



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2015-0003

**SIĞIRLARIN KLİNİK MASTİTİSLERİNDEN
PSEUDOMONAS AERUGINOSA'NIN İZOLASYONU VE
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI**

HAZIRLAYAN
Cemil ŞAHİN

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

AYDIN-2015

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2015-0003**

**SIĞIRLARIN KLİNİK MASTİTİSLERİNDEN
PSEUDOMONAS AERUGINOSA'NIN İZOLASYONU VE
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI**

**HAZIRLAYAN
Cemil ŞAHİN**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ**

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Cemil ŞAHİN tarafından hazırlanan “SİĞİRLARIN KLİNİK MASTİTİSLERİNDEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*’NIN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI” başlıklı tez, 15/01/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

1- Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ, Veteriner Fakültesi

2- Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

ADÜ, Veteriner Fakültesi

3- Yrd. Doç. Dr. Devrim BEYAZ

ADÜ, Veteriner Fakültesi



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 09100- AYDIN
Santral : (256) 218 20 00 Direkt Telefon : 218 20 44 Fax : (256) 218 20 44

ÖNSÖZ

Mastitis, süt sığırı yetiştiriciliğinde sıklıkla karşılaşılan, süt verimini ve hayvan sağlığını olumsuz etkileyen, dolayısıyla da ekonomik kayıplara yol açan enfeksiyonların başında gelmektedir. Sığır mastitisiyle ilgili birçok araştırma yapılmasına rağmen, hastalık halen süt endüstrisinin ekonomik bir problemi olmaya devam etmektedir. Mastitis hayvan sağlığında olduğu kadar insan sağlığında da önemli sorunlara yol açabilmektedir. Hayvan sağlığında fonksiyonel meme lobundaki kayıplar, süt veriminde azalma ve ölümlere neden olmaktadır. İnsan sağlığını ise düşük kalitede süt/süt ürünleri ve sütte antibiyotik kalıntılarıyla olumsuz olarak etkilemektedir. Süt işletmelerinde giderleri arttırarak ve süt veriminde belirgin bir azalmaya sebep olarak önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Mastitis hastalığında mikrobiyel faktörler büyük rol oynamaktadır. Bu mikrobiyal faktörler içerisinde çevresel mastitis etkeni olan *P. aeruginosa* ise gerek çok fazla araştırılmaması gerekse de antibiyotiklere oluşturduğu direnç açısından önemli bir yer tutmaktadır. Mastitis vakalarının büyük bölümü sıklıkla kullanılan antibiyotiklere olumlu yanıt vererek iyileşme gösterirken, bir bölümü de sahada çokça kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli olması sebebiyle olumsuz yanıt vermekte ve durumu içinden çıkılmaz hale getirerek hem serbest veteriner hekimlerimizi hem de yetiştiricilerimizi zor durumda bırakabilmektedir. Bu çalışmada Aydın ilinde görülen sığırların klinik mastitislerinden, antibiyotiklere karşı dirençli bir çevresel mastitis etkeni olan *Pseudomonas asaeruginosa*'nın izolasyonu ve izole edilen etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından VTF-14030 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Mastitis.....	1
1.2. Klinik Mastitisler.....	2
1.3. Etiyoloji.....	5
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	11
2.1. Gereç.....	11
2.1.1. Örnekler.....	11
2.1.2. Besiyerleri.....	11
2.1.2.1. İzolasyon Besiyerleri.....	11
2.1.2.2. İdentifikasyon Besi yerleri.....	12
2.1.3. Ayıraçlar.....	15
2.1.3.1. İndol Ayırıcı (Kovaks Ayırıcı)	15
2.1.3.2. Nitrat Ayıraçları	15
2.1.3.3. Metil Red Ayırıcı	16
2.1.3.4. VogesProskauer Ayırıcı.....	16
2.1.4. Boyalar.....	16
2.2. Yöntem.....	16
2.2.1. Mikrobiyolojik Muayene.....	16
2.2.1.1. Örneklerden <i>P. aeruginosa</i> İzolasyonu.....	16
2.2.1.2. İzole Edilen Şuşlarınİdentifikasyonu.....	16
2.2.1.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	18
3. BULGULAR.....	20
3.1. Bulgular.....	20
3.1.1. Örnekler.....	20
3.1.2. Mikrobiyolojik Bulgular.....	20
4. TARTIŞMA.....	22

5. SONUÇ.....	26
ÖZET.....	27
SUMMARY.....	28
KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	34
TEŞEKKÜR.....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 <i>P. aeruginosa</i> 'nın Biyokimyasal Özellikleri	18
Çizelge 2.2 Standart Zon Çapları	19
Çizelge 3.1 İzole Edilen <i>P. aeruginosa</i> İzolatlarının Antibiyogram Sonuçları.....	21

1. GİRİŞ

1.1 Mastitis

Mastitis, bir veya birden fazla meme lobunda oluşan yangıyı ifade eder. Genellikle bakteriyel veya mikotik patojen etkenlere bağlı olarak şekillenen kelime olarak Latince meme anlamına gelen “mastos” ve yangı anlamına gelen “itis”ten türetilmiştir (Jayarao 2004).

Tüm dünyada, süt sığırcılığını etkileyen en maliyetli hastalık olması mastitisin önemini ortaya koymaktadır (Jayarao 2004). Sığır mastitisiyle ilgili birçok araştırma yapılmasına rağmen, hastalık halen süt endüstrisinin ekonomik bir problemi olmaya devam etmektedir (DeGraves ve Fetrow 1993, Hillerton 1996). Mastitis hayvan sağlığında olduğu kadar insan sağlığında da önemli sorunlara yol açabilmektedir. Hayvan sağlığında fonksiyonel meme lobundaki kayıplar, süt veriminde azalma ve ölümlere neden olmaktadır. İnsan sağlığını ise düşük kalitede süt/süt ürünleri ve sütte antibiyotik kalıntılarıyla olumsuz olarak etkilemektedir (Jayarao 2004). Süt işletmelerinde giderleri arttırarak ve süt veriminde belirgin bir azalmaya sebep olarak önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Mastitis hastalığında mikrobiyel faktörler büyük rol oynamaktadır. Normal koşullarda süt inekçiliği işletmelerinde yılda ortalama % 30-35 oranında mastitis olgusu görülmektedir (Bademkiran ve ark 2005). Ekonomik kayıplar, üretimde düşüş, artan değiştirme (sürüden ayıklanma sonucu), atılan süt, ilaç, veterinerlik ve işgücü maliyetleri sonucu şekillenmektedir. Kayıplar hastalığın hem subklinik hem de klinik formlarında görülmektedir (Smith ve Hogan 2001).

Süt inekçiliğinin yapıldığı işletmelerde en sık rastlanılan problem mastitis'tir. Ortalama her 100 inekten 17'sinde bulunmuştur. Yörelere göre değişmekle birlikte yurt çapında % 5-53 arasında olup, mastitisin yurdumuz inekçiliğinde ne kadar önemli bir sorun olduğu görülmektedir (Aydın 1989, Jayarao 2004).

Sığırlarda mastitis etkenleri bakteriler, mantarlar, mayalar, mycoplasmalar ve yaklaşık % 28'i (Jayarao 2004) de identifiye edilemeyen etkenlerden oluşmaktadır (Mustafa 2003, Jayarao, 2004, Keskin 2011).

Mastitisler etkenin kaynağına göre, kontagiyöz (bulaşıcı) ve çevresel olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011).

Kontagiyöz mastitis hayvandan hayvana veya bir meme lobundan diğerine bulaşma ile oluşur. *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* ve *Mycoplasma* türleri başlıca etkenlerdir (Crist ve ark 1997, Ruegg 2001, Bradley 2002, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011).

Çevresel mastitis hayvanın yaşadığı ortamda (su, toprak, gübre, ahır vs.) bulunan bakterilerin laktasyon ve kuru dönemde oluşturduğu enfeksiyondur. Daha çok klinik mastitise neden olur. Gram negatif bakterilerden *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Proteus sp.*), *Pseudomonas sp.*, çevresel *Streptococcus sp.* (başlıca *Streptococcus uberis* daha seyrek olarak *Streptococcus dysagalactia*) ve *Enterococcus faecalis* rol oynar. Yaz mastitisinden sorumlu ve sineklerin taşıyıcılığını yaptığı *Actinomyces pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*) ve *Mycoplasma* türleri (*Mycoplasma bovis*) de bu tip mastitiste rol oynar (Crist ve ark 1997, Ruegg 2001, Bradley 2002, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011). Ayrıca tüberküloz etkenleri, *Proteus*, *Leptospira*, *Listeria* ve *Brucella* türleri de mastitise neden olmaktadır.

İnfeksiyonun klinik formlarına bakıldığında; mikroorganizma meme bezini enfekte ettikten sonra buraya yerleşerek hızlı bir şekilde çoğalmaya bağlar ve bunu konak-patojen ilişkisine bağlı olarak çeşitli klinik bulgular takip eder. Konak immun cevabının başarısız, antibiyotik tedavisinin yetersiz olduğu durumda etken meme bezine kolonize olur ve mastitis şekillenir (Vehmas ve Sandholm 1995, Tmanova 2003). Sonuç olarak da yangının klinik bulguları olan şişkinlik, renk değişimi, ısı artışı ve ağrı gelişir. Klinik semptomlar perakut, akut, subakut ve kronik formlar halinde karakterize edilir. Klinik mastitis durumlarında sütteki değişimler (pıhtı, renk değişimi, kan görülmesi vb.) açığa çıkar. Ateş, anormal sekresyon, iştah kaybı, süt üretiminin azalması akut mastitis durumlarında görülen ilave klinik bulgulardır (Sandholm 1995, Tmanova 2003).

Mastitisler klinik seyirlerine göre klinik (% 5-10) ve subklinik (% 90-95) olarak sınıflandırılırlar (Jayarao 2004).

1.2. Klinik Mastitisler

Perakut Mastitis

Memede kesintiye uğrayan fonksiyonlar (süt veriminde azalma, sütün kompozisyonunda değişimler) ve sistemik belirtilerle (meme lobunda ağrı-sertleşme-

asimetri, yüksek ateş, depresyon, dehidrasyon, titreme, rumen motilitesinde azalma, iştahın kaybolması, canlı ağırlık kaybı) ortaya çıkan tam bir yangıyla karakterize klinik mastitis tipidir. Septisemi ve toksemi gelişebilir. Perakut mastitiste, sistemik belirtiler süt ve memedeki belirtilerden daha fazla öne çıkmaktadır. Enfekte meme lobundaki sütün fiziksel görünümü seröz, sarımtırak karakterde olabilir (Deveci ve ark 1994, Crist ve ark 1997, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Anon 2014).

Akut Mastitis

Perakut mastitise göre daha az sistemik belirtilerle seyreden klinik mastitis tipidir. Enfekte meme lobundaki sütün fiziksel görünümü seröz, irinli, fibrinli, kanlı ve/veya sarımtırak karakterde olabilir. (Deveci ve ark 1994, Crist ve ark 1997, Mustafa 2003, Anon 2014).

Subakut Mastitis

Memedeki yangı belirtilerinin minimum derecede olduğu ve gözle görülür sistemik belirtilerin olmadığı mastitis tipidir. Enfekte meme lobundaki sütün fiziksel görünümü seröz, sulu, bulanık, irinli, pıhtılı ve/veya fibrinli karakterde olabilir (Deveci ve ark 1994, Crist ve ark 1997, Mustafa 2003, Anon 2014).

Kronik Mastitis

Tedavi edilemeyen perakut veya akut mastitislerle, subklinik mastitislerin zamanla klinik hale dönüşmesiyle gelişen klinik mastitis tipidir. Bir laktasyondan diğer bir laktasyona kadar devam edebilir. Lokal ve sistemik belirtiler görülmez. Sütün fiziksel görünümünde her zaman belirgin bir değişim gözlenmez. Bazen sütte renk değişimleri, sulanma ve irin bulunabilir. Kronikleşmiş mastitisli meme lobunda asimetri ve sertlik gözlenebilir (Deveci ve ark 1994, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Anon 2014).

Subklinik Mastitisler

Yangı belirtileri ve sütün fiziksel görünümünde anormallikler olmaksızın, süt kompozisyonunda değişimlerle karakterizedir. En fazla ekonomik kayba neden olan mastitis tipidir. En önemli belirtisi süt veriminde görülen sürekli bir azalmadır. Klinik mastitis bulgularının tersine subklinik infeksiyonlarda meme bezi ve sütteki değişimlere nadiren rastlanır ya da hiç rastlanmaz. Semptom göstermeyen hayvanlar sağlıklı kabul

edilir, bu nedenle subklinik infekte hayvanların teşhisi zordur (Blowey ve Edmondson 1995). Teşhis sütte pH, California Mastitis (CMT), Hotis Müller, Whiteside ve Katalaz testleri, mikrobiyolojik kültür ve mikroskopik (somatik hücre sayısı) muayeneleri ile yapılır (Deveci ve ark 1994, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011). Klinik belirti göstermeyen infekte hayvanlar diğer sağlıklı hayvanlar için bir rezervuar görevi görür ve sağlıklı hayvanlar arasında infeksiyonun yayılımına neden olurlar (Zadoks 2004).

Subklinik mastitisler diğer mastitislere oranla 40 - 50 defa daha fazla şekillenmesi ve % 3-26 oranında süt kaybına neden olmasından dolayı önemlidir (Aydın 1989).

P. aeruginosa sığırlarda mastitise, solunum ve intestinal sistemde gelişen sistemik infeksiyonlara, atlarda genital sistem hastalıklarına, koyunlarda yeşil yün (green wool) hastalığına neden olarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Arda ve ark 1997, Kirk ve Mellenberger 2002).

Etken, sağım sırasında kullanılan sıcak ve soğuk sulardan, ıslak zeminlerden, yeterince dezenfekte edilmemiş sağım ekipmanlarından, çevreden, toprak ve dışkıdan, kontamine enjektör ve antibiyotiklerden izole edilebilmektedir (Wolska ve ark 1999).

Doğada yaygın olarak bulunan *Pseudomonas* genusu, çoğu saprofit olan 14'den fazla türü içerir. *Pseudomonas* doğada biyofilm oluşturmuş durumda yüzeylere ve substrata yapışmış halde ya da planktonik olarak yüzer formda bulunur. Bazı türleri, insan, hayvan ve bitkiler için patojendirler. Bununla beraber, 25 türden fazlası insanları doğrudan ilgilendirir. Bu kapsama *P. aeruginosa*, *P. flourescens*, *P. putidea*, *P. cepecia*, *P. stutzeri*, *P. maltophila*, *P. putrefaciens* girer. *P. mallei* ve *P. pseudomallei* zoonoz özellik taşıyan, Ruam ve Melioidosis hastalıkları etkenleridir (Arda ve ark 1997, Iglewski 2002, Todar 2002).

1.3 Etiyoloji

Etken aerobik, genellikle kapsülsüz ama bazen kapsül oluşumu görülebilen, taze kültürlerdeki flagellaları ile çok hızlı hareket edebilen, kültürlerde bazen ikişerli fakat çoğunlukla tek olarak görülen basillerdir (Arda ve ark 1997).

Gram negatif basil olan *P. aeruginosa* 0,5-0,8 mikrometre en ve 1,5-3.0 mikrometre uzunluğundadır. Hemen tüm türlerde bir polar flagella vardır. Ancak bazı türlerde 2 ya da 3 flagella görülebilmektedir (Iglewski 2002).

Flagella ısıya dayanıksızdır (H antijeni). Bu antijenlere karşı gelişen antikorların serolojik sınıflandırmadaki değeri bilinmemektedir. Etken, antifagositik özellikte olup, bakteriyel yapışma ve kolonizasyona yardımcı olan piliye sahiptir (Iglewski 2002).

P. aeruginosa'nın hücre duvarı, sitoplazmik membran, peptidoglikan kat ve dış membran olmak üzere 3 kattan oluşmuştur (Iglewski 2002).

Dış membran fosfolipit, protein ve lipopolisakkarit'ten (LPS) meydana gelmiştir. LPS, diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi toksik değildir. Birçok türde LPS, heptoz, 2- keto-3-deoksicetonik asit ve hidroksi yağ asitlerine ilaveten, içte polisakkaritleri içerir. Son zamanlarda, kistik fibrosisli hastalardan elde edilen izolatlarda, polisakkaritlerin olmadığı, ya da çok az olduğu (O antijen) kanıtlanmıştır (Iglewski 2002).

P. aeruginosa izolasyon çalışmalarının sonuçları, dış membran proteinlerinin çoğunun bakteriye güçlü bir koruma sağladığı fikrini vermektedir. Ayrıca, serotiplerinin ve dış membran proteinlerinin çokluğu nedeniyle serotipler arasında kros reaksiyonlar olabilmektedir (Delden ve Iglewski 1998, Goldberg ve Gerald 1999, Iglewski 2002, Thai ve Louse 2002).

P. aeruginosa genel besi yerlerinde kolaylıkla ürer. % 5 koyun kanlı agarda beta hemoliz yaparlar ve petri kutusu açıldığında üzüksü koku duyulur (Arda ve ark 1997).

Optimal üreme ısısı 37 °C' dir, ancak 42 °C'ye kadar yükselebilir. Bu ısı toleransı, fiziksel durumunun çeşitliliğinden kaynaklanan ve doğada fırsatçı patojen olmasının verdiği bir sonuçtur. Bununla beraber çoğalma için nemli yüzeylerin tercih edildiği görülmektedir (Iglewski 2002, Todar 2002). Ancak, yüksek NaCl konsantrasyonu veya

düşük oksijenli ortam, *Pseudomonas* türlerinin kültürü yapılamayan canlı bakteriler grubuna geçmesinde etkili olmaktadır (Ayaz ve Erol 2004).

Etken, fermentatif olmayan bir bakteri olup, ortamda ki NO_3 varlığı halinde solunumla ilgili elektron kabul edip, oksijenin olmadığı ortamlarda üreme gösterir. *Pseudomonas*'lar nitratin bulunduğu ortamlarda nitratları nitritlere indirgeyerek, O_2 ' den faydalanıp aerobik olarak, anaerob ortamlarda da biyofilm oluşturarak yaşarlar (Gassett 2001, Iglewski 2002, Todar 2002, Ünal B 2005).

P. aeruginosa gruplarının metabolik çok yönlülükleri bilinmektedir. Organik büyüme faktörleri bulunmadığında büyüme için organik bileşiklerden yararlanabilir. Distile suda bile üreyerek besin maddelerine minimal ihtiyaç duyduklarını kanıtlarlar (Baron ve ark 1994, Todar 2002).

P. aeruginosa izolatlarının üç koloni tipi vardır. Doğadan, yani toprak ve sudan izole edilenler, büyük, düzgün, parlak ve nemli, yaygın küçük rough koloni yaparken, klinik örneklerden izole edilenler genel olarak bir ya da farklı iki koloni tipi oluştururlar. Birinci formdaki koloni geniş, kenarları alçak, ortası yüksek, yumurta görünümlü koloni olup, bu kolonilerin yüzeylerinde floresan görülür. Bazen bu kolonilerin ortasında çıkıntı olabilir ve bu hal koloniye yağda yumurta görüntüsü kazandırır. Bu ikinci tip koloniler genellikle mukoid koloni yapısında olup, solunum ve üriner sistem sekresyonlarından izole edilip, alginat üretirler. Doğal kaynaklardan izole edilen suşlar, küçük, düzensiz şekilli üçüncü tip kolonileri oluşturur. Koloniler 48 saatlik inkubasyondan sonra daha belirgin bir hal alırlar. Smooth ve mukoid kolonilerin, bakterinin kolonizasyon yeteneği ve virulensi üzerinde rol oynadıkları düşünülmektedir (Iglewski 2002, Todar 2002). *Mavi cerahat* (*Blue pus*) olarak da adlandırılan enfeksiyon durumu, pyosiyenin üreten *P. aeruginosa*'nın neden olduğu suppuratif bir enfeksiyondur (Ünal B 2005, Arda ve ark 1997, Iglewski 2002, Todar 2002).

P. aeruginosa bakteriosinler üretir ve bu bakteriyosinlere “piyosin” adı verilir. Bunlar aynı türün diğer suşlarını öldürebildiği gibi, bazı (*E. coli* gibi) bakteri türlerinin üremesini inhibe edebilecek etkiye de sahiptir. Bu nitelik özellikle *P. aeruginosa* türlerinde bulunmaktadır (Ünal B 2005, Arda ve ark 1997).

P. aeruginosa, pyosiyenin ve pyoverdin (flourescent) olarak isimlendirilen iki farklı tipte eriyebilir pigment üretmektedir. Pyoverdin, genellikle düşük demir içeren

ortamlarda çokça üretilmektedir. Bu pigmentlerden pyosiyanin mavimsi-yeşil renkte, pyoverdin (flourescein) ise, sarımsı yeşil renktedir. Pyoverdin ve pyosiyanin suda çözünabilirken, pyosiyanin ayrıca kloroformda da çözünabilir. Etkenin bazı suşları kırmızı renkli pyorubin ve kahverenkli pyomelanin pigmentlerini de üretir. Besi yerlerinde pyosiyanin ve pyoverdin pigmentlerinin görülmesi *P. aeruginosa*'nın tanısı yönünden oldukça önemlidir (Arda ve ark 1997, Iglewski 2002, Todar 2002).

P. aeruginosa karbonhidratları fermente etmez. O/F besi yerinde glukozdan oksidasyon yolu ile asit oluşturur. Oksidaz ve katalaz pozitifdir. Triple sugar iron agar'da (TSİA) asit oluştururken gaz yapmaz. Denitrifikasyon besi yerlerinde nitrat ve nitritlerden nitrojen gazı oluştururlar, jelatin hidrolizasyonu, üreaz, sitrat pozitif, lizin dekarboksilaz, indol, MR-VP negatiftir. Birçok tür organik büyüme faktörlerine ihtiyaç duymamaktadır. Doğada çok yaygın olarak bulunurlar (Arda ve ark 1997, Holt ve ark 1994, Koneman ve ark 1997).

P.aeruginosa, antibiyotiklere dirençli olduğundan dolayı tehlikeli patojendir. Bakteri doğal olarak sahip olduğu lipopolisakkarit (LPS) yapısındaki dış membran ile (permeabilite bariyerleri mevcut olduğundan) birçok antibiyotiğe rezistanslık kazanmaktadır. Terapötik dozlardaki antibiyotik konsantrasyonlarına karşı, yüzeylerinde, hücrelerin içine girişi engelleyen, hava ve su geçirmez özellikte biyofilm oluşturma eğilimindedirler (Gül 2002). Ayrıca, doğal olarak yaşadığı çevrede basiller, *aktinomycesler*, *küfler* ve mayalarla ilişkili olarak yaşadıklarından, çevrelerinde doğal olarak bulunan antibakteriyellere dirençli bulunmaları doğaldır. Ayrıca bünyelerinde antibiyotik rezistant plazmidlerini de barındırırlar. R faktörleri ve RTFs ile birlikte, genlerin transdüksiyon ve konjugasyon gibi bakteriyel proseslerle aktarılabilecekleri anlamındadır. Sadece birkaç antibiyotik *Pseudomonas*'lara karşı etkilidir ki bunlar, flourokinolonlar, gentamisin ve imipenem'dir. Yine de bunların herbiri tüm serotiplere karşı etkili değildir. *Pseudomonas* enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisinin kistik fibrosis hastalarında sonuç vermeyişinin nedeni, kullanılan ilaçlara resistant türlerle enfekte olmuş olma olasılığıdır (Todar 2002).

Etkenin fırsatçı patojen olması nedeniyle, enfeksiyonlar genellikle predispozisyon durumlarında ortaya çıkmaktadır. Hayvanlardaki enfeksiyonlar, çoğunlukla yaralar, derideki parazit ve mantar enfeksiyonları, kornea zedelenmeleri, dış ve orta kulak iltihabları, koyunlarda yapağının aşırı ıslaklığı, kontamine dezenfektanlar ve antibiyotik

tedavisi, kötü hijyenik koşullara bağlıdır. İmmun sistemi zayıf yada güçsüz hastalarda deri travmatize olduğu zaman yada yanıklar olduğunda epitelyal tabakadaki eksikliğin bir sonucu olarak enfeksiyon oluşabilir. Bunlara ilaveten, normal konakçı savunmasında bozukluk olduğu zaman sığırlarda mastitis, atlarda genital sistem enfeksiyonları ortaya çıkmaktadır (Arda ve ark 1997, Kirk ve Mellenberger 2002).

Sığırlarda *P. aeruginosa* enfeksiyonları çoğunlukla mastitise neden olmaktadır ve buna bağlı olarak sistemik enfeksiyonlar gelişmektedir. Etken solunum sisteminde ve intestinal sistemde de enfeksiyona neden olabilmektedir (Arda ve ark 1997). Buna karşın *P. aeruginosa*'nın sütçü sığırlarda hastalık yapma oranının çok yüksek olmadığı (% 1-3) bildirilmektedir (Kirk ve Mellenberger 2002).

Klinik bulgular çoğunlukla erken laktasyon döneminde ve süt verimi çok yüksek hayvanlarda görülmektedir. Ancak salgınlar laktasyonun her döneminde görülebilir. Hastalık perakut, hiç belirti vermeyen subklinik olaylardan, hayati tehlike yaratan hatta ölümlerle sonuçlanan klinik olaylara kadar geniş açılıdır (Kirk ve Mellenberger 2002).

P. aeruginosa sığırlarda da fırsatçı patojen olup, meme dokusu ya da meme bezlerinde yaralanma olduğunda aktif hale geçmektedir. Ayrıca diğer bakterilerin ve bakım - beslenme hatalarının hayvanı zayıf düşürdüğü durumlarda hastalık kendini belli etmektedir. Bakteri plastik yüzeylere, hortumlara, çeliğe yapışabilme yeteneğindedir. Bu nedenle iyi dezenfekte edilememiş sağıım makinaları yüzeylerine kolayca lokalize olur. Bu özellik inekten ineğe etkenin kolaylıkla bulaşmasını sağlamaktadır. Üstlerini saran koruyucu madde (biyofilm) bakteriyi metal yüzeylerin zararlı etkilerinden korurken, sanitasyon amacı ile kullanılan klorin, iyodin gibi dezenfektanlara da dirençli olmasını sağlamaktadır. Bakteri genel olarak sağlam dokularda dokuların doğal direnci nedeniyle hastalık yapmamaktadır (Wolska ve ark 1999).

Banneman ve ark.'nın (2005) yaptıkları çalışmada, deneysel olarak oluşturulmuş *P.aeruginosa* mastitlerinde lokal ve sistemik immün yanıt araştırılmıştır. Bu çalışmada enfeksiyonun oluşmasını takiben sitokin, büyüme faktörü konsantrasyonu, komplement aktivasyonu, CD-14 ve lipopolisakkarit (LPS)-binding proteinlerinin Gram negatiflere karşı etkisi incelenmiş, enfeksiyondan sonraki 12 saat ile 3 haftaya kadar olan periyod içinde somatik hücre sayısının, meme bezlerinde permeabilitenin ve vaskülarizasyonun artmış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca IL-8, TNF, IL-10, IL-12' lerin oranlarındaki artışa da

bakılmış, bunların 24 saatten fazla zamanda çok miktarda artmadıkları saptanmıştır. Ancak, aksine IL-Beta, IFN gamma, TGF alfa ve beta CD 14 LBP ve komplement faktör 5 (C5a)' in 48 saatlik bir periyottan daha fazla süre ile ortamda bulundukları görülmüştür. Bu bilgiler meme bezinin *P. aeruginosa*'ya karşı çok kuvvetli doğal bağışıklık sistemine sahip olduğunu göstermektedir.

Sağım ekipmanının yeterince temiz ve bakımlı olmaması, kontamine sularla meme ve sağım ekipmanının yıkanması, meme başının daldırma yöntemi ile dezenfeksiyonunda kullanılan dezenfektan konsantrasyonunun dikkatle takip edilmemesi, çiftliklerde *P. aeruginosa* salgınlarına neden olmaktadır. Ayrıca antibiyotiğe oldukça dirençli olan bu bakteri ile kontamine olmuş tek kullanımlık olmayan ilaç şişelerinde bakterinin yaşadığı ve aktivitesini sürdürebildiği tespit edilmiştir (Banneman ve ark 2005, Kirk ve Mellenberger 2002).

Polonya'da yapılan bir çalışma ile (Twardon ve ark 2001) sığırlarda, tırnaklardaki purulent odaklar ile doğum sonrası düzensiz uterus involüsyonu, over kistleri, endometritis ve mastitis arasında bir korelasyon olduğu ortaya çıkarılmıştır. Tırnak hastalıklarına neden olan patolojik bakteriler ve olayın etiyolojisi izlendiğinde etkenlerin; *Actinomyces pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ve *Staphylococcus epidermidis* olduğu bildirilmektedir. İlk üç mikroorganizma purulent - mukopurulent endometritli ve pyometralı sığırların uterus akıntılarında da izole edilmiştir. Aynı çalışma meme yangılı 35 baş sığırdan uygulanmış, tırnaklarda hastalık yapan bakterilerin aynısı hasta memelerden izole edilmiştir. Bu çalışma ile *Actinomyces pyogenes*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*' un metritis, subklinik ve klinik septik mastitisler için potansiyel tehlike olduğu ortaya konmuştur.

Kolorado süt çiftliklerindeki süt toplama tanklarında yapılan araştırmada (Dinsmore ve ark 2001), süt alınan ineklerde *Pseudomonas* olmamasına karşılık, tanklarda bakteri tespit edilmiştir. Araştırmada yıkama suları, süt konulan kaplar, hayvanların burun svapları alınarak incelenmiş ve sığırların içtikleri ve memelerin yıkanmasında kullanılan sularda *Pseudomonas* türleri identifiye edilmiştir.

Mısır'da yapılan bir araştırmada (Zhang ve Taylor 1994), 400 süt örneğinde % 15 oranında *E. coli*, % 5 *Streptococcus agalactiae*, % 3,5 *P. aeruginosa*, % 1,5 *S. aureus* izole edilmiştir.

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü teşhis laboratuvarına getirilen mastitisli 566 süt örneğinin sadece 5'inden *P. aeruginosa* (% 0,8) izole edilebilmiş ve Enrofloksasin' e (4+), Sefkuinom ve Sefasetrile (3+) duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Ünal B 2005).

Şanlıurfa yöresinde bulunan ineklerde, subklinik mastitis olgularının prevalansının belirlenmesi, mastitise neden olan etkenlerin izolasyonu, identifikasyonu ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanmasının amaçlandığı bir çalışmada CMT pozitif olan 181 ineğe ait 302 adet süt örneği incelenmiş ve 258'inden mikroorganizma identifiye elde edilmiştir. Araştırma sonucunda 3 adet (%1.1) *P. aureginosa* suşu izole ve identifiye edilmiştir (Tel ve ark 2009). Türütoğlu ve ark (1995) yaptıkları çalışmada ise Marmara bölgesinden elde edilen 1594 mastitisli süt örneğinin 1126'sından etken izole ettiklerini bildirmişler ve bunlardan da % 0.2'sinde (3 adet) *P. aureginosa* identifiye etmişlerdir. Türütoğlu ve ark (2000) Burdur yöresinde yaptıkları diğer bir çalışmada, klinik ve subklinik seyreden mastitisli 249 inekten alınan süt örneklerinden % 1,03 oranında *P. aeruginosa* identifiye etmişlerdir.

Trakya bölgesinde 77 mastitisli süt örneği ile yürütülen bir çalışmada 105 etken izole edilmiş, bu örneklerin % 4,8'i de *P. aeruginosa* olarak tanımlanmıştır (Ak 2000).

Yeşilmen ve ark (2012) Diyarbakır yöresinde bulunan ineklerde subklinik mastitislere neden olan etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu ile bunlara etkili antibiyotiklerin belirlenmesini amaçladıkları çalışmalarında 268 adet mastitisli süt örneği incelemişler, üreme olan 239 süt örneğinden 5 adet (% 1.87) *P. aeruginosa* identifiye etmişlerdir.

Bu araştırma ile Aydın ilinde görülen sığır mastitislerinden *Pseudomonas aeruginosa* etkeninin izolasyonu ve izole edilen etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örnekler

Araştırmada, 200 adet klinik mastitisli süt örneği [CMT (3 +) değerinde] incelenmiştir. Alınan örnekler incelenmek üzere Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir altında getirildiler. Araştırmanın yapılmasına Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunun 2013 yılı IX. Oturumu 64583101/2013/091 sayılı kararı ile sakınca görülmemiştir.

2.1.2. Besiyerleri

2.1.2.1. İzolasyon Besiyerleri

Kanlı agar (Oxoid)

'Lab-Lemco' Beef Extract	10 gr.
Peptone (Oxoid l 37)	10 gr.
Sodium chlorid	5 gr
Agar	15 gr
Distile su	1000 cc.

Karışım 15 dakika otoklavlanmayı takiben, yaklaşık 45-50 °C' ye kadar soğutulup, içine % 7 –10 defibrine koyun kanı ilave edilerek hazırlandı.

Nutrient Agar (Oxoid)

'Lab-Lemco' Beef Ekstract	1.0 gr
Yeast Extract (Oxoid L 20)	2.0 gr
Peptone (Oxoid L 37)	5.0 gr
Sodium chloride	5.0 gr
Agar	15.0 gr

Karışımdan 28 gr alınıp 1000 cc distile suda eritilip, 15 dakika 121 °C’ de otoklavlanmak sureti ile sterilize edildi.

2.1.2.2. İdentifikasyon Besi yerleri

Pseudomonas Agar Base (Oxoid)

Gelatin pepton	16.0 gr
Casein hidrolizat	10.0 gr
Potassium sülphate	10.0 gr
Magnesium chlorid	1.4 gr
Agar	11.0 gr

24,2 gr toz karışım 500 ml distile suda eritildi. Üzerine 5 ml gliserol eklendi. 121 °C’da 15 dakika otoklave edildikten sonra karışımın ısısı yaklaşık 50 °C’ ye kadar düşünce1 flakon supplement (SR 103E) eklendi.

Pseudomonas C-F-C Selektive Supplement (Oxoid)

Cetrimide	5 mgr
Fucidin	5 mgr
Cephaloridine	25 mgr

Trypticase Soy Broth (TSB) (Oxoid)

Pancreatic digest of caseing USB	17.0 gr
Pancreatic digest soybean meal	3.0 gr
NaCl	5.0 gr
K ₂ HPO ₄	2.5 gr
D-Glucose	2.5 gr
Distile su	1000.0 ml

Karışım hazırlandı ve tüplere dağıtılıp, otoklavlandı.

Mueller Hinton Medium (Difco)

Beef infusion	300.0 gr
Bacto-Casamino Acids Technical	17.5 gr
Starch	1.5 gr
Bacto-Agar	17.0 gr

38 gr besi yeri 1000 ml distile suda eritilerek hazırlanır ve 116 °C 10 dak. Otoklavlandı.

Oksidasyon- Fermentasyon Besi yeri (O/F)

Peptone	2.0 gr
Sodium kloride	5.0 gr
K ₃ HPO ₄	0.3 gr
Bromthymol blue	0.3 gr
Agar	3.0 gr
Distile su	1000.0 cc

Karışımın pH' sı 7.2'ye ayarlandıktan sonra, 15 dakika otoklav edildi. Daha sonra yaklaşık 50 ° C'ye kadar soğutulup, % 10'luk steril glukoz solusyonundan, son konsantrasyonu % 1 olacak şekilde ilave edildi ve aseptik koşullarda steril tüplere 5'er ml. dağıtıldı.

Lassen'in 3'lü tüp Besi Yeri**Tüp I**

Pepton	20.0 gr
Lactose	10.0 gr
Glucose	1.0 gr
Sodium thiosulphate	0.2 gr
Ferric amonium sulphate	0.3 gr
NaCl	6.0 gr
Agar	17.0 gr

Phenol red (%0.2'lik)	12.5 ml
Distile su	1000.0 ml

Karışımın Ph'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Tüp II

Pepton	5.0 gr
Neopepton	5.0 gr
Mannitol	2.0 gr
Agar	2.5 gr
Potassium nitrat	1.7 gr
Phenol red (%0.2 'lik)	20.0 ml
Distile su	1000.0 ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Tüp III

L-Tryptophan	0.3 gr
Potassium dihydrogen phosphate	0.1 gr
Potassium hydrogen phosphate	0.1 gr
Üre	2.0 gr
Ethanol	1.0 gr
Phenol red (%0.2 'lik)	20.0 ml
NaCl	0.5 gr
Distile su	1000.0 ml

Besi yerinin sterilizasyonu 0.2 mikronluk milipor filtreler kullanılarak yapıldı.

Nitrat Buyyonu

Sığır eti özütü	3.0 gr
Pepton	5.0 gr
Potassium nitrate	1.0 gr
Distile su	1000.0 ml

Karışım 121 °C’de otoklavlanarak steril hale getirildi.

Metil Red- Voges Proskauer (Clark-Lubs) Besi Yeri

Polipepton	7.0 gr
Glukose	5.0 gr
K ₂ HPO ₄	5.0 gr
Distile su	1000.0 ml

Karışım yapılacak maddeler hafifçe ısıtılıp suda eritildi. Süzgeç kağıtlarından süzüldü. pH’sı 6.9’a ayarlandı ve 1000ml’ye tamamlandı. Miktarı 5’er ml olacak şekilde steril tüplere taksim edilip 121 °C’de 15 dakika otoklavlandı.

2.1.3. Ayıraçlar

2.1.3.1. İndol Ayıracı (Kovaks Ayıracı)

P- Dimethylaminobenzaldehyde	10.0 gr
İsoamyl alcohol	150.0 ml
HCl (Konsantre)	50.0 ml

2.1.3.2. Nitrat Ayıraçları

Solüsyon A

Sulphanilic Acid	0.8 gr
5 N Asetik acid	100.0 ml

Solüsyon B

Dimethyl-alpha-naphthylamine	0.6 gr
5 N Asetic acid	100.0 ml

2.1.3.3. Metil Red Ayıracı

Metil Red	0.05 gr
Ethyl alcoohol (% 95 lik)	150.00 ml
Distile su	100.00 ml

2.1.3.4. Voges Proskauer Ayıracı

I- Alpha naphthol	5.0 gr
Absolut ethyl alcoohol	100.0 ml' ye tamamlanır.
II- Potassium hydroxyde	10.0 gr
Distile su	100.0 ml' ye tamamlanır.

2.1.4. Boyalar

Gram boyama uygulandı

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikrobiyolojik Muayene

2.2.1.1. Örneklerden *P. aeruginosa* İzolasyonu

Soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler, nutrient buyyona inokule edilerek 37 °C'de yaklaşık 24 saat süre ile inkubasyona bırakıldı. 24 saatlik inkubasyondan sonra kanlı agara ekimleri yapıldı (Arda ve ark 1997, Bilgehan 1995, Moore 1997).

2.2.1.2. İzole Edilen Şuşların İdentifikasyonu

Laboratuara getirilen örneklerden Pseudomonas Selektif Agarlara ekimler yapıldı. Pseudomonas selektif agarda üreyen, üzeri flöresan ışıltı gösteren koloniler Gram boyama metodu ile boyandı. Gram negatif, oksidaz ve katalaz testi pozitif olan kolonilerden pasajlar yapıldı ve saf kültürler elde edildi. Bu suşlara *P. aeruginosa* yönünden biyokimyasal testler yapıldı (Bilgehan 1995, Chakraborty ve Roy 2001, Koneman ve ark

1997, Moore 1997). Bu kolonilerden TSB'a inokule edilip 24-48 saat 37 °C' de inkubâtürde ve 25 °C' de oda ısısında inkubasyonun sonunda sarı-yeşil renkli pyosiyaninin varlığının görölmesi ile *P.aeruginosa* izole edildiği sonucu doğrulandı.

Katalaz Testi

Gram boyamada negatif olarak görünen bakterilerin katalaz aktiviteleri hidrojen peroksit (H₂O₂) ile ölçüldü. Lam üzerinde O² açığa çıkmasından dolayı gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

Oksidaz Testi

Gram boyamada negatif görünen bakterilerin oksidaz aktiviteleri, oksidaz çubukları (Oxoid) ile bakıldı. Şüpheli bakterinin 18-24 saatlik saf kültürüne oksidaz çubuğunu daldırmak ve 25-30 saniye bekleyip, çubuğun eflatun mor renk alması (+) reaksiyon olarak değerlendirildi.

İndol Testi

İndol test ortamına şüpheli bakterinin saf kültürlerinden inokule edildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkube edildi. İnkubasyondan sonra indol test ayracından 3-5 damla tüpün yan tarafından akıtılıp, üst tarafta bir katman oluşturmaları sağlandı. Besi yeri ve ayraç arasında kırmızı bir renk oluşmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

Üreaz Testi

Lassen'in III. Tüpüne bakterinin saf kültüründen, bir koloni geçerek 18-22 saat 37 °C' de inkube edildi. İnkubasyondan sonra besi yerinin kırmızıya dönmesi üreaz (+) olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

Nitrat Testi

İçinde nitratlı buyyon bulunan tüplere, şüpheli mikroorganizmanın saf kültürlerinden birkaç koloni inokule edildi ve 37 °C'de 5 gün inkube edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayraçlarından (Sol.A ve Sol.B), 1' er ml dökülerek besi yerinin renginin kırmızı olması (+) reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

Çizelge 2.1. *P. aeruginosa*'nın Biyokimyasal Özellikleri (Arda ve ark 1997)

Hareket	+	Lizin dekarboksilaz	-
Katalaz	+	Glukozdan asit (O/F Medium)	+
Oksidaz	+	Laktozdan asit (FLN Medium)	-
Hemoliz	+	FN Mediumda gaz	+
42 °C derecede üreme	+	Jelatin Hidrolizasyonu	+
4 °C derecede üreme	+	Üreaz	+
İndol	-	Nitrat	+
Metil red	-	Sitrat	+
Voges Proskauer	-	Asetamid Utilizasyonu	+
TSI Agarda yüzey	Alkali	TSI Agarda Dip	Alkali

2.2.1.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer Disk Diffüzyon yöntemine göre yapıldı. İçinde 1 ml TSB bulunan tüplere McFarland No:1 yoğunluğunda ekilerek 37 °C'de inkube edildi. Mueller Hinton agar petrilere bu buyyon kültürlerinden 0,1 ml pipet aracılığı ile aktararak cam bagetle yayıldı ve kurumaya bırakıldı. Standart antibiyotik diskleri (Oxoid) steril bir pens yardımı ile eşit aralıklarla petri üzerine yerleştirildi. Petrilere 37 °C'de 18 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrasında her diskin çevresinde bulunan inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçüldü ve standartları ile karşılaştırıldı (Bilgehan 1995).

Çizelge 2.2- Standart Zon Çapları (CLSI 2002, 2003)

Antimikrobik Madde	Disk İçeriği (mcg)	İnhibisyon Zon Çapları / mm		
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Penisillin/Novobiosin (Pen/Novo)	10U/30 µg	≤ 16	-	≥ 17
Danofloksasin (DFX)	5 µg	-	-	≥ 22
Amoksisilin klavulonik asit (AMC)	20/10 µg	≤13	14 - 17	≥ 18
Oksitetrasiklin (OT)	30 µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19
Kanamisin Sefalekssin (KCX)	75 µg	≤ 18	18 – 20	≥ 20
Linkomisin Neomisin (LN)	75 µg	≤ 12	13 – 16	≥ 17
Cefaperazon (CFP)	75 µg	≤15	16 - 20	≥ 21
Colistin Sülfat (CT)	10 µg	< 10	-	≥ 11
Eritromisin (E)	15 µg	≤13	14 - 22	≥ 23
Ceftiofur (EFT)	30 µg	≤17	18 - 20	≥ 21
Florfenikol (FFC)	30 µg	≤14	15 – 18	≥ 19
Trimethoprim- Sülfamethoksazol (STX)	1.25+ 23.75	≤10	11-15	≥16

3. BULGULAR

3.1. Bulgular

3.1.1. Örnekler

Araştırmada 2014 yılı İlkbahar ve yaz aylarında Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli odaklardan toplam 200 adet klinik mastitisli (CMT +3) süt örneği incelenmiştir. Alınan örnekler incelenmek üzere Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir altında getirildi ve *P. aeruginosa* yönünden incelendi. Yapılan testler neticesinde *P. aeruginosa* olarak izole ve identifiye edilen bakterilere Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi yardımı ile antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı.

3.1.2. Mikrobiyolojik Bulgular

Araştırmada toplam 200 mastitisli süt örneğinden 7 (% 3,5) adet *P. aeruginosa* suşu izole ve identifiye edilmiştir.

İzole ve identifiye edilen *P. aeruginosa* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 7 adet suşun tamamı Danofloksasin, Linkomisin/Neomisin, Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a duyarlı (% 100), Penisilin/Novobiosin, Amoksisilin klovulanik asit, Kanamisin/Sefalekssin, Seftifor ve Eritromisin'e dirençli (% 100) bulunmuştur. Florfenikol'e 2 suş dirençli (% 29), 3 suş orta düzeyde duyarlı (% 42) ve 2 suş ise dirençli (% 29), Sülfamethaksazol-Timethoprim'e 5 suş orta düzeyde duyarlı (% 71), 2 suş duyarlı (% 29) ve Oksitetrasiklin açısından ise 2 suş orta düzey duyarlı (% 29) 5 suş dirençli (% 71) olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen antibiyogram sonuçları Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1- İzole Edilen *P. aeruginosa* İzolatlarının Antibiyogram Sonuçları

	A N T İ B İ Y O T İ K L E R																																			
	PEN/ NOVO			DFX			AMC			OT			KCX			LN			CFP			CT			E			EFT			SXT			FFC		
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S			
<i>P.aeruginosa</i> n = 7	7	-	-	-	-	7	7	-	-	5	2	-	7	-	-	-	-	7	-	-	7	-	-	7	1	6	-	7	-	-	2	5	-	2	3	2

PEN/NOVO : Penisilin/ Novobiosin DFX : Danofloksasin AMC : Amoksisilin klovulonik asit OT : Oksitetrasiklin KCX : Kanamisin/Sefaleksin LN : Linkomisin/Neomisin CFP : Sefaperazon CT :Colistin Sülfat E : Eritromisin EFT : Seftiofur SXT :Timethoprim-Sülfamethaksasol FFC :Florfenikol	S = Duyarlı İ = Orta Duyarlı R = Dirençli
---	---

4. TARTIŞMA

Sütçü işletmeleri etkileyen gerek süt verimindeki azalmalar, gerekse yüksek tedavi masrafları bakımından en yüksek maliyetli hastalığın mastitis olması, konunun önemini ortaya koymaktadır (Jayarao 2004). Sığır mastitisiyle ilgili birçok araştırma ve çalışma yapıldığı halde, hastalık halen süt endüstrisinin ekonomik bir problemi olmaya devam etmektedir (DeGraves ve Fetrow, 1993, Hillerton 1996). Yetiştiricilerin koruyucu hekimlik uygulamalarına gereken önemi vermemesi ve genel hijyen kurallarını prosedürüne uygun biçimde yerine getirememesi mastitisin işletmelerden bir türlü elenememesinin en büyük sebebidir.

Mastitis, hayvan sağlığını ciddi manada tehdit ettiği gibi, bunun yanında insan sağlığı konusunda da büyük sorunlara yol açabilmektedir. Sığırların fonksiyonel meme lobundaki problemler, süt veriminde azalmanın yanı sıra kimi zaman ölümlere bile sebebiyet verebilmektedir. İnsan sağlığı açısından konu ele alındığında, kalitesiz süt ve süt ürünlerinin yanında sütte antibiyotik kalıntılarıyla da beşeri halk sağlığını olumsuz etkilediği bilinmektedir (Jayarao 2004). Mastitis hastalığında genellikle mikrobiyel faktörler rol oynamaktadır.

Bademkiran ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda, normal koşullarda süt inekçiliği işletmelerinde yılda ortalama % 30-35 oranında mastitis olgusu görüldüğünü bildirmişlerdir. Sığırlarda mastitis hastalığında, bakteriler, mantarlar, mayalar, mycoplasmalar ve yaklaşık % 28 lik bir kısımda da identifiye edilemeyen etkenleri rol oynamaktadır (Jayarao 2004).

Mastitislerin, etkeninin kaynağına göre, kontagiyöz (bulaşıcı) ve çevresel olmak üzere ikiye ayrıldığı bildirilmektedir (Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011). Kontagiyöz mastitisler ele alındığında, hayvandan hayvana veya bir meme lobundan diğerine bulaşma ile oluştuğu görülmektedir. Başlıca mikrobiyal etkenlerin ise *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.* ve *Mycoplasma* türleri olduğu ortaya konmaktadır (Crist ve ark 1997, Ruegg 2001, Bradley 2002, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011).

Çevresel mastitisler ise, hayvanın yaşadığı ortamda (su, toprak, gübre, ahır vs.) bulunan bakterilerin laktasyon ve kuru dönemde oluşturduğu enfeksiyonlardır. Bu tarz

enfeksiyonların, sıklıkla klinik mastitise neden olduğu bilinmektedir. Gram negatif bakterilerden *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*), *Pseudomonas spp.*, çevresel *Streptococcus spp.* (başlıca *Streptococcus uberis* daha seyrek olarak *Streptococcus dysagalactia*) ve *Enterococcus faecalis* rol oynar. Yaz mastitisinden sorumlu ve sineklerin taşıyıcılığını yaptığı *Actinomyces pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*) ve *Mycoplasma* türleri (*Mycoplasma bovis*) de bu tip mastitiste rol oynar. Ayrıca tüberküloz etkenleri, *Proteus*, *Leptospira*, *Listeria* ve *Brucella* türleri de mastitise neden olmaktadır (Crist ve ark 1997, Ruegg 2001, Bradley 2002, Mustafa 2003, Jayarao 2004, Keskin 2011).

P.aeruginosa, çevresel mastitise sebep olan etkenlerden biridir. Etken, sağım sırasında kullanılan sıcak ve soğuk sulardan, ıslak zeminlerden, yeterince dezenfekte edilmemiş sağım ekipmanlarından, çevreden, toprak ve dışkıdan, kontamine enjektör ve antibiyotiklerden izole edilebilmektedir (Wolska ve ark 1999). Ülkemizde de yetiştiricilerimizin büyük çoğunluğunun da hijyen hususunda gerekli önlemleri almaması, çevresel mastitis etkenlerinin meme dokusunda enfeksiyon oluşturmaya davetiye çıkarmaktadır.

Doğada yaygın olarak bulunan *Pseudomonas* genusunun, çoğu saprofit olan 14'den fazla tür içerdiği bilinmektedir. *Pseudomonas* doğada biyofilm oluşturmuş durumda yüzeylere ve substrata yapışmış halde ya da planktonik olarak yüzer formda bulunur. Bu özellikleri, *Pseudomonas* türlerinin dış etkenlere karşı dirençli olmasını sağlamaktadır. Bazı türleri, insan, hayvan ve bitkiler için patojendirler. 25 türden fazlasının insanları doğrudan ilgilendirdiği bilinmektedir. Bu kapsama *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putidea*, *P. cepecia*, *P. stutzeri*, *P. maltophila*, *P. putrefaciens* türleri girmektedir. *P. mallei* ve *P. Pseudomallei* ise zoonoz özellik taşıyan, Ruam ve Melioidosis hastalıklarının etkenleridir (Arda ve ark 1997, Iglewski 2002, Todar 2002).

Arda ve ark. (1997) *P. aeruginosa* nın genel besi yerlerinde kolaylıkla ürediğini, % 5 koyun kanlı agarda beta hemoliz yaptığını ve petri kutusu açıldığında üzüksü koku duyulabileceğini bildirmişlerdir. Bu bilgi, identifikasyon aşamasında bize yol gösterici olmuş ve mikroorganizmanın yaptığı hemoliz ile spesifik üzüm kokusu tarafımızdan da tespit edilmiş, identifikasyon aşamasında kullanılmıştır.

Trakya bölgesinde 77 mastitisli süt rneği ile yürütülen bir çalışmada 105 etken izole edilmiş, bu örneklerin % 4,8'i de *P. aeruginosa* olarak tanımlanmıştır (Ak 2000).

Türütoğlu ve ark. (1995) yaptıkları bir çalışmada Marmara bölgesinden elde edilen 1594 mastitisli süt örneğinin 1126'sından etken izole ettiklerini bildirmişler ve bunlardan da % 0,2'sinde (3 adet) *P. aureginosa* identifiye etmişlerdir.

Türütoğlu ve ark. (2000) yaptıkları diğer bir çalışmada ise, Burdur yöresinde klinik ve subklinik seyreden mastitisli 249 inekten alınan süt örneklerinde (% 1,03) lk oranla *P.aeruginosa* mastitise neden olan etkenlerin arasında yer almaktadır.

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü teşhis laboratuvarına getirilen mastitisli 566 süt örneğinin sadece 5'inden *P. aeruginosa* (% 0,8) izole edilebildiği ve Enrofloksasin' e (4+), Sefkuinom ve Sefasetrile (3+) duyarlı olduğu bildirilmiştir (Anon 2003).

şanlıurfa yöresinde bulunan ineklerde, subklinik mastitis olgularının prevalansının belirlenmesi, mastitise neden olan etkenlerin izolasyonu, identifikasyonu ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanmasının amaçlandığı bir çalışmada (Tel ve ark 2009) % 1.1 (3 adet) oranında *P. aeruginosa* izole ve identifiye etmişlerdir.

Yeşilmen ve ark (2012) Diyarbakır yöresinde bulunan ineklerde subklinik mastitislere neden olan etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu ile bunlara etkili antibiyotiklerin belirlenmesini amaçladıkları çalışmalarında 268 adet mastitisli süt rneği incelemişler, üreme olan 239 süt örneğinden 5 adet (% 1.87) *P. aeruginosa* identifiye etmişlerdir.

Mısır'da Zaki ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada (Zhang ve Taylor 1994), 400 süt örneğinde % 15 oranında *E. coli*, % 5 *Streptococcus agalactiae*, % 3,5 *P. aeruginosa*, % 1,5 *S. aureus* izole edilmiştir.

Kirk ve Mellenberger (2002), yaptıkları bir araştırmada *P. aeruginosa*' nın stı sığırda hastalık yapma oranının çok yüksek olmadığını (% 1-3) bildirmişlerdir.

Araştırmamızda ise 200 adet Mastitisli süt rneğinde (CMT 3+) 7 adet *P. aeruginosa* etkeni izole edilmiş ve oran araştırmalara paralel % 3.5 olarak tespit edilmiştir.

Hindistan’ da yapılan bir çalışmada, CMT pozitif sonuç veren sütlerde toplam 107 bakteriyel izolat elde edilmiş, 30 *S. aureus*, 16 *S. agalactia*, 12 *S. dysgalactia*, 14 *Bacillus subtilis*, 13 *P. aeruginosa*, 22 *E. coli* olarak bulunmuştur. Disk diffüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogram testlerinde, *P. aeruginosa*, kloramfenikol, seflizomine duyarlı bulunmuş, bunun yanında birçok antimikrobiyale ise çok dirençli olduğu görülmüştür (Ross ve ark 2001).

Ohnishi ve ark. 2011 yılında yayımladıkları ve Japonya’da sığırların mastitisli sütleri ile yaptıkları bir çalışmada 171 *P. aeruginosa* izolatının antibiyotiklere olan duyarlılıklarını incelemişlerdir. Araştırmalarının sonucuna göre ciprofloksasin, imipenem, meropenem, piperacilin, ceftazidim, cefepim, sefarerazon sulbaktam, amikasin, tobramisin ve gentamisin’e karşı yüksek duyarlılık, seftriakson, enrofloksasin, sefataksim ve moksalaktam’a karşı ise yüksek dirençlilik tespit etmişlerdir (Ohnishi ve ark 2011).

Çalışmamızda ise, antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 7 adet suşun tamamı Danofloksasin, Linkomisin/Neomisin, Sefaperazon ve Kolistin sülfat’a duyarlı (% 100), Penisilin/Novobiosin, Amoksisilin klovulanik asit, Kanamisin/Sefaleksim ve Eritromisin’e dirençli (% 100) bulunmuştur. Florfenikol’e 2 suş dirençli (% 29), 3 suş orta düzeyde duyarlı (% 42) ve 2 suş ise duyarlı (% 29), Sülfamethaksazol-Timethoprim’e 5 suş orta düzeyde duyarlı (% 71), 2 suş dirençli (% 29) ve Oksitetrasiklin açısından ise 2 suş orta düzey duyarlı (% 29) 5 suş dirençli (% 71) olarak tespit edilmiştir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak mastitisli inek sütlerinde çevresel mastitis etkeni olan *P. aeruginosa*'nın Aydın yöresisindeki varlığının araştırıldığı bu çalışmada 200 adet mastitisli süt örneğinde % 3,5 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç genel olarak *P.aeruginosa*'nın mastitis etiyojisinde düşük düzeyde rol aldığını göstermektedir. Bununla birlikte izole edilen bu çevresel mastitis etkenlerinin, Penisilin/Novobiosin, Amoksisilin klovulanik asit, Kanamisin/Sefaleksine ve Eritromisin gibi veteriner sahada mastitis tedavilerinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı % 100 gibi bir oranda dirençli tespit edilmelerinin çok önemli bir sonuç olduğu düşünülmektedir.

Araştırmamız sonucunda, veteriner sahada görülen mastitis vakalarında direkt olarak antibiyotik kullanımına geçilmeden, süt numunelerinin alınarak bir laboratuvar da kültüre edilmeleri ve antibiyogramlarının yapılmasının doğru antibiyotik seçimi ve de başarılı tedaviye yardımcı olacağı tekrar ortaya konmaktadır.

ÖZET

Sığırların Klinik Mastitislerinden *Pseudomonas aeruginosa*'nın izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları

Bu çalışmada Aydın ilinde görülen sığırların klinik mastitislerinden çevresel mastitis etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa*'nın izolasyonu ve izole edilen etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmada Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli odaklardan toplam 200 adet klinik mastitisli (CMT +3) süt örneği incelenmiştir. Alınan örnekler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Rutin Teşhis laboratuvarına getirilmiş ve besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Daha sonra 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. *Pseudomonas* türlerinin ayırımında etkene yönelik selektif besiyerleri kullanılmış ve izole edilen bakterilerin biyokimyasal yöntemlere göre identifikasyonu yapılmıştır. Araştırmada kullanılan toplam 200 mastitisli süt örneğinden 7 (% 3,5) adet *P. aeruginosa* suşu izole ve identifiye edilmiştir. İzole ve identifiye edilen *P. aeruginosa* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 7 adet suşun tamamı Danofloksasin, Linkomisin/Neomisin, Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a duyarlı (% 100), Penisilin/Novobiosin, Amoksisilin klovulanik asit, Kanamisin/Sefaleksim ve Eritromisin'e dirençli (% 100) bulunmuştur. Florfenikol'e 2 suş dirençli (% 29), 3 suş orta düzeyde duyarlı (% 42) ve 2 suş ise duyarlı (% 29), Sülfamethaksazol-Timethoprim'e 5 suş orta düzeyde duyarlı (% 71), 2 suş dirençli (% 29) ve Oksitetrasiklin açısından ise 2 suş orta düzey duyarlı (% 29) 5 suş dirençli (% 71) olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Aydın ilinde görülen çevresel mastitis vakalarında *P. aeruginosa*'nın izolasyonu ve identifikasyonları yapılmış ve bu tip mastitis olgularında Danofloksasin, Linkomisin/Neomisin, Sefaperazon ve Kolistin sülfat kullanımının sağaltımda başarı getireceği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Mastitis, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik duyarlılık

SUMMARY

Antibiotic susceptibility and Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from Clinical Mastitis in Cattle

The aim of this study were isolation of environmental mastitis factor *Pseudomonas aeruginosa* from clinical mastitis cattles in Aydin and determination of antibiotic sensitiveness of that isolated factors.

Totally 200 clinical mastitis milk samples collected from different centers have been analyzed. Collected samples were brought to The Routine Diagnostic Laboratory of Microbiology Department, Veterinary Faculty, Adnan Menderes University under cold chain.

Then was allowed to incubate for 24 hours at 37 °C. For differentiation of *Pseudomonas* species, selective media were used and isolated bacteria were identified based on biochemical assays. Seven *P. aeruginosa* strains (% 3,5) were isolated and identified from 200 analyzed mastitis milk samples. All the studied strains were found sensitive to Danofloxacin, Linmycine/Neomycin, Cefoperazone, Colistin sulphate (% 100) and resistant to Penicillin/Novobiocin, Amoxycillin Clavulanic Acid, Ceftiofur, Kanamycin/Cephalexin, Erythromycin (% 100). Resistant two strains, moderately sensitive 3 strains and sensitive two strains were present against Florphenicol. Five strains were found moderately sensitive (% 71) to Sulfamethoxazole-Trimethoprim, while two strains were resistant to same antibiotic. Resistance to Oxytetracycline occurred in 5 strains (% 71), as two strains were moderately sensitive (% 29).

In this study, isolation and identification of *P. aeruginosa* from environmental mastitis cases were performed in Aydın province. As a conclusion, usage of Danofloksasin, Linkomisin/Neomisin, Sefaperazon and Kolistin Sülfat were proved to bring success in treatment.

Key words: Mastitis, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic susceptibility

KAYNAKLAR

Ak S. Trakya Yöresinde Sığır Mastitisinden Sorumlu Bulaşıcı ve çevresel Bakteriyel Etkenler ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2000 26(2), 353-365.

Anonim. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Personel Communication. 2003.

Anonim. Mastitis Clinical Syndromes. ANSC 438 Lactation Biology Courses, Mastitis Resources, University of Illinois, Department of Animal Sciences, Illinois, USA. [<http://classes.ansci.illinois.edu/ansc438/mastitis/syndromes.html>]. 2014. Erişim Tarihi: 11.06.2014

Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Minbay A, Kahraman M, İzgür M, Leloğlu N, Akay Ö, Diker KS. Özel Mikrobiyoloji, 4.Baskı, Medisan Yayınevi. 1997, p: 91-96

Ayaz D, Erol İ. Canlı Fakat Kültürü yapılamayan Bakteriler ve Gıda Güvenliği Yönünden Önemi. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 2004,15 (1-2), 66

Aydın N. Mastitis, çiftçi üretici yayınları, no:288/23, 1989. Ankara

Bademkiran S, Yeşilmen S, Gürbulak K. Sütçü İneklerde Günlük sağım sayısının Klinik Mastitis ve Süt Verimi Üzerine Etkisi, YYU Veteriner Fakültesi Dergisi. 2005. 16(2): 17-21

Banneman DD, Chockalingam A, Pape MJ. The Bovine Innate İmmun Response During Experimentally İnduced *P. aeruginosa* Mastitis. Elsevier, Veterinary İmmunology and İmmunopathology. 2005. (PubMed)

Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Bailey and Scott's Diagnostik Mic. 9.th. edi. Pathogenic Bacteriology: Survey of Microbes *P.aeruginosa*. 1994.

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitapevi. 1995. 2. Basım.

Blowey R, Edmondson P. Mastitis-Causes, Epidemiology and Control. In: *Mastitis Control in Dairy Herds*. Publish. Farming Press. Books. NY. USA. 1995. p.:27-35

Bradley AJ. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. The Veterinary Journal. 2002. 163, 1 -13

Chakraborty M, ROY JP. Prevalance Biochemical Characterisation and Pathogenicity of *P. aeruginosa* Isolated from Human and Animal Sources. Indian Veterinary Journal. 2001. 78 (12), 1079-1081

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Approved Standard, CLSI Document M31-A2, second ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. Wayne, PA

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard CLSI Document M2-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2003. Wayne, PA

Crist W, Harmon, RJ, O'leary J, Mcallister AJ. Mastitis and Its Control. ASC- 140, Cooperative Extension Service, University of Kentucky, College of Agriculture. 1997. USA.

DeGraves FJ, Fetrow J. Economics of Mastitis and Mastitis Control. Veterinary Clinics of North America: Food and Animal Practice. 1993. 9, 421 -434

Delden VC, Iglewski BH. Cell to cell Signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. Emerging Infectious Disease 1998. 4 (4)

Deveci H, Apaydın AM, Kalkan C, Öcal H. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları, Fırat Üniversitesi Basımevi, 1. Baskı. 1994. Elazığ

Dinsmore TS, Meyer F, Garry H, Hirst. Sources of *Pseudomonas* sp. in Bulk tank Milk on Colorado Dairy Farms. Published in Proceedings of the 2.nd. İnt. Symposium on Mastitis Milk Quality. 2001. pp: 140

Gassett J. Infection Control Today: *Pseudomonas aeruginosa*: Well qualified fot the New Age. (<http://www.infectioncontroltoday.com/articles/2001/02/pseudomonas-aeruginosa-well-qualified-for-the-new.aspx>.) Erişim tarihi: 11.10.2014

Goldberg BJ, Gerald BP. *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharides and Pathogenesis, Science Direct. 1999. 4 (12), 490 - 494

Gül B. Biyofilm, Tolerans ve İnfeksiyon Bölgesinde Direnç. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı. 2002. S.196

Hillerton JE. Control of Mastitis. In Progress in Dairy Science, Edited by C.J.C. Phillips, CAB International, Wallingford, Oxon, UK. 1996. 171-190

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9. Ed. Williams and Wilkins. 1994. Baltimore –USA

Iglewski BH. Pseudomonas. Medmicro Chapter 27. 2002. (<http://gsbs.utmb.edu/microbook>) Erişim Tarihi: 05. 2014.

Jayarao B. Bovine Mastitis. Department of Veterinary Science, Pennsylvania State University. 2004. USA.

Keskin G. Mastitis Dosyası. Alke İlaç Ar-Ge Laboratuarları, İstanbul, Türkiye. [<http://www.alkenet.com/Mastitis/mastitis2.html>]. 2011. Erişim Tarihi: 24.04.2014

Kirk J., R., Mellenberger, (2002). Pseudomonas Mastitis İn Dairy Cows. (Erişim Tarihi: 2013)

Koneman E, Allen DS, Jonda WM, Schreckenberger PC, Winn WCJ. Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology. 1997. 5. Edi., pp. 268

Moore MD. Reference Paper: Pseudomonas and the Laboratory Animal, 10, 4, (www.criver.com/Hechdocs/pseudomonas.html). 1997. Erişim Tarihi: 20.08.2014

Mustafa A. Mastitis in Dairy Cows. Dairy Cattle Production 342-450A, McGill University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Department of Animal Science. 2003. Quebec, Canada

Ohnishi M, Sawada T, Hirose K, Sato R, Hayashimoto M, Hata E, Yonezawa C, Kato H. Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine Pseudomonas aeruginosa and Serratia marcescens isolates from mastitis. Vet Microbiol. 2011. Dec 29;154(1-2):202-7

Ross RG, Balakrishnan G, Anbiah SV. Antibigram of Bacteria İsolated from Mastitis Casesof Cattlein Idukki District. Indian Veterinary Journal. 2001. 78 (11), 1066-1067

Ruegg P. Emerging Mastitis Threats on the Dairy. University of Wisconsin Extension, Department of Dairy Science. 2001. Madison, USA

Sandholm M. Inflammation in Mastitis. *The Bovine Udder and Mastitis*. Ed: Sandholm M, Buzalkski T, Kaartinen L, Pyörala S. Gummerus Kirjapaino Oy. Finland 1995. p.:59-75

Smith KL, Hogan JS. Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality. 2001. September 13-15, Vancouver, BC, Canada, 1

Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim Kaya NB. Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin gorulme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2009. 23(2): 101-106

Thai S, Louse MD. Medical Microbiology; The Student Should Know (M-205). 2002.

Tmanova L. Detection of *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* by PCR assay Directly from Milk. 2003. Phd Thesis

Todar K. Bacteriology at UW. Madison, University of Wisconsin –Madison, (Bact330/lecturepseudomonas). 2002. Erişim tarihi: 22.07.2014

Türütoğlu H, Mudul Ş, Türkmen M. Mastitisli İnek Sütlerinden İzole edilen Staph. auerus Etkenlerinde Beta–Laktamaz Enzimi Varlığı. (proje.akdeniz.edu.tr/sorgu/fon/baslik/ozet/2000.01.0122.013.doc) 2000. Erişim tarihi: 02.09.2014

Türütoğlu H, Ateşoğlu A, Salihoğlu H, Öztürk M. Marmara bölgesi süt ineklerinde mastitise neden olan aerobik etkenler. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 1995. 26: 125-137

Twardon J, Samborski Z, Dejneka GJ, Dzieciol M. Infuence of Finger Disorders on Reproduction system and Udder Salubrity in Cows. Medycyna-Weterynaryja. 2001. 57 (9), 653-657

Ünal B. Değişik Kaynaklardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Tespiti ve Biofilm Oluşumunun Araştırılması, 2005. PhD Thesis

Vehmas T, Sandholm M. Balance between Bacteria and Host – The Bacteria's Point of View. *The Bovine Udder and Mastitis*. Ed: M, Buzalkski T, Kaartinen L, Pyörala S. Gummerus Kirjapaino Oy. Finland. 1995. p.:49-58

Wolska K, Bukowski K, Anusz Z, Jakubczak A. Bacterisidal Activity of Human, Swine and Cattle Serum Against *P. aeruginosa* Strains. *Med. Dosw. Microbiology*. 1999. 51 (3-4), 399-45

Yeşilmen S, Özyurtlu N, Bademkiran S. Diyarbakır Yöresinde Subklinik Mastitisli İneklerde Etken İzolasyonu ve Duyarlı Antibiyotiklerin Belirlenmesi, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2012: 1 (4):24-29

Zadoks R. Environmental Mastitis, Part 1. *Nodpa News*. 2004. 4: 13-14

Zhang NA, Taylor JL. Biofilms: A Rewiew. *Microbiogy and Moleculer Biology Rewiers*. 1994. 21, 486-505

ÖZGEÇMİŞ

26 Eylül 1987 tarihinde, Afyonkarahisar iline bağlı Dinar ilçesinde dünyaya geldim. Eğitim hayatıma 1994 yılında Kars Fevzi Paşa İlkokulunda başladım ve ilköğretimimi 2001 yılında İzmir Gaziemir Gazikent İlköğretim okulunda tamamladım. 2004 yılında Burdur Cumhuriyet Anadolu Lisesinden mezun olduktan sonra, aynı sene Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım ve 2009 yılında yükseköğretimimi aynı fakültede tamamladım. 2012 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Halen, Aydın ilinde Serbest Veteriner Hekimlik hizmetlerimi yürütmekteyim.

Sunulan tezden elde edilen yayınlar:

Cemil Ş, Erbaş G (2014). Sığırların Klinik Mastitislerinden *Pseudomonas aeruginosa*'nın izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. 11. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı). 21-24 Ekim 2014 Antalya.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmam süresince her türlü yardım ve fedakârlığı sağlayan, bilgi, tecrübe ve güler yüzü ile çalışmama ışık tutan, tez çalışmalarımız süresince, üstün bir motivasyon anlayışı sergileyerek, bitiş aşamasına kadar ulaşmamı sağlayan, çalışmamın yöneticisi Değerli Hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ' ın şahsında, Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Osman KAYA'ya, tüm öğretim üyelerimize ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme yürekten şükranlarımı sunarım.