şekil 7. A ve E vitaminlerinin çalışma grafikleri ve doğru denklemleri.

### 3.2.7. C vitamini analizi

**Prensip:** Vitamin C perklorik asitle ekstakte edilip alınan ekstrakt DNPH,  $\text{CuSO}_4$  ve tıyoüreden oluşan karışımla reaksiyona sokulup sülfürik asit eklendiğinde oluşan sarımsı renkteki çözelti spektrofotometrede 520 nm’de absorbanans verir (Omaye ve ark., 1979).

**Ayraçlar:** Ayraçlar aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

1- % 6’lık  $\text{HClO}_4$ : % 60’lık perklorik asit çözeltilisinden 10 ml alındı saf su ile 100 ml’ye tamamlandı

2- % 50’lik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  : % 96’lık  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ’ten 52.1 lt alındı ve saf su ile 100 ml’ye tamamlandı.

3- % 65’lik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  : % 96’lık  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ’ten 67.7 ml alındı ve saf su ile 100 ml’ye tamamlandı.

4- DNPH çözeltisi : 2.2 gr DNPH % 50’lik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ile 100 ml’ye tamamlandı.

5- % 0.6’lık  $\text{CuSO}_4$  : 0.6 gr  $\text{CuSO}_4$  alındı ve saf su ile 100 ml’ye tamamlandı.

6- % 5’lik tıyoüre : 5 gr tıyoüre alınarak saf su ile 100 ml’ye tamamlandı.

**Deneyin yapılışı:** Kapaklı plastik test tüplerine 0.5 ml serum bırakıldı. Üzerine 4.5 ml % 6'lık perklorik asit çözeltisinden eklendi. Tüpler 15 dakika bekletildikten sonra 2500 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra her tüpten 1 ml süpernatant alındı. Alınan süpernatantların ve başka bir tüp içersine 1 ml % 6'lık perklorik asit bırakılıp blank olarak hazırlanan tüpün içersine 0.3 ml reaksiyon solüsyonu (10 ml DNPH + 0.5 ml CuSO<sub>4</sub>+ 0.5 ml tiyoüre) eklenip tüpler karıştırıldı. Tüpler 90 °C'de 20 dk bekletildi. Daha sonra tüpler soğuyuncaya kadar buz banyosuna bırakıldı. Tüpler soğuduktan sonra üzerlerine 1.5 ml % 65'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinden bırakılarak vorteksle karıştırıldı ve blank'a karşı 520 nm'de okundu.

**Hesaplama:** Hesaplamalar Omaye ve ark. (1979) formülüyle yapıldı.

$$\text{Vit.C (mg/dl)} = (25.186 \times \text{O.D}) - 0.023$$

O.D. : Testin 520 nm dalga boyunda okunan optik dansitesi

### 3.2.7. İstatistiksel analizler

Üzerinde çalışılan her bir parametre bakımından, bağımsız iki grup (kontrol ve mastitisli) ortalamaları arasındaki farkın önemliliğini test etmek için unpaired t testi kullanıldı (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1998).

#### 4. BULGULAR

Mastitisli ve sağlıklı koyunlara (kontrol) ait GSH, seruloplazmin vitamin A, vitamin C ve vitamin E düzeylerinin ortalamaları Çizelge 1’de verildi.

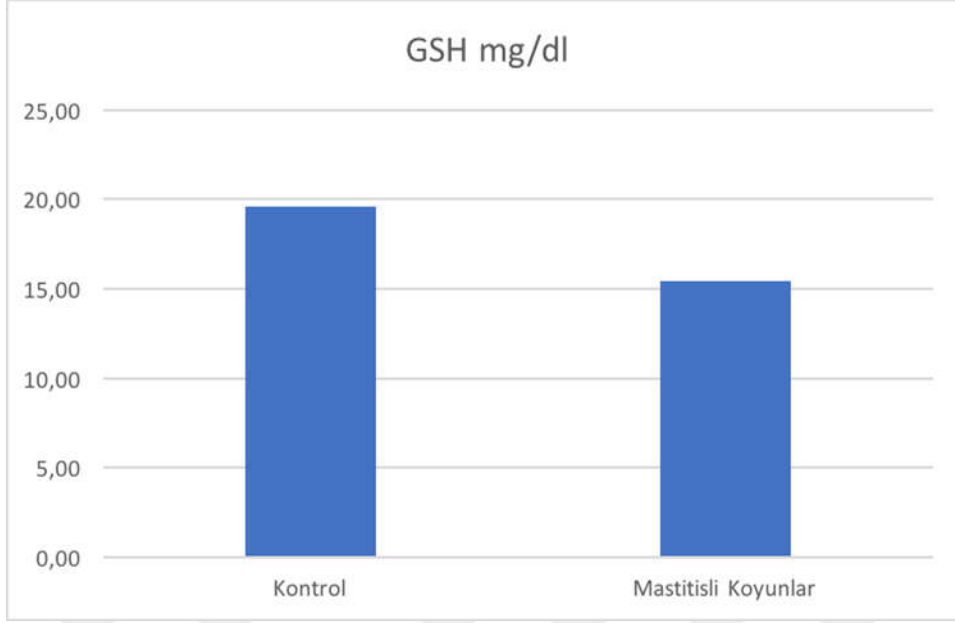
**Tablo 1.** Mastitisli ve sağlıklı koyunlara ait GSH, seruloplazmin, vitamin A, vitamin E ve vitamin C düzeyleri.

Parametreler	n	Kontrol X±SEM	n	Mastitisli Koyunlar X±SEM
GSH mg/dl	10	19.61 ± 2.95	20	15.43 ± 1.47**
Seruloplazmin mg/dl	10	16.54 ± 0.14	20	17.13 ± 0.11
Vitamin A mg/L	10	0.44 ± 0.03	20	0.39 ± 0.04**
Vitamin E µg/dl	10	290.1 ± 14.3	20	254.3 ± 11.8*
Vitamin C µg/ml	10	6.75 ± 0.15	20	5.91 ± 0.17**

\*  $p \leq 0.01$

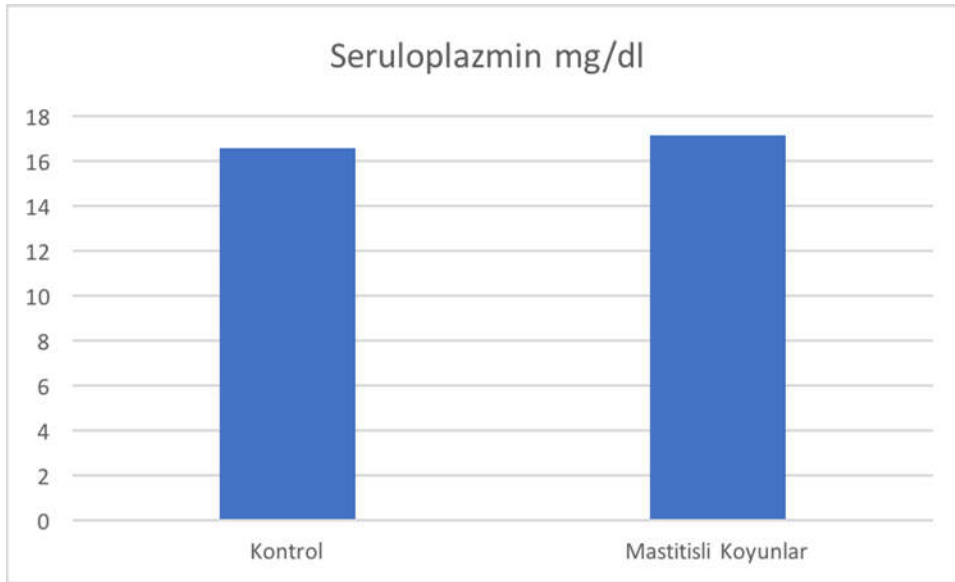
\*\* $p \leq 0.05$

GSH düzeyleri kontrol grubunda ortalama olarak  $19.61 \pm 2.95$  mg/dl değerinde tespit edilirken, mastitisli koyunlarda  $15.43 \pm 1.47$  mg/dl olarak saptandı ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 8).



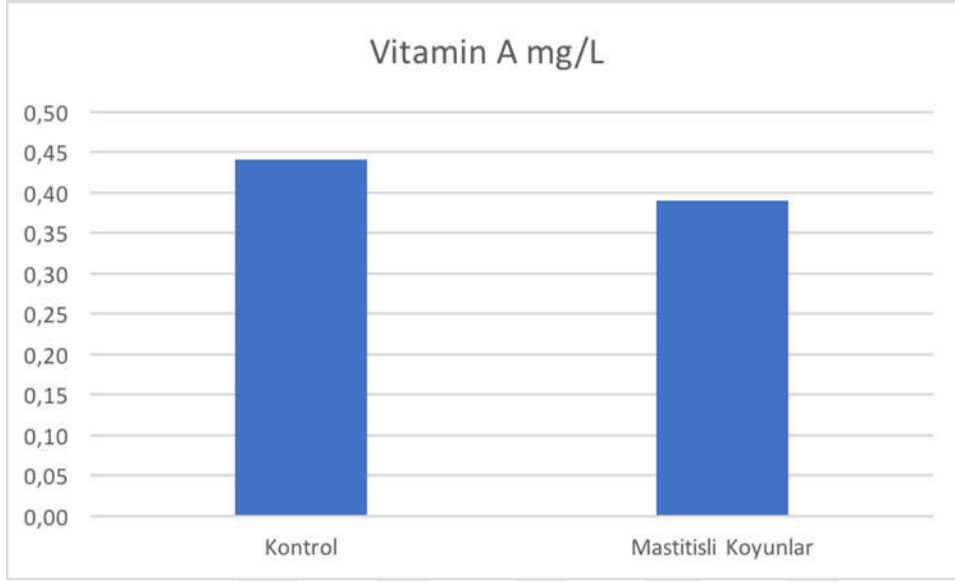
**Şekil 8.** Kontrol ile mastitisli koyunlara ait GSH düzeyleri.

Seruloplazmin düzeyleri mastitisli koyunlarda ( $17.13 \pm 0.11$  mg/dl) kontrollere göre ( $16.54 \pm 0.14$  mg/dl) biraz yükseldiği gözlemlendi ve istatistiksel olarak önem bulunmadı ( $p \geq 0.05$ ) (Şekil 9).



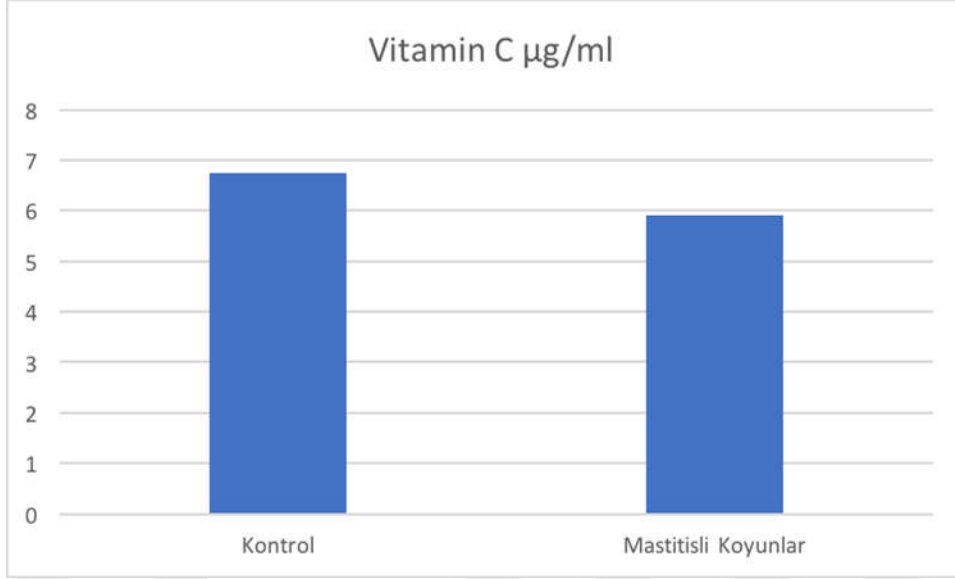
**Şekil 9.** Kontrol ile mastitisli koyunlara ait seruloplazmin düzeyleri.

Mastitisli koyunlarda  $0.39 \pm 0.04$  mg/L olan vitamin A miktarı kontrol grubuna göre ( $0.44 \pm 0.03$  mg/L) istatistiksel olarak  $p \leq 0.05$  düzeyinde önemle düşük olduğu saptandı (Şekil 10).



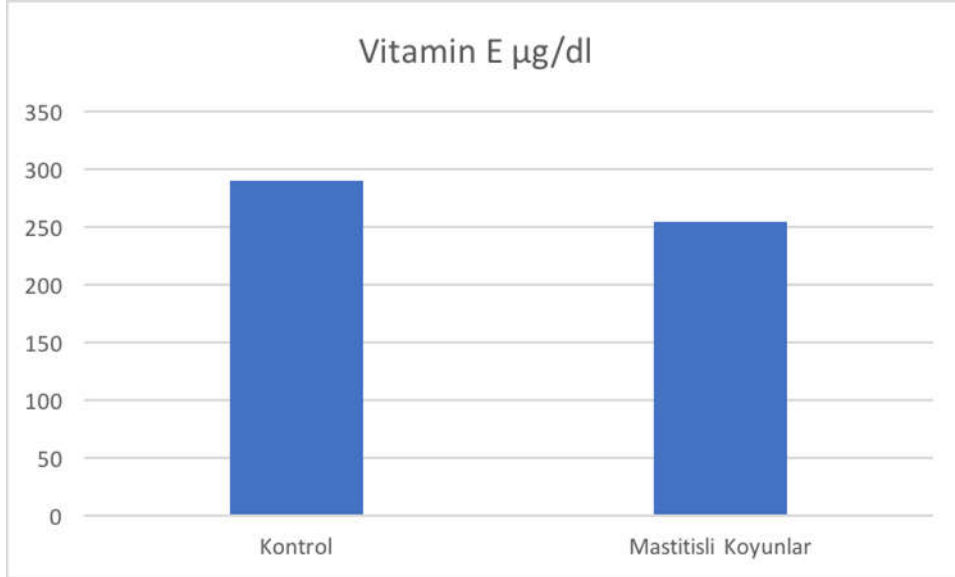
**Şekil 10.** Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin A düzeyleri.

Vitamin C düzeyleri kontrol grubunda  $6.75 \pm 0.15$   $\mu\text{g/ml}$  olarak tesbit edilirken mastitisli koyunlarda  $5.91 \pm 0.17$   $\mu\text{g/ml}$  şeklinde azalarak istatistiksel olarak  $p \leq 0.05$  düzeyinde önem bulundu (Şekil 11).



**Şekil 11.** Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin C düzeyleri.

Vitamin E düzeyleri de kontrol grubunda  $290.1 \pm 14.3$  µg/dl, mastitisli koyunlarda  $254.3 \pm 11.8$  µg/dl düzeylerinde ölçülmüş görülen düşüş istatistiksel olarak  $p \leq 0.01$  düzeyinde önem göstermiştir (Şekil 12).



**Şekil 12.** Kontrol ile mastitisli koyunlara ait vitamin E düzeyleri.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyun yetiştiriciliği ülkemizde hayvancılıkta önemli bir yere sahiptir. Koyunculuk eti yanında süt ve yapağısı için de geleneksel olarak küçük aile işletmelerinde yapılmaktadır. Beslenme ve bakım masrafları diğer türlere göre daha düşük olduğundan koyun yetiştiriciliği daha çok tercih edilmektedir. Koyun ve keçi gibi hayvan türlerinin sütleri tarımda geri kalmış ülkelerde ya da orta ve küçük ölçekli işletmelerde daha fazla öneme sahiptir. Ülkemizde bu tip küçük işletmelerde peynir, yoğurt ve tereyağı üretiminde koyun sütünün önemi büyüktür. Bu ürünlerde kullanılan sütün hayvan başına miktarı ve kalitesi üretilen ürünler açısından düşünüldüğünde ayrı bir öneme sahiptir. Sütün miktar ve kalitesi de hayvan ve meme sağlığına bağlıdır.

Mastitis, süt kalitesinde bozulma, veriminde düşüşe, (Pyörala ve Syvajarvi, 1987; Philpot ve Nickerson, 1991), hayvanın sürü içersinden erken çıkartılmasına (Jain, 1979; Gudding ve ark., 1984; Nickerson, 1989; Han ve ark., 2000) ve önemli miktarda ekonomik kayıplara yol açan yangı ile ortaya çıkan bir hastalıktır (Bramley ve Dodd, 1984; Pyörala ve Syvajarvi, 1987; Philpot ve Nickerson, 1991). Mastit insan sağlığını da işlenmemiş çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi halinde kötü yönde etkilemektedir (Jain, 1979; Gudding ve ark., 1984; Nickerson, 1989; Han ve ark., 2000).

Klinik mastitis sadece lokal ya da genel ve fonksiyonel özellikte semptomlar ortaya koyarken, subklinik mastitis bilhassa somatik hücre sayısında artma şeklinde kalitatif ve kantitatif işlevsel farklılıklar ortaya koymaktadır (Bergonier ve Berthelot, 2003).

Mastitisin hazırlayıcı nedenleri olarak beslenme şartları, bakım yanlışları (sağımada hatalar, ahırda hijyeninin bozulması vb.), yaş, genetik yapı, laktasyon sayısı, süt verimi ve meme anomalileri gibi etkenler bildirilmektedir (İzgür, 1984; Kılıçoğlu ve Alaçam, 1985)

Mastitis oluşumunda en önemli etken olan stafilokoklar, doğa koşullarına dayanıklı olan ve oldukça yaygın olarak görülen bakterilerdir. Deride ve mukozalarda flora etkeni şeklinde bulunan fırsatçı patojenlerdir. Hayvanlarda çevreden gelen stres

etkenleri ile savunma düzenlerinin bozulması ya da memede dış faktörlerle oluşan yaralardan girerek yangıya neden olurlar (Arda, 1997).

Süt inekleri uygun metabolik durumlarını sürdürebilmeleri için kanlarında biyolojik olarak mineral ve vitaminlerin bulunmasına ve bu maddeleri belirli bir miktarda tüketmeye ihtiyaç duymaktadırlar. Bir inek, sağlıklı olmak ve üreyebilir durumda kalmak için yeterli mineral ve vitaminlere sahipse bu açıdan optimum koşullardadır (Weiss ve ark., 1997).

Mastitis sonucunda bağışıklık sisteminde zayıflamalar meydana gelir bu sebeple hayvanda bazı hormonal ve metabolik farklılıklar oluşabilir. Bulaşıcı hastalıklar ve hastalık stresinin bu sürede daha fazla olduğu söylenmiştir (Little ve Gloden, 1991; Arıkan ve ark., 2001).

Serbest radikaller yapılarında eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya atom gruplarıdır (Machlin ve Bendich, 1987). Bu yapıların zararlı etkilerine karşı hücreler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerini kullanmaktadırlar. Organizma serbest oksijen radikallerini, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), superoksid dismutaz (SOD) gibi enzimatik olan ve karotenoitler, glutatyon (GSH), C-vitamini ve  $\alpha$ -tokoferol gibi nonenzimatik olan farklı antioksidanlar ile yok edebilir (Miller ve ark., 1993; Stahl ve Sies, 1997). Organizmada oksidatif stres sebebi olan doğum, gebelik ve laktasyon gibi haller plazma içersinde serbest radikallerin artmasına sebep olmaktadır. Bu durumlar haricinde stres, mastitis ve bulaşıcı hastalıklar gibi durumlarda da serbest radikal miktarında büyük artışlar meydana gelmektedir (Akkuş, 1995; Arıkan ve ark., 2001). Vücutta serbest radikallerin üretiminin artması ve bulunan antioksidan yapılar arasındaki dengesizlik organizmada oksidatif strese neden olmaktadır (Miller ve ark., 1993).

GSH, sistin, glisin ve glutamik asit aminoasitlerinden oluşmuş bir tripeptittir, peroksid ve serbest radikaller ile tepkimeye girerek hücreyi oksidatif maddelerin vereceği zarara karşı korumaktadır (Akkuş, 1995). Yapılan çeşitli çalışmalar antioksidan düzeyinin azalmasının mastitis riskini arttırabileceğini ve bunun antioksidan takviyesi ile önlenebileceğini göstermektedir (Tekkes, 2006; Şimşek ve Aksakal, 2006).

Mastitisli ineklerde yapılan bir çalışmada GSH düzeyleri sağlıklı grupta  $1.39\pm 0.02$   $\mu\text{mol/ml}$ , mastitisli grupta  $1.33\pm 0.03$   $\mu\text{mol/ml}$  olarak ölçülmüştür (Deveci, 2007).

Şimşek ve Aksakal (2005) subklinik mastitisli ineklerde yapmış oldukları bir çalışmada GSH düzeylerini sağlıklı ve mastitisli gruplarda sırasıyla  $1.59\pm 0.06$   $\mu\text{mol/ml}$  ve  $1.35\pm 0.08$   $\mu\text{mol/ml}$  olarak ölçmüşlerdir.

Mastitisli ineklerde yapılan başka bir çalışmada GSH düzeyleri sağlıklı grupta  $0.109\pm 0.009$   $\mu\text{mol/ml}$ , mastitisli grupta ise  $0.069\pm 0.003$   $\mu\text{mol/ml}$  olarak saptanmıştır (Jhambh ve ark., 2013).

Erişir ve ark.'ları (2011) yapmış oldukları çalışmada  $\text{CMT}^{+1}$ ,  $\text{CMT}^{+2}$  ve  $\text{CMT}^{+3}$  şeklinde gruplandıkları mastitis teşhisi konulan ineklerde GSH miktarlarını sırasıyla  $0.89\pm 0.11$   $\mu\text{mol/gr}$  protein,  $0.78\pm 0.14$   $\mu\text{mol/gr}$  protein ve  $0.35\pm 0.06$   $\mu\text{mol/gr}$  protein olarak kontrol grubunda ise  $1.07\pm 0.10$   $\mu\text{mol/gr}$  protein olarak tesbit etmişlerdir.

Musal ve ark. (2007), subklinik mastitis teşhisi konmuş ineklerde meme içi tedavi yapılmadan önce (0.gün) ve tedavi yapıldıktan sonraki 14 ve 21. günlerde kan vitamin A, vitamin C,  $\beta$ -karoten, seruloplazmin, GSH ve MDA düzeylerini araştırmışlar, 0. günde kontrol grubunda GSH düzeyini  $121.2\pm 9.6$  mg/lt, mastisli olanlarda  $90.0\pm 10.1$  mg/lt, tedavi edilmeyenlerde  $87.9 \pm 7.4$  mg/lt olarak bulmuşlardır. 14. günde GSH düzeyi kontrol grubunda  $153.5 \pm 11.0$  mg/lt, mastitisli olanlarda  $131.8\pm 18.5$  mg/lt ve tedavi edilmeyenlerde  $90.6\pm 10.4$  mg/lt olarak tespit edilirken, 21. günde ise sırasıyla  $170.3\pm 16.3$  mg/lt,  $190.6\pm 13.9$  mg/lt,  $111.0\pm 11.0$  mg/lt olarak saptamışlardır. Kontrol ile tedavi ve tedavi edilmeyen gruplar arasında  $p<0.05$  düzeyinde önemli bir farklılık saptanmıştır.

Yapılan farklı bir çalışmalarda da mastitisli ineklerde GSH düzeyinin kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Atroshi ve ark., 1986)

Literatürde koyunlarda mastitis üzerine yapılmış pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Genelde yapılan çalışmalar mastitisli inekler üzerinedir. Bu sebeple bu çalışmada onlara daha fazla yer verilmiştir. Sunulan çalışmada sağlıklı koyunlarda GSH düzeyi  $19.61\pm 2.95$  mg/dl, subklinik mastitisli koyunlarda ise  $15.43\pm 1.47$  mg/dl

olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak  $p < 0.05$  düzeyinde önem saptanmıştır. GSH düzeyindeki bu azalma yapılan diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Seruloplazmin hepatositlerde sentezlenen 6 tane bakır atomunu bulunduran bir proteindir. Bakır ve demir metabolizmalarında önemli görevleri olan bir yapıdır (Memişoğulları ve Bakan, 2004). Seruloplazmin  $Fe^{+2}$ 'yi  $Fe^{+3}$ 'e dönüştürür ve  $Fe^{+3}$ 'ün transferrin isimli proteine bağlanmasını kolaylaştırmaktadır. Bundan başka demirin oksitlenmesiyle fenton reaksiyonunu ve lipid peroksidasyonunu engeller (Løvstad, 1997).

Chassagne ve ark. (1998) laktasyon öncesinde mastitis insidansının düşük olduğu ineklere göre laktasyon öncesinde mastitis insidansının yüksek olduğu ineklerde seruloplazmin konsantrasyonlarındaki artışın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Musal ve ark. (2007), subklinik mastitis teşhisi konmuş ineklerinde meme içi tedavi yapılmadan önce (0.gün) ve tedavi yapıldıktan sonraki 14 ve 21. günlerde kan seruloplazmin, düzeylerini, 0. günde kontrol grubunda seruloplazmin düzeyini  $241.3 \pm 25.2$  mg/lt, mastisli olanlarda  $247.6 \pm 18.5$  mg/lt, tedavi edilmeyenlerde  $287.5 \pm 34.1$  mg/lt olarak bulmuşlardır. 14. günde seruloplazmin düzeyi kontrol grubunda  $266.0 \pm 31.0$  mg/lt, mastitisli olanlarda  $304.2 \pm 26.2$  mg/lt ve tedavi edilmeyenlerde  $346.7 \pm 36.7$  mg/lt olarak tespit edilirken, 21. günde ise sırasıyla  $327.2 \pm 40.8$  mg/lt,  $310.7 \pm 28.9$  mg/lt,  $394.9 \pm 46.4$  mg/lt olarak saptamışlardır. Kontrol ile tedavi ve tedavi edilmeyen gruplarda seruloplazmin miktarı artmış fakat gruplar arasında önemli bir istatistik farklılık saptanmamıştır.

Bu çalışmada seruloplazmin miktarları sağlıklı koyunlarda  $16.54 \pm 0.14$  mg/dl, mastitisli koyunlarda  $17.13 \pm 0.11$  mg/dl olarak bulunmuştur. Seruloplazmin düzeyi genel olarak yangı durumlarında bu çalışmada olduğu gibi artış göstermektedir. Fakat seruloplazmin miktarındaki bu artışa rağmen gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır.

A vitamini yağda eriyen vitaminlerdendir, yapısı C ve H atomlarından ibaret apolar bir moleküldür (Coşkun, 2003). Antioksidan özelliğe sahip bir vitamindir.

Bakteri infeksiyonlarını ve kanseri engelleyebileceği düşünülmektedir (Faisel ve Pittrof, 2000).

Nizamlioğlu ve ark. (1993) subklinik mastitisli ineklerde yaptıkları araştırmada A vitamini düzeylerini sağlıklı ineklere göre daha düşük düzeyde olduğunu fakat istatistiksel olarak önem bulunmadığını bildirmişlerdir.

Başka bir araştırmada Salmanoğlu ve ark. (2002) subklinik mastitisli ineklerde kanda vitamin A düzeyi farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir.

Şimşek ve Aksakal (2006) plazma A vitamini düzeylerini sağlıklı ineklerde tedavi öncesi mastitisli ineklere oranla yüksek bulmuşlar ve bu durumun istatistiksel açıdan önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Kaya ve Güven (2008) ineklerde yaptıkları bir çalışmada A vitamini düzeyini mastitisli grupta  $99.354 \pm 3.62$  µg/dl, sağlıklı grupta ise  $96.14 \pm 1.99$  µg/dl olarak ölçmüşler ve aradaki farkın  $p < 0.01$  düzeyinde anlamlı olduğunu bulmuşlardır.

Musal ve ark. (2007), subklinik mastitis teşhisi konmuş ineklerinde meme içi tedavi yapılmadan önce (0.gün) ve tedavi yapıldıktan sonraki 14 ve 21. günlerde kan A vitamini, düzeylerini, 0. günde kontrol grubunda  $262.8 \pm 1.0$  µg/lt, mastitisli olanlarda  $272.6 \pm 8.4$  µg/lt, tedavi edilmeyenlerde  $288.8 \pm 20.8$  µg/lt olarak bulmuşlar. 14. günde A vitamini düzeyi kontrol grubunda  $317.8 \pm 30.7$  µg/lt, mastitisli olanlarda  $322.8 \pm 29.3$  µg/lt ve tedavi edilmeyenlerde  $298.7 \pm 21.9$  µg/lt olarak tespit edilirken, 21. günde ise sırasıyla  $349.7 \pm 27.1$  µg/lt,  $355.1 \pm 21.5$  µg/lt,  $327.2 \pm 28.4$  µg/lt olarak saptamışlardır. Kontrol ile tedavi gruplarındaki vitamin A düzeylerinin zamana bağlı olarak anlamlı artışlar ( $p < 0.05$ ) gösterdiğini bildirmişlerdir.

Farklı araştırmacıların yaptıkları diğer araştırmalarda sağlıklı ve mastitisli inekler için plazma vitamin A düzeyindeki azalmalar anlamlı olarak bulunmuştur (Chew ve ark., 1982; Meglia ve ark., 2001).

Sunulan çalışmada A vitamini miktarları sağlıklı koyunlarda  $0.44 \pm 0.03$  mg/lt, mastitisli koyunlarda  $0.39 \pm 0.04$  mg/lt olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu

farklılık istatistiksel açıdan  $p \leq 0.05$  düzeyinde anlamlı olduğu saptanmıştır. A vitamini düzeyindeki bu azalma genel olarak literatürler ile paralellik göstermektedir.

E vitamini, kolesterolü düzenleyerek ve pıhtılaşmayı engelleyerek kalp rahatsızlıkları ve felç riskini azaltabilir, solunum yolu enfeksiyonlarını ve bağışıklık sisteminde meydana gelebilecek diğer ataklarını engelleyebilir (Akkuş, 1995). Selenyumla beraber biyolojik bir antioksidan olarak bağışıklık sisteminin düzenli çalışmasında görev alır (Nockels ve ark., 1976).

Şimşek ve Aksakal (2006) ineklerde yaptıkları bir çalışmada plazma E vitamini düzeylerini sağlıklı grupta  $5.79 \pm 1.34$  mmol/lit, mastitisli grupta  $4.09 \pm 0.90$  mmol/lit ve tedavi grubunda ise  $5.11 \pm 0.77$  mmol/lit olarak bulmuşlar ve aradaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Batra ve ark. (1991) sağlıklı ve mastitisli inekler ile oluşturdukları gruplardan her birine değişik miktarlarda E vitamini rasyona ilave etmişler ve bu gruplar arasındaki plazma E vitamini düzeylerini istatistiksel olarak  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olduğu saptamışlardır.

Braun ve ark.'ları (1991) 91 çiftlikte bulunan 287 süt ineği ile bir yıl boyunca her ay yaptıkları analizlerde sağlıklı ve mastitisli olanlar arasında serum vitamin E düzeylerinde ortalama farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğunu ifade etmişlerdir.

Hogan ve ark. (1996) süt ineklerinde yaptıkları deneysel mastitis enfeksiyonu sonrası hayvanları  $\alpha$ -tokoferol içeren yem ile beslemişlerdir. Bu hayvanlardan uygulama öncesi, uygulamadan 24, 48 ve 168 saat sonra kan alarak  $\alpha$ -tokoferol düzeylerini ölçmüşler, ancak oluşan farkı istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır.

Mastitisli ve sağlıklı ineklerde yapılan bazı çalışmalarda plazma vitamin E düzeyinde oluşan farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bildirilmiştir. (Erskine ve ark., 1987; Ndiweni ve ark., 1991); Atroshi ve ark. (1986) mastitisli ve sağlıklı ineklerde süt ve plazma vitamin E düzeyleri farkını istatistiksel açıdan önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Subklinik mastitisli ve sağlıklı ineklerde yapılan bir çalışmada plazma E vitamini miktarında gruplar arasında meydana gelen farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bildirilmiştir (Nizamlioğlu ve ark., 1993). Subklinik mastitisli ve sağlıklı ineklerde yapılan başka bir çalışmada plazma E vitamini düzeyinde gruplar arasında oluşan farkın  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olduğu görülmüştür (Nizamlioğlu ve ark., 1992)

Koyunlarda yapılan bir çalışmada koyunların bazıları  $\alpha$ -tokoferol ile Na-selenit içeren premiks yem, diğerlerine ise normal rasyon vererek kuzulama sonrasına kadar beslenmiştir. Uygulama bitiminde kontrol ve uygulama grubu arasında plazma  $\alpha$ -tokoferol düzeyi farkı istatistiksel olarak  $p < 0.01$  değerinde önemli bulunmuştur (Colitti ve ark., 2000).

Kaya ve Güven (2008) ineklerde yaptıkları çalışmada E vitamini düzeyini mastitisli grupta  $24,74 \pm 9.83$   $\mu\text{g/dl}$ , sağlıklı grupta ise  $14.23 \pm 4.47$   $\mu\text{g/dl}$  olarak ölçmüşler ve aradaki farkın istatistiksel açıdan  $p < 0.001$  düzeyinde anlamlı olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada E vitamini düzeyleri kontrol grubunda  $290.1 \pm 14.3$   $\mu\text{g/dl}$  olarak, mastitisli grupta ise  $254.3 \pm 11.8$   $\mu\text{g/dl}$  olarak ölçülmüştür. Mastitis grubundaki bu düşüş istatistiksel açıdan  $p \leq 0.01$  değerinde önemli saptanmıştır. Mastitisli grupta E vitamini miktarının düşük düzeyde olması, yangı sonucunda oluşan lipit peroksidasyonuna karşı kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Yağ içersinde ve organik çözücülerde çözünemeyen askorbat, beyaz kristal şeklinde, katı haldedir ve suda çözünür. Askorbik asit glukozun okside olmuş yapısındadır. Ortamın pH'sının artışı ile birlikte bakır ve gümüş iyonları ile askorbik asitin oksidatif parçalanma hızı artar. Dehidre olmuş yapısı indirgenmiş yapısından daha fazla dayanıklıdır. Kuvvetli bir indirgeyici ajan olan C vitamini, redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonlarında antioksidan olarak görev alır. Çeşitli şartlarda bakır ve demir kofaktör olarak kullanılır (Mert ve ark., 1999).

Kleczkowski ve ark.'ları (2005) yaptıkları bir çalışmada serum C vitamini konsantrasyonlarının, sağlıklı ineklere göre subklinik mastitli ineklerde anlamlı

derecede düşük olduğunu ve subklinik mastitin, kandaki antioksidan konsantrasyonlarında azalmaya neden olduğunu gözlemişlerdir.

Musal ve ark. (2007), subklinik mastitis teşhisi konmuş ineklerinden meme içi tedavi yapılmadan önce (0.gün) ve tedavi yapıldıktan sonraki 14 ve 21. günlerde kan alarak C vitamini düzeylerini ölçmüşler ve 21. günde plazma C vitamini konsantrasyonları, "tedavi edilmemiş" grupta diğer 2 gruba ("kontrol" ve "tedavi edilmiş" ineklere) kıyasla önemli ölçüde düştüğünü ( $p<0.05$ ), bu arada, " tedavi edilmiş " grupta önemli derecede arttığını ( $p<0.05$ ) bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada C vitamini düzeyleri kontrol grubunda  $6.75\pm 0.15$   $\mu\text{g/ml}$  ve mastitisli grupta  $5.91\pm 0.17$   $\mu\text{g/ml}$  olacak ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre mastitisli gruptaki bu düşüş istatistiksel olarak  $p\leq 0.05$  değerinde önemli olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak; mastitis kaynaklı ekonomik kayıplar önemli bir problem teşkil etmektedir. Subklinik mastitisin erken teşhisi bu sebeple çok önemlidir. Hastalığın belirtileri gözle ve klinik muayene ile tam anlaşılamadığından sürü içersinde yayılması önemli ölçüde fazla olmaktadır. Sunulan çalışmada bulgularda sağlıklı grupların mastitisli gruplara göre plazma antioksidan (GSH, A vitamini, C vitamini ve E vitamini) düzeyleri farklarının istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit edildi. Bu farklılıklar mastitis durumunda oksidatif stresin oluştuğunu ortaya koymuştur. Organizmada meydana gelen yangısal vakalarda oksidan maddelerin artan miktarına karşı, hayvanların antioksidan kapasitesini arttırmak amacıyla gebelik ve takiben laktasyon süreçlerinde, yem katkı maddesi olarak ya da enjeksiyon şeklinde bağışıklık ve antioksidan savunma sistemlerinde önemli görevler üstlenen A, E ve C vitamini gibi bazı antioksidanların verilmesinin, oksidatif stresi azaltmada etkin rol üstlenebileceği ve bunun mastitisli hayvanların enfeksiyona karşı dayanıklılığını arttırabileceği söylenebilir.

## ÖZET

**Ertunç B, Subklinik mastitisli koyunlarda GSH, seruloplazmin, A vitamini, C vitamini ve E vitamini düzeylerinin araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2017.** Hayvancılıkta meydana getirebileceği ekonomik kayıplar açısından büyük öneme sahip subklinik mastitisin, koyunlarda antioksidan savunmada görev yapan glutatyon (GSH), seruloplazmin, A vitamini, E vitamini ve C vitamini miktarları üzerine etkisini görmek için yapılan bu çalışmada laktasyonun ilk döneminde olan toplam 30 Akkaraman koyun canlı materyal olarak kullanıldı. Sütlerinde mastitis indikatör kâğıdı ve CMT ile mastitis teşhisi konulan 20 koyun subklinik mastitisli grubu, sağlıklı 10 koyun da kontrol grubunu oluşturdu. Koyunların kan plazmalarında glutatyon, seruloplazmin, A vitamini, E vitamini ve C vitamini düzeyleri ölçüldü. Kontrol ve subklinik mastitisli koyunların plazma glutatyon (GSH), seruloplazmin, A vitamini, E vitamini ve C vitamini düzeyleri sırasıyla  $19.61 \pm 2.95$  mg/dl- $15.43 \pm 1.47$  mg/dl;  $16.54 \pm 0.14$  mg/dl- $17.13 \pm 0.11$  mg/dl;  $0.44 \pm 0.03$  mg/lt- $0.39 \pm 0.04$  mg/lt;  $290.1 \pm 14.3$  µg/dl- $254.3 \pm 11.8$  µg/dl;  $6.75 \pm 0.15$  µg/ml- $5.91 \pm 0.17$  µg/ml olarak bulundu. Subklinik mastitisli koyunların plazma GSH ( $p \leq 0.05$ ), A vitamini ( $p \leq 0.05$ ) ve C vitamini ( $p \leq 0.05$ ) ve E vitamini ( $p \leq 0.01$ ) düzeylerinde istatistiksel öneme sahip düşüşler saptandı. Seruloplazmin düzeyinde az bir düşüş görüldü. Sonuç olarak, bu azalmaların mastitis sürecinde oksidatif stresin varlığını gösterdiği, hayvanların gebelik ve laktasyon dönemlerinde enjeksiyon vasıtasıyla ya da yem katkı maddesi olarak, zayıf düşmüş bağışıklık sistemini bazı antioksidanlar ile desteklemek oksidatif stresi azaltabilecek ve mastitisli hayvanların enfeksiyona karşı dayanıklılığını arttırabilecektir.

**Anahtar Sözcükler:** GSH, koyun, seruloplazmin, subklinik mastitis, vitaminler.

## SUMMARY

**Ertunç B, Investigation of GSH, ceruloplasmine, vitamin A, vitamin E, vitamin C levels in sheeps with subclinical mastitis, Van Yuzuncu Yıl University, Institute of Health Sciences, MSci. Thesis in Department of Biochemistry, Van, 2017.** This study was carried out to investigate the effect of subclinical mastitis, which has great importance in terms of economic losses in animal husbandry, on the amounts of glutathione, ceruloplasmin, vitamin A, vitamin E and vitamin C in the sheep during the first phase of lactation. Total 30 Akkaraman sheep were used as material. 20 sheep subclinical mastitis group with mastitis indicator paper and CMT and mastitis diagnosis in milk, and 10 control group in healthy sheep. Glutathione, ceruloplasmin, vitamin A, vitamin E and vitamin C levels were measured in blood plasma of sheep. The levels of plasma GSH, ceruloplasmin, vitamin A, vitamin E and vitamin C of control and subclinical mastitic sheep were found  $19.61 \pm 2.95$  mg/dl- $15.43 \pm 1.47$  mg/dl;  $16.54 \pm 0.14$  mg/dl- $17.13 \pm 0.11$  mg/dl;  $0.44 \pm 0.03$  mg/lt- $0.39 \pm 0.04$  mg/lt;  $290.1 \pm 14.3$  µg/dl- $254.3 \pm 11.8$  µg/dl;  $6.75 \pm 0.15$  µg/ml- $5.91 \pm 0.17$  µg/ml respectively. There were statistically significant reductions in plasma GSH ( $p \leq 0.05$ ), vitamin A ( $p \leq 0.05$ ), vitamin C ( $p \leq 0.05$ ) and vitamin E ( $p \leq 0.01$ ) levels in subclinical mastitis affected sheep. There was a slight decrease in the level of ceruloplasmin. As a result, supporting these weakened immune systems with some antioxidants, either through injection or as a feed additive during the pregnancy and lactation periods in which the decreases show the presence of oxidative stress in the mastitis process, may reduce oxidative stress and increase the resistance of the mastitis animals to infection.

**Key words:** Ceruloplasmine, GSH, sheep, subclinical mastitis, vitamins.

## KAYNAKLAR

- Akay Ö (1984). Stafilokokal mastitisler. 1. Mastitis semineri. 15-16 Kasım 1984, Ankara.
- Akay Ö (1986). Mastitis'li inek sütlerinde izole edilen staphylococcus aureus suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları üzerinde bir çalışma. *AÜ Vet Fak Derg*, 33,1, 1-11.
- Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alaçam E (1984). Mastitisin sağaltımı. 1. Mastitis semineri, 15-16 Kasım 1984, Ankara.
- Alaçam E (1990). Mastitis. In, Aytuğ CN, Yalçın BC, Alaçam E, Türker H, Özkoç Ü, Gökçen H(Ed) (Editörler): Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetistirciliği. Teknografik matbaası, İstanbul, 375-377.
- Alaçam E (1997). Meme Hastalıkları. 'Sığır Hastalıkları'. Alaçam E, Sahal M, (Editörler) Medisan, Ankara, 389-425.
- Alaçam E, Nizamlıoğlu M, Erganiş O (1988). İneklerde subklinik mastitislerin tanısı amacıyla sütte ve kanda prostoglandin F2 alfa ile bazı mikrobiyolojik, hücresel ve biyokimyasal değerlerin araştırılması. *Doğu Türk Vet Hay Derg*, 12, 11-17.
- Alaçam E, Tekeli T, Erganiş O, İzgi AN (1986). İnek ve mandalarda subklinik mastitislerin tanısı, etkenlerin izolasyonu ve bunlara karşı etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. *S Ü Vet Fak Derg*, 5, 91-101.
- Alibaşoğlu M, Yeşildere T (1988). Meme Patolojisi. Veteriner Sistemik Patoloji, Cilt 1, S 326-365, Kardeşler Basımevi, İstanbul.
- Amer MA, ST-Laurent GJ, Brisson GJ (1975). Supplemental copper and selenium for calves: Effects upon ceruloplasmin activity and liver copper concentration. *Canad J Physiol Pharmacol*, 51, 649-653.
- Andwers R J, Kitchen BJ, Kwee WS, Dunalfe F (1983). Relationsh between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of the wolder. *Auts J Dairy Tech*, 71-74.
- Anonim (1981). International dairy federation (IDF): Laboratory methods for use in mastitis work, document: 132, Brussels.
- Anonim (1996). National mastitis council; current concepts of bovine mastitis. Fourth edition. NMC 2820 Walton commons west madison, WI 53704.
- Anonim(2010).[http://www.iskenderunveterinerlik.com/component/option,com\\_fireboard/Itemid,27/func,view/catid,29/id,57/](http://www.iskenderunveterinerlik.com/component/option,com_fireboard/Itemid,27/func,view/catid,29/id,57/), Erisim Tarihi: 17.012.2010.
- Anonim (2011). Detection of mastitis. ANSC 438 Lactation biology courses, mastitis resources, university of illinois, department of animal sciences, illinois, USA. [<http://classes.ansci.illinois.edu/ansc438/mastitis/detection.html>]. Erişim Tarihi: 30.03.2011.
- Arda M (1997). Temel Mikrobiyoloji, 1. baskı, Medisan Yayın Serisi No:25, Ankara.

- Arıkan S, Konukoglu D, Arıkan Ç, Akçay D, Davas I (2001). Lipit peroxidation and antioxidant status in maternal and cord blood. *Gynecol Obstet Invest*, 51, 145-149.
- Atroschi F, Parantainen J, Sankari S, Osterman T (1986). Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis. *Res Vet Sci*, 40, 361-366.
- Aydın F, Leloğlu N, Şahin M, Çolak A ve Otlı S (1985). Kars yöresi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine araştırmalar. *Pendik Vet Mikrobiyol Enst Derg*, 26, 55-65.
- Aydın N, Akay Ö (1984). Mastitisin mikrobiyolojik tanı yöntemleri. I. Mastitis semineri, 15- 16 Kasım 1984, Ankara, 76-84.
- Aydın N, Coşkuner MR (1983). Ankara bölgesinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan aerobik mikroorganizmaların ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere karşı duyarlılıkların saptanması üzerinde çalışmalar. *Etlik Vet Mikrobiyol Enst Derg*, 5, 7-28.
- Aynsley LH, Buol JM (1965). The use of a direct test as an indication of subclinical mastitis in dairy cattle. *Vet Rec*, 77, 379-382.
- Aytuğ CN, Alaçam E, Görgül S (1989). Sığırdaki Meme Hastalıkları. Teknografik Yayınları, İstanbul, 459-482.
- Basu TK, Dickerson JW (1996). Vitamins in Human Health and Disease. CAB International, Wallingford, UK.
- Baştan A (2002). İneklerde Meme Hastalıkları, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.
- Baştan A (2007). İneklerde Meme Hastalıkları, (2. baskı) Hatipoğlu Basım ve Yayınevi, Ankara.
- Baştan A (2010). İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları, Kardelen Ofset Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Baştan A, Kaymaz M, Fındık M, Duru Ö (1997a). İnek sütlerinde somatik hücre sayısı, serum proteinleri, laktoz ve elektriksel geçirgenlik arasındaki ilişkinin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44,1, 63-67.
- Baştan A, Kaymaz M, Fındık M, Erünel N (1997b). İneklerde subklinik mastitislerin elektriksel iletkenlik, somatik hücre sayısı ve California Mastitis Test ile saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44,1, 1-5.
- Batra TR, Singh K, Ho SK, Hıdıroğlu M (1991). Concentration of plasma and milk vitamin E and plasma  $\beta$ -carotene of mastitic and healthy cows. *J Vit Nutr Res*, 62, 233-237
- Batu A (1978). Sığır mastitisi. *Pendik Vet Bakt Serol Ents Derg*, 10, 2, 63-91.
- Batu A (1979). Sığır mastitisi, hastalığın laboratuvar teşhisi, tedavi ve korunması. *Pendik Vet Bakt Serol Ents Derg*, 11, 1, 80-122.
- Batu A (1980). Koyun ve keçi mastitisleri. *Pendik Vet Mikrobiyol Enst Derg*, 12, 52-59.
- Batu A (1991). Hayvanlarda Meme Hastalıkları ve Mastitis 1. Baskı, Kusak Ofset, İstanbul.

- Bergonier D, Berthelot X (2003). New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livestock Prod Sci*, 79, 1-16.
- Bergonier D, De Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34, 689-716.
- Berkin S, Milli Ü (1984). Mastitislerin Patolojisi. 1. Mastitis Semineri, 15-16 Kasım 1984, Ankara.
- Beutler E, Dubon O, Kelly BM (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
- Billon P, Decremoux R (1998). Mastitis of dairy ewes: etiology, detection and control. 4. Great lakes dairy sheep symposium, 25-27 June 1998, Spooner, Wisconsin, USA.
- Blood DC, Henderson JA (1974). Mastitis. Blood DC (editecion), In. 'Veterinary Medicine' 4. Ed, Baillere Tindall, London, 257-292.
- Blowey RW (1984). Mastitis monitoring in general practice. *Vet Rec*, 114, 259-261.
- Bramley AI, Dodd FH (1984). Reviews of the progres of dairy science: Mastitis control-progress and prospects, *J Dairy Res*, 51, 481-512.
- Braun U, Forrer WF, Lutz H (1991): Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. *Vet Rec*, 128, 543-547.
- Braund DG, Schultz LH (1963). Physiological and environmental factors affecting the california mastitis test under field conditions. *J Dairy Sci*, 46, 197-203.
- Burrows S, Pekala B (1971). Serum copper and ceruloplasmin in pregnancy. *Amer J Obstet Gynec*, 109, 907-909.
- Büyükpamukçu M (1980). Meme Hastalıkları. S. 60-204, Veteriner Patoloji. Cilt 3, 5. Bölüm, A Ü Vet Fak Yayınl. No: 356. AÜ Basımevi, Ankara.
- Byung PY (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. *Phys. Reviews* 74,1, 139-172.
- Cederblad G (1979). Plasma Proteins Involved in Haem Metabolism and in Transport of Metals, Hormones and Vitamins. In Plasma Proteins (Edited by B. Blamback and LA. Hanson). A. Wiley Interscience Publication. 34-117, John Wiley and Sons. Chister- New York-Brisbane- Toronto.
- Chai YC, Ashraf SS, Rokutan K, Johnston RB Jr, Thomas JA (1994). S-thiolation of individual human neutrophil proteins including actin by stimulation of the respiratory burst, evidence against a role for glutathione disulfide. *Arch Biochem Biophys*, 310, 273-281.
- Chamings RJ (1984). Effect of different methods of udder preparation on the somatic cell count and bacterial count of herd bulk milk. *J Soc Dairy Tech*, 37, 130-131.
- Champe PC, Harvey RA (1997). Biyokimya. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, (editörler). 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul.
- Chang IC, Lee TP, Matrone G (1975). Development of ceruloplasmin in pigs during the neonatal growth period. *J Nutr*, 105, 624-630.

- Chang IC, Millholland DC, Matrone G (1976). Controlling factors in the development of ceruloplasmin in pigs during the neonatal growth period. *J Nutr*, 106, 1343-1349.
- Chassagne M, Barnoun J, Chacronac JP (1998). Biological predictors for early clinical mastitis occurrence in Holstein cows under field conditions in France *Prev Vet Med*, 35, 29-38.
- Chew BP, Hollen LL, Hillers JK, Herlugson ML (1982). Relationship between vitamin A and  $\beta$ -carotene in blood plasma and milk and mastitis in Holsteins. *J Dairy Sci*, 65, 2111-2118.
- Colditz IG, Watson DL (1985). The immunophysiological basis for vaccinating ruminants against mastitis. *Aust Vet J*, 62, 145-153.
- Colitti M, Stradaidi G, Stefanon B (2000). Effect of atocopherol deprivation on the involution of mammary gland in sheep. *J Dairy Sci*, 83, 345-350.
- Concha C (1986). Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretions. A review of the literature. *Nord Vet Med*, 38, 257-272.
- Coşkun T (2003). Vitaminler, *Katkı Pediatri Derg*, 25, 357-540.
- Curzon G, Vallet L (1960). The purification of human caeroplasmin. *Biochem J*, 74, 279-287.
- Çavdar Z, Eğrilmez MY, Bülbül M, Güner G, Koçtürk S (2006). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile eritrositlerde toplam ve indirgenmiş glutasyon miktarının tayini, *Turk J Biochem*, 31,4, 187-193.
- Daniel RC, Smith GC, Barnum DA (1966). The relationship of california mastitis test (C.M.T.) scores with leucocyte counts on bucket milk samples. *Can Vet J*, 7, 80-83.
- Davies NT, Wahle KWJ (1978). A Role For Copper in Microsomal Mixed Function Oxidases. 23-27 in Proceedings of the 3rd International Symposium on Trace Element Metabolism in Man and Animals (Edited by M. Kirschgessner). Arbeitskreis Für Tierernährungsforschung Weihenstephen.
- Deveci H, Apaydın AM, Kalkan C, Öcal H (1994). Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Birinci Baskı. F. Ü. Basımevi, Elâzığ.
- Deveci HA (2007). Mastitisli (meme iltihabı) ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kars.
- Dhakal IP (1995). Subclinical Mastitis in Buffalo: Prevalance and Evaluetion on the Use of Dry Cow Therapy. In: Proceedings of the Third IDF International Mastitis Seminar, Tel-Aviv, Israel, 28 May-1 June, Edited By. Saran A and Soback S., P: 58-62.
- Diker S (1984). Koliform Mastitisler. 1. Mastitis semineri, 15-16 Kasım 1984, Ankara.
- Dodd FH (1983). Mastitis-progress on control. *J Dairy Sci*, 66,8, 1773-1780.
- Dohok IR, Meek AH (1982). Sometric cell counts in bovine milk. *Can Vet J*, 23,1-150.
- Dündar Y, Aslan R (2000). Hekimlikte antioksidant stres ve antioksidantlar, Afyon Kocatepe Üniv. Yayın no:29.

- El-Saied UM, Carriedo JA, San Primitivo F (1998). Heritability of test day somatic cell counts and its relationship with milk yield and protein percentage in dairy ewes. *J Dairy Sci*, 81, 2956-2961.
- Ergun H, Mert N (1984). Sütte mastitis nedeniyle meydana gelen biyokimyasal değişmeler. I. Mastitis semineri, 24 Kasım 1984, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
- Erişir M, Kandemir FM, Yüksel M (2011). İneklerin sütündeki MDA, GSH Düzeyleri ile GSH-Px, CAT aktiviteleri üzerine subklinik mastitisin etkisi. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 25,2, 67-70.
- Erskine RJ, Eberhart RJ, Grasso PJ, Scholz RW (1989). Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets. *Am J Vet Res*, 50, 2093–2100.
- Erskine RJ, Eberhart RJ, Hutchinson LJ, Spencer SB (1987). Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *JAWMA*, 190, 11, 1417-1421.
- Ersoy E, Bayşu N (1986). Biyokimya. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara
- Eskiizmirli S (2004). Sığırlarda Mastitis, Büyükbaş Hayvan Hastalıkları, Çiftçi Eğitim Serisi Yayınları, Ankara, 6, 21-35.
- Faisel H, Pittrof R (2000). Vitamin A and causes of maternal mortality association and biological plausibility. *Public Health Nutrition*, 3,3, 321–327.
- Faull WB, Hughes JW, Clarkson MJ, Walton GS (1984). Mastitis Notes for the Dairy Practitioner. 2. Ed, Liverpool University Press, Liverpool.
- Frank NA, Pounden WD (1961). Prevalence of bovine mastitis. *J Am Vet Med Assoc*, 138, 184-187.
- Fthenakis GC, El-Massanat ETS, Booth JM, Jones JET (1991). Somatic cell counts of ewes milk. *Br Vet J*, 147, 575-581.
- Galton E, Atkinson RW, Smith TW (1982). Effects of premilking udder preparation on environmental contamination of milk. *J Dairy Sci*, 65, 1540-1543.
- Ghergariu S (1978). Some factors affecting the incidence of swayback in labs. 500 in proceedings of the 3rd international symposium on trace element metabolism in man and animals (Edited by M. Kirschegeßner). Arbeitskreis für Tierernährungsforschung Weihenstephen.
- Gözükara EM (1989). Biyokimya, İÜ Yayınları, Malatya.
- Gray DM, Schalm OW (1960). Interpretation of the california mastitis test on milk from individual mammary quarters, bucket milk and bulk herd milk. *J Am Vet Med Assoc*, 136, 195.
- Green TJ (1984). Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes. *Vet Rec*, 114, 43-49.

- Gudding R, McDonald JS, Cheville NF (1984). Pathogenesis of staphylococcus aureus mastitis: Bacteriologic, histologic, and ultrastructural pathologic finding, *Am J Vet Res*, 45, 12, 2525-2531.
- Han HR, Pak SI, Kang SW, Jong WS, Youn CJ (2000). Capsular polysaccharide typing of domestic mastitis-causing staphylococcus aureus strains and its potential exploration of bovine mastitis vaccine developmen. I. Capsular polysaccharide typing, isolation and purification of the strains. *J Vet Sci*, 1, 53–60.
- Hankievicz J, Sevecek E (1974). Untersuchungen über den kupfer und zeruloplasmgehalt bei frauen während der schwangenschaft und bei solchen mit gewissen gynakologischen krankheiten. *Zbl Gynak*, 96, 905-909.
- Harmon RJ (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 77,7, 2103-2112.
- Hemingway RG, Brown NA, Inglis JSS (1962). The effects of calcium carbonate, lead acetate and copper supplements on blood and liver copper concentrations of young sheep. *Res Vet Sci*, 3, 348-356.
- Hidiroglu M, Charmley E (1990). Vitamin E concentrations in blood plasma of sheep and in sheep tissues after a single intraruminal or intraperitoneal administration of DL-alpha-tocopheryl acetate. *Res Vet Sci*, 48, 2, 158-161.
- Hill AW (1986). Mastitis, the non-antibiotic approach to control. *J Appl Bacteriol Symp*, Suppl 1986, 93S-103S.
- Hillerton JE (2000). Detecting mastitis cow-side. National mastitis council annual meeting proceedings, USA, 48-53. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.515.9109&rep=rep1&type=pdf> Erişim Tarihi: 18.01.2015.
- Hogan JS, Weiss WP, Smith K, Soridillo LM, Williams SN (1996).  $\alpha$ -tocopherol concentrations in milk and plasma during clinical Escherichia coli mastitis. *J Dairy Sci*, 79, 71-75.
- Housawi F, Abu Elzein ET, Al-Naeem1 AM, Gameel A, Homaida AO (2008). Induced udder orf infection in sheep and goats. *Veterinarski Arhiv*, 78, 3, 217-225.
- Hurley WL, Morin DE (2002). Mastitis Lesson A & B. Departement of animal science and departement of clinical veterinary medicine. University of illnois. Urbana-Champaign.
- Ilari JL (1975). Nutrition et metabolisme cuprique de la vache. *Le Lait*, 543-544, 171-181.
- İmik H, Aytaç M, Coşkun B ve Fidancı H (1998). Effect of E and C vitamins on the growth and immunity of the angora goat kidsexposedto stress, *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 51-58.
- İzgür H (1984). Mastitiste predispoze faktörler. I. Mastitis semineri, Ankara, 17-29.
- İzgür H ve Kılıçoğlu Ç (1984). İneklerde subklinik mastitislerin sağıtımları üzerinde çalışmalar. *Doğa Bil Derg*, 8,3, 252-256.
- Jaeggi JJ, Govindasamy-Lucey S, Berger YM, Johnson ME, McKusick BC, Thomas DL, Wendorff WL (2003). Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 86,10, 3082-3089.

- Jain NC (1979). Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *J Dairy Sci*, 62,1, 128-134.
- Jain NC, Schalm OW, Carroll EJ, Lasmanis J (1972). Leukocytes and tissue factors in the pathogenesis of bovine mastitis. *Am J Vet Res*, 33,6, 1137-1145.
- Janssen YMW, Hauten BV, Borm PJA, Mossmon BT (1993). Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest*, 69,3, 261-274.
- Jayarao B (2004). Bovine Mastitis. Department of veterinary science, pennsylvania state university, USA.
- Jhambh R, Dimri U, Gupta VK, Rathore R (2013). Blood antioxidant profile and lipid peroxides in dairy cows with clinical mastitis. *Vet World*, 6, 5, 271-273.
- Jones GF, Ward GE (1989). Cause, occurrence and clinical signs of mastitis and anorexia in cows in a Wisconsin study. *JAVMA*, 195,8, 1108-1113.
- Jones TC, Hunt RD (1983). The Genital System. P. 1543-1550, Veterinary Pathology, 5. ed., Lea and Fabiger, Philadelphia, USA.
- Jones TO (1990). Escherichia coli mastitis in dairy cattle - A review of the literature. *Vet Bull*, 60, 3, 205-231.
- Kalaycıoğlu L (1984). Konya Zootekni Araştırma Enstitüsü merinos koyunlarında eritrosit glutatyon değerleri üzerinde araştırmalar, *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, 141-147.
- Kalkan C, Risvanlı A (1996). İneklerde mastitis'te koruma kontrol. *Bülten DİF*, 7, 6-10.
- Kapur MP, Singh RP (1977). Diagnosis of mastitis: A comparative study of four indirect tests. *Haryana Veterinarian*, 26, 69-73.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000). Klinik Biyokimya, Medisan Yayınları, 1. Baskı, Ankara.
- Kaya İ, Güven A (2008). Mastitisli ineklerde kan vitamin A,  $\beta$ -Karoten ve vitamin E düzeylerinin belirlenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14,1, 57-61.
- Keefe GP (1997). Streptococcus agalactiae mastitis: A Review. *Can Vet J*, 38, 429-437.
- Kesenaş H, Karagözlü C, Akbulut N (2001). Kaliteli süt üretiminde somatik hücre sayım yöntemleri ve önemi. GAP II. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim, I. Kitap, Sanlıurfa, 287-296.
- Kesseb M, Hamliri A (1986). Experimental fluorosis in sheep: alleviating effects of aluminium, *Vet Hum Toxicol*, 28,4, 300-304.
- Kılıçoğlu Ç (1984). Mastitislerde Klinik Tanı. 1. Mastitis Semineri. 15-16 Kasım 1984, Ankara.
- Kılıçoğlu Ç, Alaçam E (1985). Veteriner Doğum Bilgisi ve Üreme Organları Hastalıkları. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
- Kızıl S, Altıntaş A (2000). Şap hastalıklı sığırlarda süt ve kanda vitamin A, vitamin E ve selenyum düzeyleri, *Türk J Vet Animal Sci*, 25, 961-969.
- Kirschgessner M, Spoerl R, Schneider U (1978). Studies On the Superretention of Trace Elements (Cu, Zn, Mn, Fe) Uring Gravidity. 440-443 in Proceedings of the 3rd

- International Symposium on Trace Element Metabolism in Man and Animals (Edited by M. Kirschgessner). Arbeitskreis für Tierernährungsforschung Weihenstephen.
- Kleczowski M, Klucincki W, Shaktur A, Sikora J (2005). Concentration of ascorbic acid in the blood of cows with subclinical mastitis. *Pol J Vet Sci*, 8, 121-125.
- Little RE, Gloden BC (1991). Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy. A review of the literature, *Reprod Toxicol*, 13, 347-352.
- Loufter SH, Miltenburg J, Lange D (1995). A Computer Programme For Subclinical Mastitis Monitoring in the Netherlands. In: Proceedings of the Things IDF International Mastitis Seminar, Tel-Aviv, Israel.
- Løvstad RA (1997). A study on ascorbate inhibition of ceruloplasmin ferroxidase activity. *Biometals*, 10,2, 123-6.
- Lunce J, Blake D (1990). Oxygen Free Radicals. Their Prevalence to Disease Processes, In "The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease" Editors, RD Cohen, B Lewis, 189-212, Balliere Tindall, London.
- Machlin LJ, Bendich A (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*, 1, 441-446.
- Madsen PS (1986). Automation of Cell Counting Principles. In: Proceeding of Symposium on Mastitis Control and Hygienic Production of Milk, Espoo, Finland, 10-12 June, p.: 137-152.
- Malinowska A (1986). Distribution of vitamin C in biological fluids and tissues of pregnant sows and their foetuses. *Medycyna Weternaryjna*, 42, 4, 244-247.
- Marshall RT, Edmondson JE (1962). Value of california mastitis test records to the practitioner. *J Am Vet Med Assoc*, 140, 45-49.
- Mavrogenis AP, Koumas A, Kakoyianis CK, Taliotis CH (1995). Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in sheep. *Small Rumin Res*, 17,1, 79-84.
- McDonald JS (1984). Streptococcal and Staphylococcal Mastitis. 269-286. Ed JJ Jarett In: The Veterinary Clinics of North America. First Ed, WB Saunders Com., Philadelphia.
- Megersa B, Tadesse C, Abunna F, Regassa A, Mekibib B, Debela E (2010). Occurrence of mastitis and associated risk factors in lactating goats under pastoral management in Borana, Southern Ethiopia. *Trop Anim Health Prod*, 42, 1249-1255.
- Meglia GE, Johannisson A, Petersson L, Waller KP (2001). Changes in some blood micronutrients, leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows. *Acta Vet Scand*, 42,1, 139-150.
- Memişoğulları R, Bakan E (2004). Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 18, 4, 193-197.
- Menzies PI (2000). Mastitis of sheep-overview of recent literature. Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium, November 2-4, Guelph, 68-76.

- Mert N, Bildik A, Ertekin A, Dede S (1999). Biyokimya, YYÜ Veteriner Fakültesi Yayını, Van.
- Miller JK, Brzezinska-Slebozinska E, Madsen FC (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J Dairy Sci*, 76, 2812-2823.
- Miller KW, Yang CS (1985). An isocratic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol,  $\alpha$ -tocopherol and various carotenoids, *Analit Biochem*, 145, 21–26.
- Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D (1996). Biochemistry a Case-Oriented Approach, 6<sup>th</sup> Ed, The Clarinda Company, St. Lous. Missouri., Çeviri Ed. Altan N, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Moslen MT (1994). Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine, Ed. D. Armstrong Plenum Press, NewYork Pp. 1-15.
- Murinda SE, Nguyen LT, Ivey SJ, Gillespie BE, Almeida RA, Oliver SP (2002). Prevalance and moleculer characterization of escherichia coli O157:H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull dairy cows: A 12- mounity survey of dairy farms in eats tennessee. *J Food Prot*, 65, 752-759.
- Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW (1993). Harper'ın Biyokimyası, Çev. G. Menteş ve B Ersöz, Barış Kitapevi, İstanbul.
- Musal B, Ulutas PA, Turkyılmaz S (2007). Blood vitamin C, vitamin A,  $\beta$ -carotene, ceruloplasmin, glutathione and malondialdehyde concentrations in cows with subclinical mastitis treated with intramammary antibiotics. *Revue Med Vet*, 158, 633-640.
- Ndiweni N, Field TR, Williams MR, Booth JM, Finc JM (1991). Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England. *Vet Rec*, 129, 86-88
- Nickerson SC (1985). Immune mechanisms of the bovine udder: An overview. *J Am Vet Med Assoc*, 187, 41-45.
- Nickerson SC (1989). Immunological aspects of mammary involution. *J Dairy Sci*, 72, 1665-1678.
- Niki E (1991). Vitamin C as an antioxidant, selected vitamins, minerals and functional consequences of maternal malnutrition. *World Rew Nurt Diet*, 64,1, 30.
- Nizamlioğlu M, Dinç DA, Erganis O, Özeren F, Ok Ü (1993). İneklerin subklinik mastitislerinde sütte N-asetil B-D glikozaminidaz (NAG ase) enzimi ile kan plazmada vitamin A ve vitamin E değerlerinin araştırılması. *Hayvancılık Araşt Derg*, 3,1, 20-22.
- Nizamlioğlu M, Dinç DA, Erganis O, Özeren F, Uçan S (1992). Subklinik mastitisli koyunlarda N-asetil  $\beta$ -D glukozaminidaz (NAG ase) enzimi ve bazı biyokimyasal değerlerin araştırılması. *Veterinarium*, 3,2, 12-16.
- Nizamlioğlu M, Erganis O (1991). Suitability of laktate dehydrogenase activity and somatic cell counts of milk for detection of subclinical mastitis in Merino ewes. *Acta Vet Hung*, 39, 21-23.

- Nizamlıoğlu M, Tekeli T, Erganis O, Baspınar N (1989a). Koyunlarda subklinik mastitislerin erken tanısı amacıyla süt ve kanda bazı biyokimyasal değerler ile mikrobiyolojik yönden araştırmalar. *Etlik Vet Mikrob Derg*, 6,5, 115- 125.
- Nizamlıoğlu M, Tekeli T, Erganis O, Baspınar N (1989b). İneklerde subklinik mastitislerin biyokimyasal ve mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, 5,1, 135- 143.
- Nockels CF, Blair R (1996). Antioxidant improve cattle immunity following stres. *Anim Feed Sci Tec*, 62,1, 59-68.
- Nockels CF, Menge DL, Kienholz EW (1976). Effect of excessive dietary vitamin E on the Chick. *Poult Sci*, 55,2, 649-660.
- Oliver SP, Lewis MJ, Gillespie BE, Dowlen HH (1992). Influence of prepartuma antibiotic therapy on intramammary infection in primigravid heifers during early lactation. *J Dairy Sci* 75, 406-414
- Oliver SP, Sordillo LM (1988). Udder healthy in the periparturient period. *J Dairy Sci*, 71,9, 2584-2606.
- Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE. (1979). Ascorbic acid analysis II. determination after derivatisation with 2,2-dinitrophenylhydrazine selected methods for determination of ascorbic acid in animal cells. *Tissues and Fluids Meth Enzymol*, 62, 7-8
- zdener H, Çelik C (1993). Vitamin C'nin metabolik ve klinik nemi: Yeni yaklaşımlar. *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi* 13, 200-209.
- Öztürk A (2007). Süt ve Besi Sığırcılığı Semineri. Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara.
- Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification, *Clin Chim Acta*, 333, 19-39
- Pearson JKL, Greer DO, Spence BK (1971). The relationship between bulk milk cell counts and cow and quarter mastitis incidence. *Vet Rc*, 88, 488-494.
- Pecker L, Landvik S (1990). Vitamin E in biological systems, antioxidants in therapy and preventive medicine. 93–103, Plenum Press, New York.
- Pengov A (2001). The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *J Dairy Sci*, 84, 572-574.
- Persson-Waller K, Colditz IG, Seow HF (1997). Accumulation of leucocytes and cytokines in the lactating ovine udder during mastitis due to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Res Vet Scien*, 62, 63-66.
- Philpot WN, Nickerson SC (1991). Mastitis: Counter Attack. First Edition, Babsob Bros Co, Illinois, USA
- Pir Yağcı İ (2005). Koyunlarda mastitisin etiyopatogenezi ve tanısı. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 76, 3-4, 30-35.
- Pir Yağcı İ (2008). Koyunlarda subklinik mastitis; etiyoloji, epidemiyoloji ve tanı yöntemleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14,1, 117-122.

- Pir Yağcı İ, Kaymaz M (2006). Koyunlarda klinik, mikrobiyolojik ve biyokimyasal metotlar ile subklinik mastitislerin saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 53,1, 31-35.
- Pyorala S, Syvajarvi J (1987). Bovine acute mastitis. Part 1. Clinical aspects and parameters inflammation in mastitis caused by different pathogens. *J Vet Med*, 34, 373-584.
- Pyorala S (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res*, 34, 565-578.
- Ravin, HA (1956): Lancet, 1: 726. Alındı: Yenson, M. (1986): Klinik Biyokimya Ders Notları. Beta Yayın Ltd. Şti. İstanbul.
- Regi G, Honegger R, Buchi S, Segessemann V, Rusch P (1991). Cell count and schalm test results of milk from dairy sheep with healthy udders during the course of a complete lactation. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 133,2, 75-80.
- Rizzi R, Caroli A, Bolla P, Acciailoi A, Pagnacco G (1988). Variability of reduced glutathione levels in Massese ewes and its effect on daily milk production, *J Dairy Res*, 55, 345-353.
- Roberts ME (1978). Bovine hypocuprosis. *Vet Rec*, 99, 696-698.
- Rose WC (1984). New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. *Nut Rev*, 42,12, 397-410.
- Salmanoğlu B, Pamukçu T, Yarım GF (2002). Subklinik mastitisli süt ineklerinde meme içi levamizol uygulanmasında süt ve kanda adenozin deaminaz, vitamin A ve beta-karotin düzeyleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 49, 17-21.
- Sargeant JM, Schukken YH, Leslie KE (1998). Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook, *J Dairy Sci*, 81, 1545-1554.
- Saxena RK, Dutta GN, Borah P and Jyoti B (1993). Incidence and etiology of bovine subklinik mastitis. *Indian Vet J*, 70, 1079-1080.
- Schalm OW, Carrol EJ, Jain NC (1971). Bovine Mastitis, First ed, Lea-Febiger, Philadelphia.
- Schalm OW, Noorlander D (1957). Experiments and observations leading to the development of the California mastitis test. *J Amer Vet Med Assoc*, 130, 199-207.
- Shearer JK, Harris BJr (2003). Mastitis and Dairy Goats. DS 85 Published by University of Florida.
- Sinclair AJ, Bernett AH, Junec J (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and disease, *British J Hosp Med*, 43, 334-344.
- Smith KL, Hogan JS (1996). Future Prospects for mastitis control. Proceedings XIX World Buiatrics Congress, Edinburgh, Scotland. 1, 263-269.
- Stahl W, Sies H (1997). Antioxidant defense: Vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 46, 14-18.
- Stryer L (1994). Biochemistry. Stanford University, WH Freeman and Company, New York.

- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V (1998). Biyoistatistik. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Şimşek H (2002). Subklinik mastitisli ineklerde kan ve sütte lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidanlar üzerine etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji ABD, Doktora Tezi, Elâzığ.
- Şimşek H, Aksakal M (2005). Subklinik mastitisli ineklerde kan ve sütte lipit peroksidasyon ve bazı antioksidanlar üzerine E vitamininin etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Dergisi*, 52, 71-76.
- Şimşek H, Aksakal M (2006). Subklinik mastitisli ineklerde E vitamininin plazma A vitamini, beta- karoten, glutatyon peroksidaz, redükte glutatyon ve süt A vitamini düzeylerine etkisi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg*, 20,3, 199-203.
- Taylor MM, Phillips JD (1972). A comparison between the bacterial growth from milk on two different media and the somatic cell count. *Br Vet J*, 128,5, 242-248.
- Tekkes Y (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv Fen Bil Enst. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
- Thomson RG (1984). General Veterinary Pathology. 2. ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Tucker EM (1971). Genetic variation in the sheep red blood cell. *Biol Rev*, 46, 341-386.
- Ünal EF, Nak Y, Nak D, Tavukçuoğlu F (1985). Subklinik mastitislerin teşhisinde farklı analiz metotlarının kullanım olanakları. *U Ü Vet Fak Derg*, 14, 67-73.
- Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R (2009). Mastitis detection: Current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol*, 27,8, 486-493.
- Weiss WP, Hogan JS, Todhunter DA, Smith KL (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows, *J. Dairy Sci*, 80, 1728-1737.
- Yagi K (1994). Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine. In "Free Radicals in Diagnostic Medicine", Ed. D Armstrong, Plenum Press, New York.
- Zaspel BJ, Csallany S (1983). Detemination of alpha-tocopherol in tissues and plasma by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*, 130, 146-150.
- Zengin K, Mert H, Mert N (2017). Catalase activity and the levels of MDA, AOPP in sheeps with subclinical mastitis. *Research in: Agricultural & Vet Sci*, 1,1, 5-11.


## ÖZGEÇMİŞ

Barış ERTUNÇ; Hakkâri'nin Yüksekova ilçesinde 29.01.1983 tarihinde doğdu. Çocukluğu Van'ın Edremit ilçesinde geçti. Edremit İlköğretim Okulu ve Edremit Lisesi'ni bitirdikten sonra 2001 yılında Y.Y.Ü Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nü kazandı ve bu bölümden 2006 yılında mezun oldu. 2008 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD'da yüksek lisans eğitimine başladı. Evli ve 2 çocuk babası olan Barış ERTUNÇ halen Sanovel İlaç Sanayi Tic. A.Ş. firmasında tıbbi tanıtım sorumlusu olarak görev yapmaktadır.



## EKLER

### Ek 1. Tez orjinallik raporu

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU	
Tarih:26/09./...2017.....	
Tez Başlığı / Konusu: SUBKLİNİK MASTİTİSLİ KOYUNLARDA GSH, SERÜLOPLAZMİN, A VİTAMİNİ, C VİTAMİNİ VE E VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI	
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 36 kısmına ilişkin, ...07/06/2017..... tarihinde tez danışmanım tarafından TURNİTİN.intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 12. (...oniki.....) dir. Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)	
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.	
Gereğini bilgilerinize arz ederim.	
 Tarih ve İmza 26.09.2017	
Adı Soyadı: ...Barış ERTUNÇ.....	
Öğrenci No:.....	
Anabilim Dalı: ... Biyokimya.....	
Program: ..... Veteriner.....	
Statüsü: Y.Lisans <input checked="" type="checkbox"/> Doktora <input type="checkbox"/>	
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR
YÜZÜNCÜYIL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ BİYOKİMYA A.B. DALI Prof. Dr. Nihat MERT	
(Unvan, Ad Soyad, İmza) Prof. Dr. Nihat MERT	(Unvan, Ad Soyad, İmza)

## Ek 2. Etik kurul onayı



T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)  
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE  
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Sublinik Mastitis'li Koyunlarda MDA, AOPP Düzeyleri ve Katalaz Aktivitesi <i>Catalase activity and the levels of MDA, AOPP in sheeps with subclinical mastitis</i>	
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Prof. Dr. Handan MERT Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Kübra Zengin	
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> : 01.01.2010		
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> : 30.06.2010		
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> : 6 ay/ 6 months		
Proje No / <i>Project Number</i> : -		
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> : -		
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> : -		
<b>Karar:</b> Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30/06/2011 tarih ve 2011/06/16 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.		
<b>Decision:</b> <i>Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 30/06/2011 (decision number 2011/06/16).</i>		
Başkan / <i>Chair</i> Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR		
Üyeler / <i>Members</i>		
Prof. Dr. Murat DEMİREL	Prof. Dr. Handan MERT	Prof. Dr. Abuzer TAŞ
Doç. Dr. Hasan ÜLKER	Doç. Dr. Fazıl ŞEN	Doç. Dr. Ali İhsan ZENGİNGÜL
Doç. Dr. Mehmet KARACA	Doç. Dr. Fatma İLHAN	Doç. Dr. Nurettin CENGİZ
Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	Yrd. Doç. Dr. Hüseyin GÜBÜCÜOĞLU	
Yrd. Doç. Dr. Şükran SEVİMLİ	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	
Vet. Hekim Musa ÇETİN		

Not: Tezin numuneleri bu araştırma ile beraber toplanmıştır. Aksi bir etik kurul kararı alınmamıştır.  
Prof. Dr. H. Mert  
WTF