

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



İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİSLERE
SEBEP OLAN BAKTERİ TÜRÜNE GÖRE
SÜTTEKİ TH₁/TH₂ SİTOKİN DENGESİNİN
BELİRLENMESİ
DOKTORA TEZİ
Tarık ŞAFAK
2021

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Prof. Dr. Mustafa KAYMAZ

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Prof. Dr. İbrahim ŞEKER

Prof. Dr. R. Gözde ÖZALP



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Tarık ŞAFAK

17.06.2021

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

ELAĞIĞ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarını yürütürken bütün aşamalarında büyük katkısı olan danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Ali RİŞVANLI'ya teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Hem teorik hem de klinik eğitim yönünden mesleki anlamda beni yetiştiren ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A. D. Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Ali Mükremin APAYDIN, Prof. Dr. Cahit KALKAN, Prof. Dr. Halis ÖCAL, Prof. Dr. Hamit YILDIZ ve Prof. Dr. Muhterem AYDIN'a teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerin yapılmasında vermiş olduğu tavsiyelerden dolayı Prof. Dr. İbrahim ŞEKER'e teşekkür ederim.

Süt numunelerinin toplanmasında ve analizlerin yapılmasında çok büyük katkısı olan Arş. Gör. Öznur YILMAZ'a emekleri için teşekkür ederim.

Lisans eğitimim boyunca bilimsel ve manevi desteği üzerimde olan, ayrıca bugün meyvelerini almaya başladığım akademik sürece başlamam için beni teşvik edip bu başarıları elde etmemdeki çok büyük emek ve katkıları olan Sayın Prof. Dr. Kadri Zafer KARAER hocama saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında olduğu gibi zorlu bir süreç olan doktora eğitimimin de her aşamasında, desteklerini esirgmeden hep yanımda olan aileme, sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı 119O787 no'lu proje ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na da ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ.....	viii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Mastitislerin Sınıflandırılması.....	5
3.1.1. Klinik Forma Göre Sınıflandırma	6
3.1.2. Etiyolojik Etkenlere Göre Sınıflandırma	9
3.1.2.1. Stafilokoklar	11
3.1.2.2. Streptococcus agalactiae	13
3.1.2.3. Escherichia coli	14
3.2. Sütün Bileşenleri ve Mastitisle İlişkisi.....	17
3.3. Meme Savunma Sistemi ve Sitokinler	19
3.3.1. İnterferon Gamma (IF- γ).....	22
3.3.2. İnterlökin-2.....	23
3.3.3. Tümör Nekroz Faktör (TNF)	23
3.3.4. İnterlökin-4.....	24
3.3.5. İnterlökin-5.....	25
3.3.6. İnterlökin-10.....	25

4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	28
4.1. Gereç	28
4.1.1. Çalışma Bölgesi ve Popülasyon Sayısı	28
4.1.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	29
4.2. Yöntem.....	30
4.2.1. Bakteriyolojik Kültür	30
4.2.2. Süt Somatik Hücre Sayımı	31
4.2.3. Süt Kompozisyon Analizlerinin Yapılması	31
4.2.4. Süt Sitokin Analizlerinin Yapılması	32
4.2.5. Verilerin İstatistiki Analizi.....	32
5. BULGULAR.....	36
6. TARTIŞMA	53
7. KAYNAKLAR	66
8. ÖZGEÇMİŞ.....	78

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında sütteki sitokin düzeyleri	38
Tablo 2: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında süt SHS düzeyi	39
Tablo 3: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında sütün dansite ve elektrik iletkenliği.	39
Tablo 4: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında süt kompozisyonu.....	40
Tablo 5: Gruplar bazında süt sitokin düzeyleri	43
Tablo 6: Gruplar bazında süt SHS düzeyi.....	44
Tablo 7: Gruplar bazında sütün dansite ve elektrik iletkenliği	45
Tablo 8: Gruplar bazında süt kompozisyonu	47
Tablo 9: Süt SHS düzeylerine göre sitokin düzeyleri	48
Tablo 10: Süt SHS düzeylerine göre süt kompozisyonu.....	49
Tablo 11: Süt SHS düzeylerine göre sütün dansite ve elektrik iletkenliği.....	50
Tablo 12: Süt SHS düzeylerine göre Th ₁ /Th ₂ polarizasyonu.....	51
Tablo 13: Gruplar bazında Th ₁ /Th ₂ polarizasyonu	52

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
$\alpha\beta$ -T	: Alfa-beta lenfositler
$\gamma\delta$ -T	: Gamma-delta lenfositler
μ m	: Mikrometre
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
PCR	: Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu
EMB	: Eosin Methylen-Blue Lactose Sucrose
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
CMT	: Kalifornia Mastitis Test
CSF	: <i>Colony Stimulating Factor</i>
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
Ig	: İmmünoglobülin
KDa	: Kilodalton
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokoklar
LPS	: Lipopolisakkarit
MALDI-TOF MS	: <i>Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
NMC	: <i>National Mastitis Council</i>
SHS	: Somatik hücre sayısı
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
Th	: <i>Helper</i> lenfositler
TNF	: Tümör nekroz faktör

1. ÖZET

Bu tezde, ineklerde subklinik mastitislere neden olan bakteri türlerine (*Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus aureus*) göre sütteki Th₁/Th₂ sitokin dengesinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmaya 180 adet inek dahil edildi. İneklere Kaliforniya Mastitis Testi (CMT) uygulandı. Kaliforniya Mastitis Testinde, dört meme lobuda negatif olan inekler CMT (-) grubuna (n=45) dahil edildi. *Escherichia coli* grubu (n=45), CMT pozitif süt örneklerinde *Escherichia coli* üreyen ineklerden; *Streptococcus agalactiae* grubu (n=45), CMT pozitif süt örneklerinde *Streptococcus agalactiae* üreyen ineklerden ve *Staphylococcus aureus* grubu (n=45), CMT pozitif süt örneklerinde *Staphylococcus aureus* üreyen ineklerden oluşturuldu. Süt numunelerindeki somatik hücre sayımı *Cell Counter* cihazı kullanılarak ölçüldü. Süt kompozisyon analizi *Laktoscan* cihazı kullanılarak ve sitokin analizleri ise tür spesifik ticari ELISA kitleri kullanılarak yapıldı. *Escherichia coli* grubunda süt TNF- α ve IFN- γ düzeyi yüksek bulunurken, IL-2 düzeyi düşük bulundu. En düşük süt IL-4 düzeyi CMT (-) grubunda bulundu. Süt IL-5 düzeyi en yüksek *Streptococcus agalactiae* grubunda bulunurken, süt IL-10 düzeyi en yüksek *Staphylococcus aureus* grubunda tespit edildi. Ayrıca, sütteki somatik hücre sayısının (SHS) artması, TNF- α ve IFN- γ düzeyinin azalmasına, IL-5 düzeyinin ise artmasına neden oldu. Ancak, IL-2, IL-4 ve IL-10 düzeylerinin SHS değişikliğinden etkilenmediği tespit edildi. Ayrıca, süt örneklerinde yağ yüzdesi *Escherichia coli* grubunda en yüksek oranda bulunurken, yağsız kuru madde, protein, laktoz ve mineral madde yüzdesi en düşük oranda bulundu.

Sonuç olarak, *Escherichia coli* grubunda Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₁ yönüne kaydığı belirlendi. *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus aureus* gruplarında ise Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₂ yönünde olduğu bulundu. Bulgularımıza göre, *Escherichia coli*'ye bağlı mastitis olgularında hücresel bağışıklığın güçlü tutulması gerekirken, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae*'nin neden olduğu mastitislerde ise h  moral bağışıklığın desteklenmesi kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Th₁/Th₂ sitokin, Subklinik mastitis, İnek

2. ABSTRACT

The Determination of Th₁/Th₂ Cytokine Balance in Milk According to the Bacterial Species that Cause to Subclinical Mastitis in Cows

This thesis study aimed to determine the Th₁/Th₂ cytokine balance in milk according to the bacterial species (*Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, and *Staphylococcus aureus*) which causes subclinical mastitis in cows. One hundred and eighty cows were included in the study. California Mastitis Test (CMT) was performed on the cows. In the CMT, cows with negative four quarters were included in the CMT (-) group (n = 45). *Escherichia coli* group (n = 45) was designated as cows with only *Escherichia coli* growing in milk samples of CMT-positive, *Streptococcus agalactiae* group (n = 45) as cows with only *Streptococcus agalactiae* growing in milk samples of CMT-positive, and *Staphylococcus aureus* group (n = 45) as cows with only *Staphylococcus aureus* growing in milk samples of CMT-positive. Somatic cell counts (SCC) in milk samples were measured by using a Cell Counter device. Milk composition analysis was performed using the Laktoscan device, and cytokine analysis was performed using species-specific commercial ELISA kits. In the *Escherichia coli* group, while milk TNF- α and IFN- γ levels were found high, IL-2 levels were found low. The lowest milk IL-4 level was found in the CMT (-) group. While the highest milk IL-5 level was found in the *Streptococcus agalactiae* group, the highest milk IL-10 level was detected in the *Staphylococcus aureus* group. Also, increased somatic cell count (SCC) in milk caused a decrease in TNF- α and IFN- γ levels and an increase in IL-5 levels.

However, it was determined that IL-2, IL-4, and IL-10 levels were not affected by the SCC change. Moreover, while the percentage of fat in the milk samples was found the highest in the *Escherichia coli* group, the percentage of solid-not-fat, protein, lactose, and mineral matter was found the lowest.

As a result, it was determined that the Th1/Th2 polarization balance shifted towards the Th1 direction in the *Escherichia coli* group. The Th1/Th2 polarization balance was found to be in the Th2 direction in the *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* groups. According to our findings, it was concluded that cellular immunity should be kept strong in mastitis cases due to *Escherichia coli*, and humoral immunity should be supported in mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*.

Key Words: Th₁/Th₂ cytokine, Subclinical mastitis, Cow

3. GİRİŞ

Mastitis, s t sığırı işletmelerinde ineğ n meme dokusunun yangılanması ve sütteki somatik hücre sayısının (SHS) artmasıyla karakterize oldukça sık görülen ve bir o kadar da maliyetli bir hastalıktır (1). İneklerde mastitis klinik ve subklinik olmak üzere iki şekilde görülür. Klinik mastitislerde memede, sütte ve hatta hayvanın genel durumunda değişiklikler gözlenirken, subklinik mastitislerde ise sütteki SHS artışı (>200.000 hücre/ml) dikkati çeker (2, 3). Her iki mastitis tipinde de süt veriminde önemli bir azalma söz konusudur. Mastitis vakalarında bozukluk iyileşse bile hayvanda eski süt verimi gözlenmez ve ineğ n hastalandıktan sonraki süt üretim miktarı sağlıklı döneme göre çok daha düşük kalmaktadır (4). Mastitise bağlı olarak ortaya çıkan ekonomik zararlar; süt veriminde azalma, sütün atılması, süt kalitesinin düşmesi, veteriner hekim hizmetlerindeki maliyet artışı, mastitisli hayvanların sürüden çıkarılması, diğer hastalıklar, kontrol ve koruma tedbirlerinin getirdiği ek giderler (5, 6) ve bununla birlikte inekte reproduktif performansın düşmesi (7) şeklinde sıralanabilir (8).

3.1. Mastitislerin Sınıflandırılması

Değişik kriterlere göre mastitisler sınıflandırılmakla birlikte, klinik form veya sebep olan etkene göre sınıflandırma daha yaygın olarak kullanılmaktadır (9, 10).

3.1.1. Klinik Forma Göre Sınıflandırma

Klinik mastitis, sütte sulanma, peynirleşme, pıhtılaşma vb. fiziksel değişikliklerin yanı sıra meme dokusunda ısı artışı, kızarıklık, şişlik ve ağrı gibi yangısal belirtilerin gözlendiği mastitis formudur. Klinik mastitis şekillenen ineklerde meme dokusunda oluşan yangıyla ilişkili lokal değişikliklerin yanı sıra sistemik belirtiler de görülebilir. Klinik mastitisler, klinik seyrine göre; perakut, akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırılır (9).

Perakut mastitis, aniden şekillenerek memede ciddi yangı belirtilerine yol açar. Süt seröz bir hal alarak, süt sentezinde azalma veya durma görülebilir. Bu durum, yangıya neden olan mikroorganizmaların ürettiği toksinler ve lökositler tarafından oluşturulan atık maddelerden kaynaklanabilmektedir. Perakut mastitislerde ortaya çıkan septisemi ve toksemi tablosu sonucunda vücut ısısı 41°C'ye kadar artabilmektedir. Nabız ve solunumda artış, rumen hareketlerinde durma, bacaklarda ısı kaybı bazen de inekte yan tarafa yatma vardır. Tedavi edilmediği durumda ölümle sonuçlanabilir. Akut mastitiste klinik belirtiler perakut mastitise göre daha ılımlıdır. Memedeki yangısal değişiklikler 12-24 saat içinde şekillenir. Tedavide başarı oranı perakut forma göre daha yüksektir. Subakut mastitis ise sütte renk değişikliği ve pıhtılaşma ile karakterizedir. Memede aşırı bir şişme ve genel durum bozukluğu yoktur. Belirtiler meme dokusu ile sınırlıdır. Kronik mastitis olgularında hayvanın genel durumunda bir değişiklik yoktur. Memede ağrı, kızarıklık ve ısı artışı söz konusu değildir. Ancak, meme dokusundaki yıkımlanmalara bağlı olarak fibröz doku oluşması sonucu memede sertleşmeyle kendini gösterir. Sütte her zaman bariz bir değişiklik olmayabilir (9, 10, 11).

Subklinik mastitis, memenin inspeksiyonu ve palpasyonu ile kolayca tespit edilebilen klinik bulguların olmaması nedeniyle teşhis edilmesi zor bir mastitis şeklidir. Memede ve sütte gözle görülür deformasyonlar oluşturmamakla birlikte hastalığın seyrinin uzun olmasından dolayı daha fazla ekonomik kayba sebep olmaktadır. Süt kayıplarının yaklaşık %70-80'inin subklinik mastitislerden kaynaklandığı bildirilmektedir (6, 11). İşletmelerde bu şeklin, klinik mastitislerle oranla 20-40 kat daha fazla görüldüğü de bildirilmektedir (9). Subklinik mastitis vakalarında klinik bir bulgu olmadığından dolayı hastalığı saptamak için güvenilir tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Subklinik mastitisin tanısı genellikle bakteriyolojik kültürün yanı sıra, süt SHS ölçümü, Kalifornia Mastitis Test (CMT), pH ve elektrik iletkenliğini belirleme yöntemlerine dayanır (5, 12). Sütte SHS'nin 200.000 hücre/ml olması eşik değer olarak kabul edilir. Eğer sütte 200.000 hücre/ml'den fazla SHS var ise subklinik mastitis olarak düşünülmektedir (3, 9, 13, 14). Somatik hücre sayısı subklinik mastitisi tespit etmede kullanılan önemli bir parametredir. Meme sağlığının izlenmesi, süt kalitesinin takip edilmesi ve hatta sütün litre fiyatının belirlenmesinde de SHS önemli bir bileşendir. Öte yandan sütteki SHS ineğin ırkı, yaşı, siklus dönemi, laktasyon sayısı ve dönemi, vücut kondisyon skoru, rasyon farklılığı ve diğer hastalıklar gibi birçok faktörden de etkilenebilmektedir (15). Sütteki SHS'nin %75'i nötrofil lökositler ve %25'i epitel hücrelerden oluşmaktadır (16). Eritrositler ise mililitrede 200 adet kadar bulunabilmektedir (15). Sağlıklı memede SHS'nin büyük çoğunluğunu makrofajlar oluşturmaktadır (17). Ancak, mastitis şekillendiği durumda memeye nötrofil göçü olacağından SHS'nin %90'lara varanını nötrofil lökositler oluşturur (18).

Somatik hücre sayısı subklinik mastitis hakkında önemli bilgi verse de daha önce bahsedilen faktörlerden dolayı kesin teşhis yöntemi değildir. Antikor temelli teşhis metodu olarak bilinen Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) mastitis için teşhis amaçlı kullanılmaktadır. ELISA yöntemi ile mastitis olgularından sorumlu patojenler kolaylıkla tespit edilebilmektedir (5). Günümüzde, sütte bakteriyel patojenlerin tanımlanması için mikrobiyolojik teşhislerden bağımsız yöntemlerin kullanımı daha yaygın hale gelmiştir (19). Mastitis etkenlerinin tanısı için izolasyon prosedürü atlanarak süt örneğinden direkt polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi ile identifikasyona yönelik birçok protokol geliştirilmiştir. Bunlar, *konvensiyonel* PCR, *Quantitative* PCR (QPCR), *Loop-Mediated Isothermal Amplification* PCR (LAMP-PCR) gibi protokollerdir. Bu protokoller tek bir etkenin belirlendiği *simpleks* ya da birden çok etkenin tek işlemde belirlenmesine yarayan *multipleks* PCR'dır (20). Bireysel süt örneklerinde veya tank sütündeki patojene ait DNA'yı tespit etmek için ticari PCR'lar mevcuttur. Tank sütünde PCR yöntemi *Streptococcus agalactiae* gibi düşük prevalanslı patojenin tespit edilmesine olanak sağlamaktadır (21). Mastitisle ilişkili patojenleri identifiye etmek için geliştirilmiş olan, *PathoProof* (Thermo Fisher Scientific Ltd., Vantaa, Finlandia) ticari hale getirilmiştir. Daha sonra da diğer ticari kitler *Mastit* 4 (DNA Diagnostic, Risskov, Danimarka), *Bactotype Mastitis* HP3 PCR kit (QIAGEN Pty Ltd, Chadstone Centre, Victoria, Australia) ve *Bovicheck Mycoplasma bovis* PCR kit (Biovet Inc. Quebec, Canada) geliştirilmiştir (22). Polimeraz zincir reaksiyon analizleri hız, amaç ve sonuçların otomatik olarak yorumlanması ve bakteriyel tespitte artan hassasiyet dahil olmak üzere geleneksel kültür yöntemlerine göre çeşitli avantajlar sağlamıştır. Bu nedenle PCR, mastitis

tanılarında geleneksel yöntemlerin eksiklerini tamamlayacak bir araç olarak kullanılmaktadır (23). Bakteriyolojik kültürde negatif olan örneklerde dahi PCR yöntemi ile mastitis etkenleri tespit edilebilmektedir (24).

Gelişen teknoloji ile birlikte de son zamanlarda ortaya çıkan *matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) mastitis sebebi olan bakterilerin identifikasyonunda yüksek sensitivite ve spesifite ile kullanım alanı bulmuştur (25, 26).

Sığır mastitisi pek çok araştırmaya konu olmasına ve pek çok teşhis yöntemi geliştirilmiş olmasına rağmen, hâlâ dünya çapında büyük bir sorun olarak süt sığırcılığı işletmelerini ekonomik olarak etkilemektedir. Çok fazla araştırmaya konu olmasına rağmen, klinik mastitis oluşumunda bir azalma mevcut olmasına karşın subklinik mastitis prevalansında hemen hemen hiçbir azalma kaydedilmemiştir (27).

3.1.2. Etiyolojik Etkenlere Göre Sınıflandırma

Mastitisin bu kadar yaygın olmasının nedenlerinden biri de mastitisin çok sayıda etkeni olmasıdır. Mastitisin etiyolojisine bakıldığında bakteri, virüs, maya gibi birçok enfeksiyöz ajanın yanı sıra fiziksel travmalar ve hayvana bağlı etkenlerin de mastitislerin oluşmasında etkili olduğu görülmektedir (28, 29, 30). Ancak, mastitisin oluşmasında en önemli etkenler bakteriyel ajanlardır (31). Mastitisin bakteriyel etiyolojisi dikkate alındığında, hastalığın kontagiyöz, çevresel, fırsatçı ve nonspesifik etkenler tarafından oluşturulduğu görülmektedir (10). Kontagiyöz etkenler arasında *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* ve *Corynebacterium bovis* yer alır. Kontagiyöz

etkenlerin yayılmasında en önemli faktör mastitisli sütlerdir. Etkenler doğrudan ve dolaylı yollarla diğer hayvanlara, buzağılara, süt sağım makinelerine, insanlara ve çevreye yayılmaktadır. Kontagiyöz mastitis etkenleri daha çok meme dokusunda bulunduğu için bulaşmadaki kritik zaman sağım anıdır. Hayvandan hayvana bulaşın en yoğun olduğu dönem sağımın yapıldığı süreçtir (32). Koruma ve kontrol noktasında ise sağım sonrası *teat dipping*, kuru dönem tedavisi, iki veya üç tedaviden sonra tedaviye cevap vermeyen hayvanları sürüden çıkarma gibi uygulamalar yapılmaktadır (33).

Çevresel etkenler arasında ise *Escherichia coli*, *Klepsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia* spp yer almaktadır. Çevresel etkenler daha çok altlık, gübre ve toprakta bulunmaktadır. Bulaşma, bu alanlarda bulunan etkenlerin çevreden ineğe geçmesi şeklinde olmaktadır (10, 34). Çevresel etkenlerden korumak için; sağımdan önce meme başlarının temizlenmesi, dezenfekte edilmesi ve kurulanması, sağım öncesi *teat dipping* uygulamak ve özellikle *Escherichia coli*'ye karşı geliştirilmiş olan aşılardan yararlanılması yer almaktadır (32).

Diğer bir mastitis sınıflandırma şekli de majör, minör ve diğer mastitis etkenleri olarak yapılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre majör patojenler olarak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* ve koliform bakteriler (*Escherichia coli* ve *Klepsiella* spp) sayılabilir. Minör patojenler ise *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* ve *Corynebacterium bovis* gibi etkenlerdir (35).

Mastitise neden olan etkenler arasında çoğunlukla Streptokoklar (%5,43-20,35), Enterobakteriler (%8,47) ve değişken oranlarda da koagülaz negatif

Stafilokoklar (KNS) (%2,86-58,15) yer almaktadır. Enterobakteriler arasında da *Escherichia coli* başı çekmektedir. Öte yandan *Staphylococcus aureus*'un tek başına mastitis vakalarının %19,97-65,0'inden sorumlu olduğu da bildirilmektedir (31, 36, 37).

3.1.2.1. Stafilokoklar

Staphylococcus spp sığır mastitislerinden en çok izole edilen etkenler olup 50'den fazla alt türü bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus* tavşan plazmasını koagüle ettiği için koagülaz pozitif sınıfında yer alırken, diğer stafilokok türleri tavşan plazmasını koagüle etmemesi nedeniyle KNS olarak adlandırılır (10). Yapılan çalışmalarda mastitisli inek sütü örneklerinde oldukça fazla KNS alt türü tanımlanmıştır (38, 39). Bunlar arasında; *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hyicus* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi sıklıkla izole edilen türler yer alır. Koagülaz negatif Stafilokok kaynaklı mastitis vakalarında süt verimindeki azalma ve SHS düzeyindeki artış bakteri farklılığından dolayı önemli bir fark oluşturmamaktadır. Bu yüzden mastitis vakalarında özel bir neden yok ise tür identifikasyonu yapılmadan sadece KNS olarak tanımlanırlar. Bu etkenler genellikle subklinik mastitise neden olurlar (40, 41).

Staphylococcus aureus mikroskopik olarak kok şeklinde 0,5-1,5 µm çapında tek tek veya düzensiz kümeler tarzında görülür. Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob bakteriler olup spor oluşturmazlar. Kültür ortamında çok hızlı ürerler. Üremeleri için temel besi yerleri yeterlidir. Katı ve sıvı besi yerlerinde bir gecelik inkübasyonlarda yoğun olarak ürerler. Katı besi yerlerinde koloniler

oluştururlar ve kolonilerin çapı iki ile dört mm kadardır. Koloniler S tipli, kenarları düzgün, yuvarlak ve parlak görünümlüdür. Sıvı besi yerinde ise homojen bulanıklık yaparak ürerler ve üreme süresi arttıkça bulanıklık artar ve dipte tortu oluşur. *Staphylococcus aureus* pigmentlerinin suda çözünmemesi nedeniyle katı ortamda pigmentli olan kolonilerin buyyonda üretilmesi sonrasında pigment oluşumu görülmez (42, 43).

Staphylococcus aureus subklinik ve kronik sığır mastitisinde izole edilen ve süt sığırı işletmeleri için önemli major bir patojendir (44, 45). Sığır mastitis etiolojisinde %60-70'e kadar sorumludur. *Staphylococcus aureus*'un primer bulunma alanı meme bezidir. Etken aynı zamanda meme derisi yüzeyinde, vulvada, sağımçı elinde, sağım makinalarında ve çevresel alanlarda da bulunabilir. Etkenin meme bezine girmedeki tek yolu meme başı kanalıdır ve primer risk dönemi sağım zamanıdır (33, 46).

Staphylococcus aureus kontagiyöz mastitis etkenleri arasında en sık görülen patojendir. Neredeyse bütün sürülerin *Staphylococcus aureus* ile enfekte olmuş en az bir ineğe sahip olduğu belirtilmektedir (34). *Staphylococcus aureus* tüm Dünya'da süt sığırı işletmelerinde yaygınlığını korumaktadır (47). Etkenin hedef noktası meme alveolleridir. Kan-süt bariyerinde mikroapseler şeklinde kolonize olmaktadır. Bu bölgelerde şekillenen hasar sonrası alveoler dokunun yapısı bozulur ve alanı sikatriks dokusu doldurur. *Staphylococcus aureus*, klinik ve subklinik mastitise neden olmaktadır. Subklinik şekli en çok görülen formdur. Subklinik form sürü içinde çok hızlı yayılım göstermektedir. Ekonomik olarak işletmede çok ciddi kayıplara yol açmaktadır. Subklinik formların zamanla kronik hale geçmesiyle memede farklı büyüklüklerde fibrotik alanlar görülebilir. *Staphylococcus aureus*

mastitislerinde perakut form pek görülmez, ancak şekillendiği durumlarda hayvanın ölümüne neden olmaktadır (10, 48). Ayrıca, hücre zarına zarar veren toksinler de üretebilir (31).

Son yıllarda, direnç kazanan *Staphylococcus aureus* formu olan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) önemli bir sorun haline gelmiştir (49). Önceleri domuz işletmelerinde önemli olmasına rağmen, günümüzde sığır işletmelerinde mastitis etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (44). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* mastitis etkeni olarak son yıllarda, Almanya (50), Polonya (51), Belçika (52), Çin (53), Kore (54), Tunus (55) ve Türkiye’de (56) mastitis sebebi olarak tespit edilmiştir. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*'un neden olduğu mastitis enfeksiyon prevalansı düşük olsa da MRSA'nın sürüler arasında yayılması hayvan ticareti ile mümkündür. Sürü içinde yayılması ise sağımçı elleriyle ve sağım ekipmanları ile sığırdan sığıra bulaşması ile olmaktadır (57). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* sadece mastitisli memede bulunup hayvanı etkilemez, kesimhanelerde MRSA mastitisli hayvanların kesilmesiyle karkaslarında kontamine olma ihtimali vardır. Ayrıca, MRSA’ya bağlı mastitisli süt ve süt ürünleri halk sağlığını ciddi şekilde tehdit etmektedir (58, 59).

3.1.2.2. Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae, Gram-pozitif, fakültatif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, hareketsiz bakteridir. *Streptococcus agalactiae* küresel ile oval şekilli hücrelere sahip olup çapları yaklaşık bir µm'dir. Bölünme çiftler ve zincirler üreten bir düzlem üzerinde gerçekleşir (60). Üst solunum yolu, ağız ve genital kanalda yaygın olarak bulunmaktadır. Organik materyal içeren ortamlarda yaşam

süreleri oldukça uzun olmasına rağmen, çevresel koşullara oldukça duyarlıdır ve canlılığını kolaylıkla kaybeder. Sağım hijyeni için kullanılan kimyasallara oldukça duyarlıdır. Kurumuş irin içinde, toprakta, altlıkta, gıdalarda, sağım sistemlerinde ve süt kaplarında haftalarca yaşayabilir (10). Ancak, yaşamını sürdürebilmesi için meme dokusu ve süt gereklidir. İnekten ineğe bulaşmada süt, sağımıcının elleri veya sağım sistemi ekipmanları rol oynar. Temel enfeksiyon kaynağı ise işletmeye alınan yeni hayvanlardır. Yüksek oranda bulaşıcı olan *Streptococcus agalactiae* meme dokusunda yer alan kanal sistemine yerleşir ve yangıya neden olur. Enfeksiyonun kalıcı hale geçtiği durumlarda ise sekretorik hücreler hedef alınır ve bu dokularda hasara neden olur. Etken büyük çoğunlukla subklinik mastitise neden olur. Somatik hücre sayısı 1.000.000 hücre/ml'nin üzerine çıkmaktadır (9, 10, 60). Djabri ve ark. (35) tarafından yapılan bir meta analiz çalışmasında ise bu rakam ortalama 875.000 hücre/ml olarak belirtilmiştir.

3.1.2.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli, Gram-negatif, aside duyarlı, spor oluşturmeyen, 0,6x3,0 µm ebatlarında çomak şekilli bir bakteridir. Üreme süresi ve üreme periyodunda mikroorganizmaların sayısı ısıya bağlıdır. *Nutrient* agarda 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası düzgün, küçük, konveks ve renksiz koloniler oluşturur. *MacConkey* agarda parlak pembe, *Eosin Methylen-Blue Lactose Sucrose* (EMB) agarda, koyu yeşil-siyah metalik parıldamalı koloniler oluşturur. Koloniler çoğunlukla bir veya üç mm çapında ve granüler yapıda görülür. Kanlı agarda hemoliz yapma özelliği yaygındır. *Escherichia coli* sıvı besi yerlerinde kısa sürede bulanıklık oluşturmaktadır (61, 62).

Escherichia coli, iç sitoplazmik zar, peptidoglikan tabakası ve dış zardan oluşan bir hücre zarına sahiptir. İç sitoplazmik zar içindeki enzimler, peptidoglikan tabakasının, fosfolipit protein tabakasının ve lipopolisakkarit (LPS) tabakasının temel kimyasal birimlerini sentezler. Peptidoglikan tabakası, bakteriye şekil vererek bakterinin şeklini korumaktadır. Dış hücre zarı ise fosfolipitler, membran proteinleri ve LPS içerir. Lipopolisakkarit lipid-A, LPS çekirdeği ve O-antijenleri olarak adlandırılan polisakkarit ünitelerini içermektedir. Lipit-A, LPS'nin lipofilik iç kısmıdır, bu yapı LPS'nin endotoksin olarak da bilinen toksik etkilerine sebep olduğu yapıdır (61, 63). Hücre duvarında çıkıntı yapan fimbriyalara sahip olabilir. Ayrıca, bazı suşlarda kapsül denilen kalın bir polisakkarit tabakası bulunabilmektedir. Kapsül hücrenin dışında ek bir koruyucu tabaka olarak görev yapmaktadır, vücudun savunma mekanizmalarının bakteriyi tanımasını ve imha etmesini engellemektedir. *Escherichia coli* suşları genel olarak somatik (O), flagellar (H), kapsüller (K) ve fimbriyal (F) antijeni bulundurur ve serolojik olarak böyle tanımlanmaktadır (62, 63). Somatik antijen dış hücre zarını oluşturan LPS yapısındadır. Isıya dirençli yüzey antijeni olarak bilinir. Beş ya da daha fazla sayıdaki polisakkaritten oluşmaktadır. Günümüzde 180'den fazla O antijeni izole edilmiştir. Kapsüller antijen depolisakkarit (N-asetil neuramik asit) yapıdadır. Altmış farklı K antijeni olduğu belirtilmektedir. Flagellar antijenleri flagellanın bir parçası olup bu nedenle hareketli *Escherichia coli* suşlarında bulunur. Çevreden ilk izole edilen *Escherichia coli* suşlarının çoğu hareketsizdir veya kısmen hareketlidir. Bu nedenden dolayı H antijenine bağlı serotiplendirme güvenilir değildir. Günümüzde 56 adet H antijenin varlığından bahsedilmektedir. Fimbriyal antijenler, proteinöz moleküler yapılar tespit edilmeden önce K antijenleri olarak

bilinmekteydi. Ancak, kendi yapılarının ortaya konmasıyla K antijen grubundan farklı olarak değerlendirilmektedir. Fimbriyal antijen tek tek suşların tanımlanmasında kullanılmaktadır (63).

Escherichia coli, mastitisli sütlerden izole edilmiş ve 1960'lı yıllardan itibaren sığır mastitislerine neden olan etkenler arasında ilk sıralara yerleşmiştir. Çoğunlukla kuru dönemde, erken laktasyon veya doğum esnasında mastitise neden olmaktadır. Bazen ciddi derecede sistemik semptomlara neden olduğu gibi lokal olarak da sadece memede yangısal reaksiyon oluşturabilir. *Escherichia coli* kaynaklı mastitis vakalarında, ateş ile eşzamanlı sepsis gibi ciddi sistemik klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır. Öte yandan *Escherichia coli* ile enfeksiyon durumunda subklinik ve persiste vakalar da görülmektedir (64, 65, 66, 67, 68).

Kuru dönemde çiğ sütte bulunan, demir elementini bağlama ve antibakteriyel özelliği olan laktoferrinin artmış düzeyi enfeksiyonlara karşı en etkili inhibitör faktörlerden biridir. Bu etkisini koliformların büyümesi için gerekli demiri bağlayarak gerçekleştirir. Ancak, laktasyonun ilk dönemlerinde sütte laktoferrin düzeyi azaldığı için bu etki azalmaktadır. Bundan dolayı kuru dönemin ortasında sütçü inekler klinik *Escherichia coli* mastitisine karşı oldukça dirençlidir. Enfeksiyon, konak savunması ile ortadan kaldırılabilir. Ancak, kuru dönemin erken ve son dönemlerinde duyarlılığın artmasına bağlı olarak bu etkene bağlı mastitis görülme olasılığı da artmaktadır (69, 70).

Süt ineklerinde *Escherichia coli* meme içi enfeksiyonların çoğunluğunda 10 gün veya daha kısa sürede geçici enfeksiyonlara neden olur. Ancak, daha kalıcı enfeksiyonlar da görülebilmektedir. Uzun süren enfeksiyonların iki ay veya daha uzun süre devam ettiği bildirilmektedir. *Escherichia coli*, meme içi enfeksiyonda

klirik olarak şiddetli bir yangı oluşturur, bundan dolayı inekler için olduğa zararlı bir patojendir ve ölümcül olabilmektedir (71).

3.2. Sütün Bileşenleri ve Mastitisle İlişkisi

Süt, besin değeri yüksek benzersiz bir biyolojik sıvıdır. Süt rnlerinin kalitesi büyük ölçüde çiğ sütün bileşimine bağlıdır. Bu nedenle, çiğ sütün bileşimindeki değişiklikler süt üreticileri için büyük önem taşımaktadır (72). Süt verim düzeyi, elde edilen sütün bileşimi ve kalitesi süt sığırı işletmelerinde krlılığı etkileyen önemli faktörlerdir. Süt bileşimi, toplam bakteri yükü ve SHS meme sağlığını ve ayrıca sütün kalitesini belirlemede güvenilir bir ölçüt olarak kullanılmaktadır. Doğrudan süt satış noktalarından alınan süt numunelerindeki ortalama toplam aerobik bakteri sayıları $9,2 \times 10^4$ ile $3,6 \times 10^7$ cfu/ml arasında değişmektedir. Satılabilir süt örneklerinde *Escherichia coli* için $5,0 \times 10^0$ ile $1,1 \times 10^2$ cfu/ml, *Enterobacteriaceae* için $6,4 \times 10^1$ ile $1,7 \times 10^6$ cfu/ml ve *Staphylococcus spp* bakterileri $1,6 \times 10^3$ ile $5,1 \times 10^4$ cfu/ml olarak belirtilmektedir. İnek sütü örneklerinde tespit edilen bu bakterilerin varlığı süt verimi ve kalitesini bozmakta ve ayrıca insan sağlığını da önemli ölçüde tehdit etmektedir (73, 74, 75). Süt verimi ve bileşimi genetik ve genetik olmayan birçok faktörden etkilenebilir (76). Yağ, yağsız kuru madde, protein, laktoz ve minerallerden oluşan süt bileşimi hayvanın ırkı, besleme, mevsim, laktasyon dönemi ve sayısı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir (77, 78). Süt proteini ve yağı rasyondaki değişimlerden en fazla etkilenen süt bileşenlerindendir. Bu bileşenlerdeki anormallikler rasyon düzenlenmesi ile düzeltilebilir. Fakat sütün laktoz ve mineral bileşenleri rasyon değişikliklerinden fazla etkilenmezler. Süt yağı ve protein oranının evre

sıcaklığından da olumsuz etkilendiği bildirilmektedir. Bu nedenle beslenme süt bileşeni ve süt kalitesini etkileyen önemli faktörlerden biridir (78, 79). Ancak, süt verimi ve bileşimini etkileyen en önemli faktör mastitis şekillenmesidir. Mastitis olduğu durumlarda memede yangısal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu durum süt SHS’nda artışa neden olmaktadır. Somatik hücre sayısındaki artışa başta nötrofiller olmak üzere makrofajlar ve lenfositler neden olmaktadır. Somatik hücre sayısının yüksek olduğu subklinik mastitisli süt, süt proteini, süt yağı, yağsız kuru madde, laktoz ve mineral maddelerdeki değişikliklerle kendini göstermektedir (15, 80, 81). Yüksek SHS, plazmin gibi proteinazların daha yüksek enzimatik aktivitesine, meme bezinin daha düşük sentez yeteneğine ve damar epitel hücrelerindeki geçirgenliğin artmasına neden olabilir. Proteolitik enzimler ve mastitisli sütün bileşimindeki değişikliklerden dolayı elde edilen süt ve süt ürünlerinde kalite azalmaktadır (82, 83, 84). Süt SHS’ndaki belirgin artış meme sağlığındaki sorunlar, süt kalitesi, üretimi ve bileşimiyle yakından ilişkilidir. Süt SHS’nı mastitisin yanı sıra, ırk, yaş, laktasyon sayısı ve dönemi (15, 85, 86), meme ve meme başı anatomisi (87), sağım sıklığı, mevsim (88, 89), sağım hijyeni (90) ve sağım yapan çalışanların eğitim düzeyi ve bu konular üzerine almış oldukları eğitimler (91, 92) gibi diğer faktörlerde etkileyebilmektedir.

Mastitis sırasında süt ve memede şekillenen değişiklikler, inflamatuvar süreç ve süt sentezinden sorumlu epitel hücrelerin hasar görmesinin yanı sıra mikroorganizmaların enzimatik etkisine bağlı olarak damar geçirgenliğindeki değişimlerle ilişkilidir (93, 94). Damar geçirgenliğindeki bu değişimlere bağlı olarak sütün yapısında bulunan iyonlarda da oranlar değişmektedir. Sodyum (Na^+) ve klor (Cl^-) iyon düzeyleri sütte artarken, potasyum (K^+) iyonu azalmaktadır. İyon

düzeylerindeki bu değişimler sonucu sütün elektrik iletkenliği de değişmektedir. Mastitis geliştiği durumlarda sütte artan Na^+ ve Cl^- iyonları sonucu sütün elektrik iletkenliği artmaktadır. Sütün elektrik iletkenliğindeki artış meme sağlığının takibinde, süt kalitesinin değerlendirilmesinde ve subklinik mastitisin teşhisinde kullanılmaktadır (93, 95, 96, 97).

Mastitise neden olan bakteri türüne göre sütün bileşeni, sütün elektrik iletkenliği ve dansitesinde değişiklikler meydana gelebilmektedir. Ancak, bu konuda standart bir değişim söz konusu değildir. Zira yapılan çalışmalarda aynı bakterinin bile süt bileşenlerine farklı etkiler yapabileceği gösterilmiştir (95, 98, 99). Malek dos Reis ve ark. (86) tarafından yapılan çalışmada, *Staphylococcus aureus*'nun neden olduğu mastitisli sütlerde yağsız kuru madde ve protein oranının azaldığı belirtilirken, Coulon ve ark. (98) tarafından *Staphylococcus aureus* kaynaklı mastitislerde yapılan araştırmada proteinin yüksek, laktozun düşük oranda bulunduğu bildirilmektedir. Somatik hücre sayısındaki ve bileşenlerdeki bu farkları değerlendirirken ırk, mevsim, laktasyon sayısı ve dönemi gibi farklılıklar da göz önünde tutulmalıdır (86, 94).

3.3. Meme Savunma Sistemi ve Sitokinler

Mastitis oluşumundan sorumlu majör mikroorganizmaların dışında 150'ye yakın daha etken olduğu bilinmektedir. Bu kadar çok mikroorganizmadan korunmak için de hayvanda şekillenmiş ve gelişmekte olan bir takım olaylar zinciri mevcuttur. Başta doğal (*innate*) bağışıklık sisteminin parçası olan, memenin anatomik yapısında bulunan meme derisi, meme başı sfinkteri, meme başı keratini ve *Fürstenberg* rozeti meme savunmasında önemli rol oynamaktadır (9, 10).

Ayrıca, fagositozda görevli nötrofil lökositler, makrofajlar ve *natural killer* (NK) hücreleri de bu sistemin önemli bir parçasıdır (100). Yine doğal bağışıklığın parçası olan kimyasal savunma bileşenleri içinde yer alan laktoferrin, transferrin, lizozim (*N-acetylmuramyl hydrolase*) ve laktoperoksidaz-tiyosiyanat-H₂O₂ sistemi de oldukça önemlidir (101).

Doğal bağışıklığın ötesinde kazanılmış (*adaptive*-spesifik) bağışıklık sistemi de memenin immün savunmasında önemli rol oynar. Kazanılmış bağışıklık T ve B lenfositler tarafından oluşturulur. Lenfositler kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerinden köken alır. T lenfositler kan yoluyla timus bezine gelerek gelişimlerini devam ettirirler. B lenfositlerin ise gelişimi kemik iliğinde devam eder ve tamamlanır (102).

Lenfositler, morfolojik olarak birbirine çok benzemelerine rağmen, işlevsel ve fenotip olarak birbirinden tamamen ayrıdır. Bundan dolayı farklı biyolojik yanıt ve aktivitelerde görev alırlar. Günümüzde bu hücreler, monoklonal antikor panelleri kullanılarak birbirinden ayırt edilebilmektedirler. Bu hücrelerin yüzeyinde bulunan proteinlerin standart adlandırılması “CD” (*Cluster of Differentiation*-Yüzey farklılaşma antijenleri) ile sayısal olarak tanımlanmaktadır (102).

T lenfositler; $\alpha\beta$ -T lenfositler ve $\gamma\delta$ -T lenfositler olarak ikiye ayrılır. $\gamma\delta$ -T lenfositleri CD8 (sitotoksik lenfositler), $\alpha\beta$ -T lenfositleri CD4 (yardımcı/*helper* lenfositler, Th) olarak tanımlanır. Yardımcı T lenfositler ise farklı sitokin türleri üreten ve dolayısıyla farklı görevleri olan Th₁, Th₂, Th₁₇ ve T_{reg} (düzenleyici) gibi alt hücre tiplerine farklılaşmaktadır (103).

Mastitiste doğal ve kazanılmış bağışıklık yapıları dışında yer alan ancak doğal ve kazanılmış bağışıklık hücrelerinin farklılaşmasında, aktivasyon ve

inaktivasyonunda önemli rol oynayan sitokinler vardır (104). Sitokinlerin mastitis patofizyolojisi üzerine etkisi olduğu bilinmektedir. Meme içi bakteriyel enfeksiyonların gelişimi süresince ve memenin savunma sisteminde sitokinler önemli rol oynamaktadır (103). Sitokin, *cyto* (hücre) ve *kinos* (hareket) kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşan ve polipeptit, protein çoğunlukla da glikoprotein yapısındaki molekülleri tanımlayan genel bir terimdir. Günümüzde çok sayıda sitokin tanımlanmıştır. Sitokinler, hücreler arasında iletişimi sağlamak amacı ile vücudun birçok hücresi tarafından üretilen ve salınan küçük (5-25 kDa) protein yapısında moleküllerdir (104, 105). Fonksiyonlarına, köken aldıkları ve etki ettikleri hücrelere göre interferon (IFN), interlökin (IL), kemokin, *growth factor* ve *Colony Stimulating Factor* (CSF) olarak sınıflandırılmaktadır (104). Sitokinler etkilerini otokrin (sitokinin kendi salgılandığı hücre sine etki etmesi), parakrin (salgılanan sitokinin yanındaki komşu hücreyi etkilemesi) ve endokrin (sitokinin kan yoluyla taşınarak vücudun başka bir yerindeki hücreye etki etmesi) olarak gösterirler. Sitokinlerin etkisini göstermeleri tek başına olduğu gibi birbiriyle bağlantılı olarak da gerçekleşmektedir. Sitokinlerin, *pleiotropi* (bir sitokinin farklı hücrelerde farklı etkilerinin olması), *redundant* (farklı sitokinlerin aynı hücrede aynı etki göstermesi), *sinerjik* (farklı sitokinlerin birbirlerinin etkisini artırması), antagonistik (bir sitokinin başka bir sitokinin etkisini engellemesi) ve kaskat uyarımı (bir sitokinin zincirleme şeklinde başka bir sitokinin üretimini uyarması) gibi özellikleri vardır (106).

İnterlökin-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, tümör nekroz faktör (TNF)- α ve IFN- γ gibi sitokinler mastitis sırasında gelişen akut faz reaksiyonlarında görev almaktadır (103). Yardımcı T lenfositlerin ürettiği sitokinler farklılık

göstermektedir. Th₁ hücrelerinin ürettiği sitokinler arasında IFN- γ , IL-2, TNF- α yer alırken, Th₂ hücreleri ise IL-4, IL-5, IL-10 gibi sitokinleri salgırlar (107, 108). Th₁ hücreleri salgıladıkları sitokinlerle hücreselel immün yanıtı güçlendirirken, Th₂ hücrelerini baskılar. Th₂ hücreleri ise salgıladıkları sitokinlerle B lenfositleri aktive ederken, Th₁ hücrelerini baskılamaktadır (109, 110).

Genel olarak bakıldığında ise Th₁ hücrelerinden salgılanan sitokinler hücreselel, Th₂ hücrelerinden salgılanan sitokinler ise hümorelel immün yanıtta görev almaktadır (111).

3.3.1. İnterferon Gamma (IF- γ)

İnterferonlar keşfedilen ilk sitokin grubudur. İlk olarak, viral enfeksiyonlar için antiviral amaçlı, dolayısıyla patojenin yayılmasını önleyici olarak tespit edilmiştir. İnterferonlar Tip I, Tip II ve Tip III olarak üç sınıfa ayrılır. Tip I IFN'ların başlıca IFN-alfa (α), IFN-beta (β), IFN-epsilon (ϵ), IFN-kappa (κ) ve IFN-omega (ω) çeşitleri vardır. Tip II IFN'ların bilinen tek üyesi IFN-(γ)'dır. Tip III IFN'nun da antiviral ve immünmodölatör görevleri olduğu bilinmektedir (104, 112).

İnterferon- γ vücutta birçok hücre tarafından üretilmelerine rağmen, başlıca üretildiği hücreler Th₁, CD8⁺ T hücre ve NK hücreleri olarak bilinmektedir. IFNGR1, IFNGR2 reseptörü taşıyan hücrelere bağlanarak etkilerini göstermektedirler. İnterferon- γ 'nın tip I IFN gibi doğrudan antiviral etkiye sahip bir özelliği yoktur. Ancak, hücreselel immün yanıt sırasında önemli düzenleyici fonksiyonları olduğu bildirilmektedir (105, 112). *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* ile enfekte memelerden elde edilen sütlerde IFN- γ

düzeyinin arttığı bildirilmektedir (113, 114). Doğal olarak şekillenmiş mastitisin (115), yanı sıra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (116), *Streptococcus uberis* (117), *Mycoplasma bovis* (118), *Klebsiella pneumoniae* (119) gibi patojenlerle deneysel oluşturulan mastitisli sütlerde de IFN- γ düzeyinde artış olduğu bildirilmektedir.

3.3.2. İnterlökin-2

İnterlökin-2, T hücreler için bir büyüme faktörü olarak ifade edilmesine karşın daha sonradan farklı birçok hematopoetik hücrenin büyümesine yardımcı olduğu da tespit edilmiştir (104). Bu sitokinin en önemli fonksiyonu; yardımcı ve sitotoksik T lenfositlerin, B ve NK hücrelerinin değişim ve gelişimini sağlamaktır. Th1'i uyarması makrofaj aktivasyonunu; Th2 hücrelerini uyarması ise antikor sentezlenmesine yardımcı olur (105). İnterlökin-2, Th1 hücreler tarafından salgılanan en önemli sitokinlerden biridir ve hücre içi patojenlere karşı hücre salıksıklığının uyarılmasında önemli fonksiyonu vardır (69). Doğumdan sonra supramammar lenf yumrusuna tek doz şeklinde IL-2 uygulamasından sonra sütte lökosit ve epitel hücre aktivitesinde bir artış gözlemlendiği (120), *in vitro* yapılan bir çalışmada, IL-2 uygulanan meme loblarından elde edilen süttten izole edilen nötrofillerin *Staphylococcus aureus*'a karşı fagositik özelliğinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (121).

3.3.3. Tümör Nekroz Faktör (TNF)

Tümör nekroz faktör'ün, TNF- α ve TNF- β olarak bilinen iki formu vardır. Tümör nekroz faktör- α çoğunlukla makrofajlardan salgılanırken, TNF- β ise T hücrelerinden salgılanmaktadır. Bu iki sitokinin etki spektrumu hemen hemen

birbirine benzerlik göstermektedir. Tümör hücrelerinin ve virüsle enfekte hücrelerin apoptozis yoluyla ölümünü sağlar. Sistemik olarak pirojen etki gösterir ve yüksek ateşe neden olur. Ayrıca, bu sitokinler tarafından aşırı uyarım sonucu şiddetli doku tahribatı gözlenir, hatta şok bile gelişebilir (105). Diğer bakteriyel kaynaklı hastalıklarda olduğu gibi, sığır mastitisi sırasında da TNF- α üretilmektedir. Meme içi enfeksiyon sonrası TNF- α yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Bundan dolayı hem süt hem de kanda tespit edilmektedir. Normalde TNF- α sağlıklı meme lobundan elde edilen sütte bulunmamaktadır. Yapılan deneysel bir çalışmada (113), düşük yoğunlukta *Escherichia coli* ile oluşturulan meme içi enfeksiyonda, 18 saat içinde sütte TNF- α düzeyinin arttığı bildirilmektedir. Öte yandan doğal olarak gelişen *Escherichia coli*'ye bağlı meme içi enfeksiyonda da süt TNF- α düzeyinde belirgin bir artış olduğu belirtilmektedir (122). Mastitisin semptomlarındaki şiddetin artmasıyla, süt TNF düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğu da bildirilmektedir (123).

3.3.4. İnterlökin-4

İnterlökin-4 esas olarak aktive olmuş T lenfositler (Th₂ (CD4) ve sitotoksik (CD8)) tarafından salgılanır. B lenfositlerin büyüme ve gelişmesine, IgM ve IgD'den, IgE ve IgG₁'e dönüşmesini sağlar. Ayrıca, hümmoral bağışıklığı düzenleyen Th₂ tip bağışıklık sisteminin gelişmesini desteklemekte; İnterferon- γ ve *Transforming Growth Factor*- β 'nın (TGF- β) gelişimini baskılamaktadır. Monositlerden salgılanan TNF- α , IL-1 β , IL-12 ve IL-10 gibi sitokinler ile makrofajlar tarafından salgılanan IL-1 β , IL-12'nin *in vitro* olarak doğrudan baskılanmasında IL-4'ün rolü olduğu bilinmektedir (104). Bochniarz ve ark. (124)

yaptığı bir çalışmada, IL-4'ün mastitisli memeden elde edilen sütte sağlıklı sütlerle oranla daha düşük olduğunu bildirilmiştir. Bu özelliğinden dolayı IL-4'ün antiinflamatuvar bir sitokin olduğu ileri sürülmektedir (104).

3.3.5. İnterlökin-5

İnterlökin-5 genel olarak Th₂ hücrelerinde üretilmektedir. İnterlökin-5, eozinofilleri kontrol eden en güçlü sitokindir. Eozinofillerin gelişimi, büyümesi, olgunlaşması ve aktivasyonunda önemli rol almaktadır. B lenfositlerden IgA üretimine katkı sağlamaktadır. Bundan dolayı da hümmoral yanıtta görev aldığı bilinmektedir (102).

3.3.6. İnterlökin-10

İnterlökin-10, T lenfosit, NK ve makrofaj fonksiyonları yanı sıra yangıyı düzenleyen antiinflamatuvar bir sitokindir (103). Başlıca kaynağı, Th1 hücre fonksiyonlarını engelleyen Th2 hücrelerdir (125). Makrofaj ve B hücreler tarafından da üretilir. İnterlökin-10; IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve IL-12'nin sentezini önler. Bu özelliğinden dolayı sitokin sentez inhibitörü olarak da bilinmektedir (105). Meme dokusunda immün yanıtta en iyi incelenmiş antiinflamatuvar interlökinlerden biri IL-10'dur. Bu sitokinin, sitokin sentez inhibisyonu ve MHC-II kompleksini azaltıcı etkisi olmak üzere iki büyük fonksiyona sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, IL-10 aynı zamanda antijenlerin alınması, T ve B lenfositlerin farklılaşması ve fonksiyonları ile de ilgilidir. *Escherichia coli* enfeksiyonundan sonra sütteki IL-10 düzeyinde belirgin bir artış gözlenirken *Streptococcus uberis* enfeksiyonunda gecikmiş bir yanıt oluşmaktadır. *Staphylococcus aureus*'a bağlı meme içi enfeksiyonlarda IL-10

üretiminde önemli derecede bir artış tespit edilememiştir (113). Bu durum, sağlıklı ineklere kıyasla KNS'lara bağlı subklinik mastitisli ineklerin hem kan serumunda hem de sütünde IL-10 düzeylerinin daha düşük olduğunu gösteren başka bir çalışmayla da desteklenmektedir (124).

Süt SHS düzeyinin değişmesine bağlı olarak sitokin düzeyinde de değişim söz konusudur. *Escherichia coli* ile oluşturulan deneysel mastitislerde SHS'nın artmasına paralel olarak ilk 18 saatte TNF- α düzeyinde artış görüldüğü, bu saatten sonra SHS artmasına rağmen, TNF- α düzeyinde azalma olduğu, IL-1 β düzeyindeki artışın ise TNF- α 'nın artmaya başlamasından sonra şekillenmeye başladığı bildirilmektedir (113). Riollet ve ark. (126) *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu mastitislerde IL-8, TNF- α ve IL-1 β 'nın SHS değişimi ile arasında bir ilişki belirleyememişlerdir. Yapılan başka çalışmalarda da, farklı bakteri türünün sebep olduğu mastitis vakalarında SHS düzeyinin değişmesine bağlı olarak sütteki TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ , IL-12 ve IL-10 düzeylerinde değişimlerin olabileceği ileri sürülmektedir (116, 117, 119, 126, 127).

Geçmişte yapılan çalışmalara bakıldığında, mastitis geliştiği durumlarda Th₁ ve Th₂ sitokinlerinin tek tek veya birkaçının aynı anda araştırıldığı çalışmaların olduğu görülmektedir. Bu tezde ise subklinik mastitise neden olan en önemli üç bakteri (*Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus aureus*) türüne göre sütteki Th₁ ve Th₂ lenfositlerinden üretilen sitokin grupları olarak ayrı ayrı değerlendirilmesi hedeflendi. Böylece Th₁/Th₂ sitokin dengesinin polarizasyonu belirlenerek, bakteri türünün enfeksiyonun seyrini hangi yönde değiştirdiği ve hümmoral yanıtı mı yoksa hüccresel yanıtı mı kaydığının belirlenmesi amaçlandı. Sunulan tezde ayrıca subklinik mastitise sebep olan bakteri türlerine

göre sütteki SHS, dansite, elektrik iletkenliği ve sütün bileşimindeki (yağ, yağsız kuru madde, protein, laktoz ve mineral madde) değişiklikler tespit edilerek aralarındaki korelasyonların da ortaya konması hedeflendi. Bu şekilde subklinik mastitisli inek sütlerindeki SHS'nın sitokin düzeyleri ve sütün bileşimi üzerindeki etkileri belirlenerek sütteki immün değişikliklerin süt kalitesine olan etkilerinin ortaya konması amaçlandı. Böylece, bu parametreler arasındaki ilişkiler belirlenerek ineklerde subklinik mastitislerin teşhisi, patogenezi, prognozu, koruma-kontrolü ve tedavisi için yeni hipotezlerin geliştirilmesi amaçlandı.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Çalışma Bölgesi ve Popülasyon Sayısı

Tez çalışması için, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 31.10.2018 tarih, 2018/98 protokol ve 175 karar numaralı etik kurul raporu alındı. Elazığ ilinde bulunan süt sığırları işletmelerinden Fırat Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 01.11.2019-30.01.2020 tarihleri arasında muayene için getirilen inekler arasından klinik açıdan sağlıklı, farklı ırklardan, 3-5 yaş arası, 450-500 kg ağırlığında, vücut kondisyon skorları 3,5-3,8 arasında değişen, günde iki defa sağım yapılan ve günlük 10-25 lt (ort=14,54 lt) süt verimine sahip inekler (n=180) çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen ineklerde birörnekliliği sağlamak için laktasyon sayısı (ikinci ve üçüncü laktasyonda olanlar), laktasyon dönemi (orta dönem laktasyondaki inekler), gebelik durumları, günlük süt verimi, sağım şekli, daha önce mastitis geçirip geçirmediği (son bir ay içinde mastitis geçirmiş ise çalışmaya dahil edilmedi), sağım öncesi ve sonrası herhangi bir sağım hijyeni prosedürü uygulanıp uygulanmadığı (sağım hijyeni uygulanmayan inekler çalışmaya dahil edilmedi), mastitis için aşı yapıp yapılmadığı, kuru dönem tedavisi ve uygulanan beslenme rejimi hakkındaki bilgiler kayıt altına alındı.

Gruplardaki toplam hayvan sayısını belirlemek için Cohen'in belirttiği şekilde (128) istatistiksel güç analizi yapıldı. Bu çalışmada, etki büyüklüğü=0,25, alfa=0,05 ve güç=0,80 alınarak gerekli olan minimum örnek sayısı 180 olarak belirlendi.

4.1.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Tespit edilen ineklere Ruegg ve Reinemann'ın (129) tarif ettiği şekilde CMT uygulandı. Bu testi yapmadan önce her bir meme lobundan ilk üç sağım boşa sağılıp uzaklaştırıldı. Kaliforniya Mastitis Test için her meme lobundan ayrı ayrı CMT kabının kendi meme lobunu temsil eden bölmesine süt numunesi alındı. Daha sonra süt ile eşit miktarda CMT solüsyonu (BOVI-VET, CMT-Test, Kruuse, Danimarka) kabın her bölümüne eklendi. Yatay vaziyette 10-15 saniye dairesel hareketler yapılarak solüsyon ile sütün etkileşime girmesi sağlandı. Daha sonra kapta oluşan jelin kıvamına göre hep aynı kişi tarafından CMT skorlaması yapıldı. Skora göre sonuçlar CMT negatif (-) ve pozitif (+) (kendi içinde +, ++ ve +++ derecesinde) olarak ayrıldı. En az bir meme lobu +, ++ ve +++ değerden birini aldıysa inek subklinik mastitis olarak değerlendirildi. Dört meme lobu da negatif değerini aldıysa CMT negatif yani sağlıklı olarak değerlendirildi (130). Kaliforniya Mastitis Testinde dört meme lobu negatif olan hayvanlar CMT (-) grubunu (n=45) oluşturdu. Diğer grupları oluşturmak için CMT pozitif meme başlarından steril plastik tüplere (*Centrifuge tube* 15 ml, Isolab, Almanya) mikrobiyolojik muayene için yaklaşık iki ml, ayrıca SHS ve süt kompozisyonu analizi için 15 ml, sitokin analizi için de iki ml süt numuneleri ayrı tüplere alındı. Mikrobiyolojik ekim için alınan numuneler soğuk zincirde iki saat içerisinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ulaştırıldı.

4.2. Yöntem

4.2.1. Bakteriyolojik Kültür

Bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyonu *National Mastitis Council* (NMC) kriterleri dikkate alınarak yapıldı (131).

Süt numuneleri 4.000 devirde 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Dipte oluşan çökeltiden *Pasteur* pipeti ile örnek alınarak kanlı agar ve *MacConkey* agar (Oxoid, Hampshire, United Kingdom) besi yerlerine ekimler yapıldı ve aerob koşullarda 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Gram boyama tekniği kullanılarak koloni morfolojileri identifiye edildi. Koloni morfolojilerindeki farklar belirlendi ve sayıldı. Stafilokok türlerinin streptokok türlerinden ayırımını yapmak için katalaz testi kullanıldı. *Staphylococcus aureus* ve KNS türlerini birbirinden ayırt etmek için koagülaz testleri kullanıldı. Streptokok, eskülin pozitif streptokoklar (*Streptococcus uberis* ve diğer eskülin pozitif streptokoklar) ve eskülin negatif streptokoklar (*Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus dysgalactiae*) olarak alt gruplara ayrıldı. *Christie-Atkins-Munch-Peterson* (CAMP) testi ile *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus dysgalactiae* ayrımı yapıldı. *Escherichia coli* katalaz, indol, metil red ve laktoz testlerine pozitif reaksiyonlarla; *Bacillus* spp ise kanlı agardaki koloni morfolojilerine göre ayırt edildi. Ayrıca, bir süt örneğinde üç veya daha fazla koloni belirlendiği durum da örneklerin kontaminasyonu olarak değerlendirildi (132).

Mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonu yapıldıktan sonra, *Escherichia coli* grubu CMT pozitif süt örneklerinde sadece *Escherichia coli* üreyen inekler (n=45), *Streptococcus agalactiae* grubu CMT pozitif süt

örneklerinde sadece *Streptococcus agalactiae* üreyen inekler (n=45) ve *Staphylococcus aureus* grubu ise CMT pozitif süt örneklerinde sadece *Staphylococcus aureus* üreyen inekler (n=45) olarak belirlendi. Süt örneklerinde iki ve daha fazla bakteri üreyen inekler çalışma dışında tutuldu. Dört grupta aranan kriterleri taşıyan inek sayısına ulaşmak için 500 adet ineğe ait 2.000 meme lobu muayene edildi.

4.2.2. Süt Somatik Hücre Sayımı

Dört grupta bulunan tüm numunelerde somatik hücre sayımı DeLaval Cell Counter® (*Cellcounter DCC*; DeLaval, Sweden) cihazı kullanılarak, süt örneği alındıktan sonra en geç bir saat içinde yapıldı. Jaeger ve ark.'nın (133) tarif ettiği gibi, somatik hücre çekirdeklerini tanımlayan DNA spesifik bağlayıcı bulunan kasete 60 µL süt aspire edildi. Süt aspire edildikten sonra kaset cihaza yerleştirildi ve cihaza entegre lazer okuyucu ile aspire edilen süt içindeki SHS belirlendi. Analizler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

4.2.3. Süt Kompozisyon Analizlerinin Yapılması

Alınan süt numunelerinde dört grup içinde yağ (%), yağsız kuru madde (%), protein (%), laktoz (%), mineral madde (%), dansite (kg/m³) ve iletkenlik (mS/cm) düzeyleri Laktoscan (Milkotronic/EUROPE) cihazı kullanılarak ölçüldü. Ölçümler Alam ve ark.'nın (134) önerdiği şekilde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

4.2.4. Süt Sitokin Analizlerinin Yapılması

Tüm gruplardaki ineklerden iki ml'lik ependorf tüplere alınan süt numuneleri analizler yapılana kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Alınan bu süt numunelerindeki Th₁ (TNF- α , IFN- γ , IL-2) ve Th₂ (IL-4, IL-5, IL-10) sitokin düzeylerini belirlemek için tür spesifik ticari IFN- γ (katalog no: SEA049Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China), IL-2 (katalog no: SEA073Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China), TNF- α (katalog no: SEA133Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China), IL-4 (katalog no: SEA077Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China), IL-5 (katalog no: SEA078Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China) ve IL-10 (katalog no: SEA056Bo, all USCN Life Science Inc., Wuhan, China) ELISA kitleri kullanıldı. ELISA testinin uygulama aşamaları üretici firmanın kitapçıkta belirttiği gibi yapıldı. Tüm aşamalar bittikten sonra süt sitokin düzeyleri pleytlerin ELISA okuyucusunda (Bio-Tek Instruments, USA) 450 nm'da okutulmasıyla belirlendi (135). Sitokin analizleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

4.2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Verilerin istatistiksel analizlerinin yapılmasında SPSS 22.0 paket programı (Statistical Package for the Social Sciences for Windows SPSS 22.0 Edition for Windows, Chicago, Illinois, USA) kullanıldı.

Kalifornia Mastitis Test (-) ve CMT (+) yönünden incelenen parametrelere ait verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve *Kolmogorov-Smirnov* testleri kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda verilerden yağsız kuru maddenin parametrik test varsayımlarını

sağladığı, normal dağılım gösterdiği belirlendi. Öte yandan sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-10), SHS, yağ, protein, laktoz, mineral madde, dansite ve elektrik iletkenliği verileri parametrik test varsayımlarını sağlamadığı, normal dağılım göstermedikleri tespit edildi. Bu nedenle, çalışmada incelenen yağsız kuru madde için *Student t* testi kullanılırken, sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-10), SHS, yağ, protein, laktoz, mineral madde, dansite ve elektrik iletkenliği için CMT (-) ve CMT (+) yönünden karşılaştırmalarda *Mann-Whitney-U* testi kullanıldı (136).

Ayrı ayrı gruplar bazında incelenen parametrelere [sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-10), SHS, süt kompozisyonu (yağ, yağsız kuru madde, protein, laktoz, mineral madde), dansite ve elektrik iletkenliği] ait verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve *Kolmogorov-Smirnov* testleri kullanılarak incelendi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri belirlendi. Sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-10), SHS, protein ve mineral maddeye ait verilerin değerlendirme sonucunda parametrik test varsayımlarını sağlamadığı, normal dağılım göstermedikleri tespit edildi. Bu nedenle, çoklu grup karşılaştırılmasında kullanılan *nonparametrik* testlerden *Kruskal-Wallis* testi gruplar arası karşılaştırmada kullanıldı. *Kruskal-Wallis* testine göre sitokinler, SHS, protein ve mineral maddeye ait veriler için $P < 0,05$ olarak değerlendirildi. Böylece, belirtilen bu dört gruptan en az bir tanesi diğerlerinden anlamlı derecede farklı olduğu anlaşıldı. Hangi grubun hangisinden farklı olduğunu belirlemek için ikili grup karşılaştırmaları yapıldı. *Kruskal-Wallis* sonrası *post-hoc* ikili grup karşılaştırmalarında *Bonferroni* düzeltmeli *Mann-Whitney-U* testi uygulandı. *Bonferroni* düzeltmesi, istatistiksel anlamlılık sınır değeri olan 0,05'in

yapılacak kıyaslama sayısına (dört grup kendi içinde altı farklı şekilde kıyaslanır) bölünmesi sonucu elde edilen değer ikili kıyaslamalardaki anlamlılık sınır değeri olarak kullanılır. *Bonferroni* düzeltmeli *Mann-Whitney-U* anlamlılık değeri $0,05/6=0,0083$ olarak hesaplandı. Ancak, bu test için 0,01 veya daha küçük bir önemlilik değeri kullanıldığında *Mann-Whitney-U* testinin gücü azalmaktadır. Bundan dolayı ikili grup karşılaştırılmalarında $P<0,01$ olarak kabul edildi (136, 137).

Yağ, yağsız kuru madde, laktoz, dansite ve elektrik iletkenliği parametrelerine ait verilerin normal dağılım gösterdiği, parametrik test varsayımlarını sağladığı tespit edildi. Bu nedenle bu parametrelere ait verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Varyans analizinde, gruplar arasında farklılığın olduğu tespit edildiğinde, farkın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için uygun *post-hoc* test yöntemleri kullanıldı. ANOVA sonrası gruplar arası farkı belirlemek için *post-hoc* analizi yapıldı. Yağ, yağsız kuru madde, laktoz, dansite ve elektrik iletkenliği verilerine yapılacak *post-hoc* analizini belirlemek için *Levene* testi dikkate alındı. Bu teste göre verilerde varyansların homojen dağılıp dağılmadığı belirlendi. Yağ ve dansite için varyanslar homojen dağılım ($P>0,05$) gösterirken, yağsız kuru madde, laktoz ve elektrik iletkenliği için varyansların homojen dağılım göstermediği ($P<0,05$) belirlendi. Bu nedenle yağ ve dansite için *post-hoc* olarak *Tukey HSD (honestly significant difference)* kullanılırken, yağsız kuru madde, laktoz ve elektrik iletkenliği için *Tamhane's T₂* kullanıldı. *Tukey HSD* ve *Tamhane's T₂* analizinde anlamlılık değeri $P<0,05$ olarak değerlendirildi (136, 137).

Somatik hücre sayısı düzeyleri bazında oluşturulan gruplara yönelik incelenen parametrelere [sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-10), süt kompozisyonu (yağ, yağsız kuru madde, protein, laktoz, mineral madde), dansite ve elektrik iletkenliği] ait verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (*Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk*) incelendi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri belirlendi. Tüm parametrelere ait verilerin değerlendirme sonucunda parametrik test varsayımlarını sağlamadığı, normal dağılım göstermedikleri belirlendi. Bu nedenle, çoklu grup karşılaştırılmasında *nonparametrik* testlerden *Kruskal-Wallis* testi kullanıldı. *Kruskal-Wallis* sonrası *post-hoc* ikili grup karşılaştırmalarında *Bonferroni* düzeltmeli *Mann-Whitney-U* testi uygulandı. *Bonferroni* düzeltmesinde, istatistiksel anlamlılık sınır değeri olan 0,05'in yapılacak kıyaslama sayısına (beş grup kendi içinde 10 farklı şekilde kıyaslanır) bölünmesi sonucu elde edilen değer ikili kıyaslamalardaki anlamlılık sınır değeri olarak kullanıldı. *Bonferroni* düzeltmeli *Mann-Whitney-U* anlamlılık değeri $0,05/10=0,005$ olarak hesaplandı. Ancak, bu test için 0,01 veya daha küçük bir önemlilik değeri kullanıldığında *Mann-Whitney-U* testinin gücü azalmaktadır. Bu sebepten dolayı ikili grup karşılaştırmalarında $P<0,01$ olarak kabul edildi (136).

5. BULGULAR

Sunulan tezdeki, CMT (-) ve CMT (+) grupları arasındaki süt sitokin düzeylerine ait verilerin istatistiki analiz sonuçları tablo 1’de verildi. Tablo 1’de görüldüğü gibi CMT (+) grubundaki TNF- α ($194,06 \pm 20,71$ pg/ml, $P < 0,001$), IFN- γ ($33,51 \pm 5,13$ pg/ml, $P < 0,001$) ve IL-10 ($8,28 \pm 0,12$ pg/ml, $P < 0,05$) düzeylerinin CMT (-) grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı belirlendi. İnterlökin-4 ($509,74 \pm 33,69$ pg/ml, $P < 0,05$) ve IL-5 ($8,87 \pm 0,20$ pg/ml, $P < 0,001$) düzeylerinin ise istatistiksel olarak artış gösterdiği tespit edildi. Kalifornia Mastitis Test (-) ve CMT (+) grupları arasında süt IL-2 düzeyi açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).

Kalifornia Mastitis Test (-) ve CMT (+) gruplarında SHS açısından gruplar arasında istatistiki olarak önemli ($P < 0,001$) fark belirlendi (Tablo 2). Kalifornia Mastitis Test (+) ineklerin süt numunelerindeki SHS ($1.148.000,11 \pm 134.000,60$ hücre/ml) CMT (-) gruptaki ineklerin süt numunelerine ($48.000,87 \pm 7.000,09$ hücre/ml) göre yüksek tespit edildi.

Kalifornia Mastitis Test (-) ve CMT (+) gruplarına ait sütün dansitesi ve elektrik iletkenliğiyle ilgili bulgular tablo 3’de özetlendi. Tabloya göre CMT (+) grubundaki dansite değerinin ($1.032,93 \pm 0,34$ kg/m³) CMT (-) grubuna ($1.034,91 \pm 0,56$ kg/m³) göre düşük bulunurken ($P < 0,01$), elektrik iletkenliğinin ise CMT (+) grubunun ($4,52 \pm 0,02$ mS/cm) CMT (-) grubuna ($4,23 \pm 0,02$ mS/cm) göre yüksek olduğu ($P < 0,001$) tespit edildi.

Kalifornia Mastitis Test (-) ve CMT (+) gruplarındaki ineklere ait süt kompozisyonları ile ilgili bulgular tablo 4’de özetlendi. Buna göre CMT (-) ve CMT

(+) grupları karşılaştırıldığında CMT (+) grubundaki ineklerin süt numunelerinde yağ değerinin ($4,92 \pm 0,20$) yüksek olduğu tespit edildi ($P < 0,001$). Kalifornia Mastitis Test (-) grubundaki ineklerin süt numunelerinde de laktoz değeri ($5,55 \pm 0,04$) CMT (+) gruba göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ($P < 0,05$). Yağsız kuru madde, protein ve mineral madde değerleri açısından ise CMT (-) ve CMT (+) gruplar bazında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($P > 0,05$).



Tablo 1: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında sütteki sitokin düzeyleri

Sitokinler (pg/ml)	CMT (-) (n=45)				CMT (+) (n=135)				P
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	
TNF-α	329,92 $\pm$ 26,14	249,50	130,00	600,00	194,06 $\pm$ 20,71	30,00	7,80	600,00	***
IFN-γ	75,72 $\pm$ 10,20	62,50	37,20	490,00	33,51 $\pm$ 5,13	10,20	7,80	575,00	***
IL-2	8,54 $\pm$ 0,43	7,66	4,78	15,74	9,75 $\pm$ 0,58	8,02	4,96	62,50	-
IL-4	343,15 $\pm$ 42,15	262,00	15,00	1.200,00	509,74 $\pm$ 33,69	400,00	2,00	1.200,00	*
IL-5	7,57 $\pm$ 0,30	6,60	5,50	14,40	8,87 $\pm$ 0,20	8,40	5,40	20,10	***
IL-10	9,26 $\pm$ 0,37	8,90	6,00	15,00	8,28 $\pm$ 0,12	8,30	6,00	14,00	*

-: P>0,05, *: P<0,05, ***P<0,001

Tablo 2: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında süt SHS düzeyi

	CMT (-) (n=45)				CMT (+) (n=135)				P
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	
SHS ($\times 10^3$)									
(hücre/ml)	48,87 $\pm$ 7,09	30,00	5,00	181,00	1.148,11 $\pm$ 134,60	451,00	108,00	6.716,00	***

***: P<0,001

Tablo 3: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında sütün dansite ve elektrik iletkenliği

Parametreler	CMT (-) (n=45)				CMT (+) (n=135)				P
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	
Dansite (kg/m³)	1.034,91 $\pm$ 0,56	1.036,00	1.026,00	1.041,00	1.032,93 $\pm$ 0,34	1.033,00	1.022,00	1.045,00	**
Elektrik iletkenliği									
(mS/cm)	4,23 $\pm$ 0,02	4,30	4,00	4,40	4,52 $\pm$ 0,02	4,50	4,1	5,1	***

: P<0,01, *: P<0,001

Tablo 4: CMT (-) ve CMT (+) gruplarında süt kompozisyonu

Süt kompozisyonu	CMT (-) (n=45)				CMT (+) (n=135)				P
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	Min	Max	
Yağ (%)	3,38±0,36	2,20	0,70	9,00	4,92±0,20	4,60	0,80	11,60	***
Yağsız kuru madde (%)	10,16±0,08	10,20	8,70	11,20	9,96±0,06	9,90	8,70	11,20	-
Protein (%)	3,68±0,03	3,70	3,20	4,10	3,61±0,02	3,60	2,80	4,60	-
Laktoz (%)	5,55±0,04	5,60	4,80	6,10	5,44±0,03	5,40	4,20	6,90	*
Mineral (%)	0,79±0,01	0,80	0,70	0,90	0,77±0,01	0,80	0,60	1,00	-

-: P>0,05, *: P<0,05, ***: P<0,001

Gruplar arası süt sitokin düzeyine ait bulgular tablo 5’te verildi. Buna göre; süt TNF- α düzeyi en yüksek *Escherichia coli* grubunda ($483,10 \pm 27,84$ pg/ml) tespit edildi. *Escherichia coli* grubuna ait değerin diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ($P < 0,01$). *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* grupları arasında ise süt TNF- α düzeyi bakımından istatistiki fark tespit edilmedi ($P > 0,01$).

Escherichia coli grubunda ($78,66 \pm 13,06$ pg/ml) IFN- γ düzeyi *Staphylococcus aureus* ($10,85 \pm 0,52$ pg/ml) ve *Streptococcus agalactiae* ($11,03 \pm 0,46$ pg/ml) gruplarına göre yüksek bulunurken ($P < 0,01$), CMT (-) grubu ($75,72 \pm 10,20$ pg/ml) ile istatistiksel olarak fark tespit edilmedi ($P > 0,01$). Süt IFN- γ düzeyi bakımından *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* grupları arasında istatistiki fark bulunmadı ($P > 0,01$).

Gruplar bazında süt IL-2 düzeyi en düşük *Escherichia coli* ($7,66 \pm 0,35$ pg/ml) grubunda tespit edildi. Diğer üç grup arasında istatistiksel fark bulunmadı ($P > 0,01$).

Süt IL-4 düzeyi bakımından en düşük değer CMT (-) grubunda ($343,15 \pm 42,15$ pg/ml) tespit edilirken, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* grupları arasında süt IL-4 düzeyi bakımından istatistiksel olarak fark belirlenmedi ($P > 0,01$).

Süt IL-5 düzeyi en yüksek *Streptococcus agalactiae* grubunda ($9,90 \pm 0,40$ pg/ml) iken, en düşük ise CMT (-) grubunda ($7,57 \pm 0,30$ pg/ml) tespit edildi. *Streptococcus agalactiae* grubundaki süt IL-5 düzeyinin ise diğer üç gruptan da istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,01$).

Staphylococcus aureus grubunda süt IL-10 düzeyinin en yüksek olduğu görüldü ($9,35\pm0,16$ pg/ml). *Staphylococcus aureus* grubunun süt IL-10 düzeyi ile *Streptococcus agalactiae* ve *Escherichia coli* gruplarına ait düzeyler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu tespit edildi ($P<0,01$). İnterlökin-10 düzeyinin *Staphylococcus aureus* ($9,35\pm0,16$ pg/ml) ve CMT (-) grupları arasında ($9,26\pm0,37$ pg/ml) istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü ($P>0,01$).

Tablo 6’da dört gruba ait SHS verileri sunuldu. Kalifornia Mastitis Test (-) gruptaki ineklerin süt numunelerindeki SHS değeri diğer üç gruptaki (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae*) ineklerin süt numunelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu bulundu ($P<0,01$). Ancak, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* grupları arasında istatistiki fark bulunmadı ($P>0,01$).

Gruplar arası sütün dansite ve elektrik iletkenliğine ait veriler tablo 7’de verildi. Sütün dansite değeri en düşük *Escherichia coli* grubunda ($1.031,00\pm0,50$ kg/m³) tespit edildi. *Escherichia coli* grubunun dansite değeri CMT (-) ($1.034,91\pm0,56$ kg/m³) ve *Staphylococcus aureus* ($1.034,24\pm0,65$ kg/m³) grubundan istatistiksel olarak düşük bulundu ($P<0,05$). Ancak, *Streptococcus agalactiae* grubu ($1.033,31\pm0,55$ kg/m³) ile arasında istatistiki bir fark bulunamadı ($P>0,05$).

Sütün elektrik iletkenliği istatistiki olarak en düşük CMT (-) grubunda ($4,23\pm0,02$ mS/cm) tespit edildi. *Streptococcus agalactiae* grubunun ise en yüksek ($4,61\pm0,02$ mS/cm) değere sahip olduğu görüldü. *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* grupları arasında ise sütün elektrik iletkenliği yönünden istatistiki farkın olmadığı görüldü ($P>0,05$).

Tablo 5: Gruplar bazında süt sitokin düzeyleri

Sitokinler (pg/ml)	CMT (-)		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		P
	(n=45)		(n=45)		(n=45)		(n=45)		
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	
TNF- α	329,92 $\pm$ 26,14 ^b	249,50	483,10 $\pm$ 27,84 ^c	600,00	33,42 $\pm$ 6,23 ^a	21,60	65,67 $\pm$ 15,65 ^a	26,10	***
IFN- γ	75,72 $\pm$ 10,20 ^b	62,50	78,66 $\pm$ 13,06 ^b	56,50	10,85 $\pm$ 0,52 ^a	10,00	11,03 $\pm$ 0,46 ^a	10,10	***
IL-2	8,54 $\pm$ 0,43 ^{ab}	7,66	7,66 $\pm$ 0,35 ^a	6,76	11,86 $\pm$ 1,62 ^b	8,26	9,75 $\pm$ 0,42 ^b	9,16	***
IL-4	343,15 $\pm$ 42,15 ^a	262,00	571,42 $\pm$ 57,35 ^b	550,00	550,80 $\pm$ 57,03 ^b	400,00	407,02 $\pm$ 58,87 ^{ab}	270,00	**
IL-5	7,57 $\pm$ 0,30 ^a	6,60	8,10 $\pm$ 0,34 ^{ab}	7,10	8,62 $\pm$ 0,21 ^b	8,40	9,90 $\pm$ 0,40 ^c	9,10	***
IL-10	9,26 $\pm$ 0,37 ^{bc}	8,90	7,69 $\pm$ 0,26 ^a	7,10	9,35 $\pm$ 0,16 ^c	9,20	7,81 $\pm$ 0,13 ^{ab}	7,80	***

** : P<0,01, *** : P<0,001. ^{a, b, c} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,01).

Tablo 6: Gruplar bazında süt SHS düzeyi

	CMT (-)		Escherichia coli		Staphylococcus aureus		Streptococcus agalactiae		
	(n=45)		(n=45)		(n=45)		(n=45)		
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	P
SHS (×10 ³) (hücre/ml)	48,87±7,09 ^a	30,00	580,00±88,36 ^b	315,00	1.162,76±214,29 ^b	496,00	1.701,58±312,39 ^b	453,00	***

***: P<0,001. ^{a, b}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,01).

Tablo 7: Gruplar bazında sütün dansite ve elektrik iletkenliği

Parametreler	CMT (-)		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		P
	(n=45)		(n=45)		(n=45)		(n=45)		
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Mediyan	
Dansite									
(kg/m³)	1.034,91±0,56 ^b	1.036,00	1.031,00±0,50 ^a	1.031,00	1.034,24±0,65 ^b	1.3034,00	1.033,31±0,55 ^{ab}	1.034,00	***
Elektrik									
iletkenliği	4,23±0,02 ^a	4,30	4,49±0,03 ^b	4,50	4,46±0,03 ^b	4,50	4,61±0,02 ^c	4,60	***
(mS/cm)									

***: P<0,001. ^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,05).

Tablo 8’de gruplar arası süt kompozisyonuna ait verilerin istatistiki analiz sonuçları verildi. En yüksek yağ oranının ($5,82 \pm 0,34$) *Escherichia coli* grubunda olduğu belirlendi ($P < 0,05$). Buna rağmen yağsız kuru madde ($9,67 \pm 0,09$), protein ($3,51 \pm 0,03$), laktoz ($5,29 \pm 0,05$) ve mineral madde ($0,75 \pm 0,01$) oranı en düşük *Escherichia coli* grubunda tespit edildi.

Tablo 9’da SHS düzeyi ile sitokin düzeyleri arasındaki ilişki özetlendi. Bu tablodan da anlaşılabacağı gibi yüksek SHS görülen süt örneklerinde TNF- α ve IFN- γ düzeyi istatistiksel olarak düşük bulundu ($P < 0,01$). Süt IL-5 düzeyi ise yüksek SHS’lı sütlerde istatistiksel olarak daha yüksek belirlendi ($P < 0,01$). Süt SHS düzeyindeki değişimler ile süt IL-2, IL-4 ve IL-10 düzeyi arasında ise istatistiksel olarak fark tespit edilmedi ($P > 0,05$).

Somatik hücre sayısının düzeyi ve bununla ilişkili olarak süt kompozisyonundaki değişimler tablo 10’da verildi. Buna göre yağsız kuru madde, protein, laktoz ve mineral madde oranının sütin SHS düzeyinin artmasına bağlı olarak azaldığı belirlendi ve bu azalmanın da istatistiksel olarak anlamlı derecede olduğu görüldü ($P < 0,01$). Öte yandan sütin yağ oranı ile SHS düzeyi arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı görüldü ($P > 0,05$).

Süt SHS düzeyi ile sütin dansite ve elektrik iletkenliğine ait veriler tablo 11’de gösterildi. Bu tablodan da anlaşılabacağı gibi yüksek SHS görülen süt örneklerinde dansite değerinin istatistiksel olarak düştüğü görülmektedir ($P < 0,01$). Sütün elektrik iletkenliğinin ise yüksek SHS’lı sütlerde istatistiksel olarak arttığı tespit edildi ($P < 0,01$).

Tablo 8: Gruplar bazında süt kompozisyonu

Süt kompozisyonu	CMT (-)		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		P
	(n=45)		(n=45)		(n=45)		(n=45)		
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Mediyan	
Yağ (%)	3,38±0,36 ^A	2,20	5,82±0,34 ^C	6,30	4,18±0,34 ^{AB}	3,80	4,75±0,32 ^{BC}	4,60	***
Yağsız kuru madde (%)	10,16±0,08 ^B	10,20	9,67±0,09 ^A	9,60	10,16±0,13 ^B	10,00	10,05±0,11 ^{AB}	10,20	**
Protein (%)	3,68±0,03 ^b	3,70	3,51±0,03 ^a	3,50	3,69±0,04 ^b	3,60	3,64±0,04 ^{ab}	3,70	**
Laktoz (%)	5,55±0,04 ^B	5,60	5,29±0,05 ^A	5,30	5,56±0,07 ^B	5,50	5,48±0,06 ^{AB}	5,60	**
Mineral (%)	0,79±0,01 ^b	0,80	0,75±0,01 ^a	0,80	0,79±0,01 ^{ab}	0,80	0,78±0,01 ^{ab}	0,80	*

*: P<0,05, **: P<0,01, ***: P<0,001.

^{a, b}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,01).

^{A, B, C}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,05).

Tablo 9: Süt SHS düzeylerine göre sitokin düzeyleri

SHS ($\times 10^3$) (hücre/ml)		Sitokin (pg/ml)					
		TNF- α	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
<150 (n=56)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	302,75 $\pm$ 27,22 ^b	64,34 $\pm$ 8,77 ^b	8,56 $\pm$ 0,40	385,21 $\pm$ 42,44	7,76 $\pm$ 0,26 ^a	8,96 $\pm$ 0,31
	Mediyan	240,00	62,50	7,66	267,50	6,90	8,45
151-400 (n=51)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	224,19 $\pm$ 34,60 ^a	40,12 $\pm$ 7,10 ^a	9,04 $\pm$ 0,55	459,82 $\pm$ 55,79	8,78 $\pm$ 0,30 ^b	8,38 $\pm$ 0,22
	Mediyan	67,50	11,5	8,02	300,00	8,30	8,40
401-600 (n=20)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	167,90 $\pm$ 51,78 ^a	49,83 $\pm$ 28,27 ^a	9,12 $\pm$ 0,64	570,30 $\pm$ 91,57	9,30 $\pm$ 0,65 ^b	8,31 $\pm$ 0,25
	Mediyan	28,95	10,10	80,08	477,50	8,25	8,75
601-1000 (n=17)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	282,17 $\pm$ 67,52 ^{ab}	32,57 $\pm$ 6,36 ^a	9,38 $\pm$ 0,96	548,05 $\pm$ 90,18	8,36 $\pm$ 0,47 ^{ab}	8,47 $\pm$ 0,45
	Mediyan	165,00	31,20	7,72	350,00	8,40	8,00
>1000 (n=36)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	125,07 $\pm$ 32,39 ^a	20,34 $\pm$ 3,46 ^a	11,62 $\pm$ 1,94	514,22 $\pm$ 65,03	9,12 $\pm$ 0,42 ^b	8,21 $\pm$ 0,25
	Mediyan	28,95	10,10	8,23	425,00	8,70	8,40
P		***	***	-	-	**	-

-: P>0,05, **: P<0,01, ***: P<0,001.

^{a, b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,01).

Tablo 10: Süt SHS düzeylerine göre süt kompozisyonu

SHS ($\times 10^3$) (hücre/ml)		Süt kompozisyonu				
		Yağ (%)	Yağsız kuru madde (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Mineral (%)
<150 (n=56)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	3,85 $\pm$ 0,35	10,14 $\pm$ 0,08 ^b	3,68 $\pm$ 0,02 ^b	5,54 $\pm$ 0,04 ^b	0,79 $\pm$ 0,007 ^b
	Mediyan	2,90	10,15	3,70	5,60	0,80
151-400 (n=51)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	4,97 $\pm$ 0,33	10,12 $\pm$ 0,09 ^b	3,67 $\pm$ 0,03 ^b	5,53 $\pm$ 0,05 ^b	0,79 $\pm$ 0,008 ^b
	Mediyan	4,60	10,10	3,70	5,50	0,80
401-600 (n=20)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	5,01 $\pm$ 0,46	9,96 $\pm$ 0,15 ^{ab}	3,61 $\pm$ 0,05 ^{ab}	5,44 $\pm$ 0,08 ^{ab}	0,77 $\pm$ 0,012 ^{ab}
	Mediyan	4,90	10,00	3,65	5,45	0,80
601-1000 (n=17)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	4,87 $\pm$ 0,66	9,90 $\pm$ 0,18 ^{ab}	3,61 $\pm$ 0,06 ^{ab}	5,40 $\pm$ 0,10 ^{ab}	0,77 $\pm$ 0,020 ^{ab}
	Mediyan	4,40	9,80	3,60	6,40	0,80
>1000 (n=36)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	4,54 $\pm$ 0,36	9,74 $\pm$ 0,16 ^a	3,52 $\pm$ 0,05 ^a	5,31 $\pm$ 0,08 ^a	0,75 $\pm$ 0,014 ^a
	Mediyan	4,15	9,65	3,50	5,25	0,75
P		-	*	*	*	*

-: $P > 0,05$, *: $P < 0,05$. ^{a, b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, ($P < 0,01$).

Tablo 11: Süt SHS düzeylerine göre sütün dansite ve elektrik iletkenliği

SHS ($\times 10^3$) (hücre/ml)		Dansite (kg/m ³)	Elektrik iletkenliği (mS/cm)
<150 (n=56)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1.034,46 $\pm$ 0,54 ^b	4,25 $\pm$ 0,02 ^a
	Mediyan	1.035,00	4,30
151-400 (n=51)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1.033,49 $\pm$ 0,56 ^{ab}	4,38 $\pm$ 0,02 ^b
	Mediyan	1.033,00	4,50
401-600 (n=20)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1.032,85 $\pm$ 0,71 ^{ab}	4,52 $\pm$ 0,04 ^{bc}
	Mediyan	1.033,50	4,50
601-1000 (n=17)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1.032,76 $\pm$ 0,97 ^{ab}	4,55 $\pm$ 0,04 ^c
	Mediyan	1.032,00	4,60
>1000 (n=36)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1.032,36 $\pm$ 0,72 ^a	4,74 $\pm$ 0,02 ^d
	Mediyan	1.032,50	4,70
P		*	***

*: P<0,05, ***: P<0,001

a, b, c ve d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir, (P<0,01).

Tablo 12’de sütün SHS düzeylerine göre Th₁/Th₂ polarizasyon sonuçları verildi. Tablodan da anlaşılacağı gibi süt SHS düzeylerine göre SHS 150.000’den az bulunan süt numunelerindeki TNF- α ve IFN- γ düzeyi diğer gruplara göre yüksek bulundu. Süt Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₁ yönünde olduğu tespit edildi.

Tablo 13’de gruplar bazında Th₁/Th₂ polarizasyon sonuçları sunuldu. Bu tablodan çıkan sonuçlar doğrultusunda *Escherichia coli* mastitisli sütlerde Th₁ yönünde bir polarizasyon şekillenirken, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* kaynaklı mastitisli sütlerde ise Th₂ yönünde polarizasyon şekillendiği görüldü.

Tablo 12: Süt SHS düzeylerine göre Th₁/Th₂ polarizasyonu

SHS ($\times 10^3$) (hücre/ml)	Th ₁				Th ₂	
	TNF- α	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
<150 (n=56)	↑	↑	↔	↔	↓	↔
151-400 (n=51)	↓	↓	↔	↔	↑	↔
401-600 (n=20)	↓	↓	↔	↔	↑	↔
601-1000 (n=17)	↔	↓	↔	↔	↔	↔
>1000 (n=36)	↓	↓	↔	↔	↑	↔

↑ : Sitokin düzeyinin yüksek, ↓ : Sitokin düzeyinin düşük,
↔ : Sitokin düzeyinin değişmediğini simgelemektedir.

Tablo 13: Gruplar bazında Th₁/Th₂ polarizasyonu

Gruplar	Th ₁				Th ₂	
	TNF- α	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
CMT (-) (n=45)		↑		↓		
<i>Escherichia coli</i> (n=45)	↑	↑	↓	↑		
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=45)	↓	↓		↑		↑
<i>Streptococcus agalactiae</i> (n=45)	↓	↓	↑		↑	

↑ : Sitokin düzeyinin yüksek, ↓ : Sitokin düzeyinin düşük olduğunu simgelemektedir.

6. TARTIŞMA

İneklerde immün sistem fonksiyonlarındaki yetersizlik ve başarısızlık neticesinde çoğunlukla mastitis şekillenmektedir. Şekillenen mastitis sebebiyle sütün kompozisyonunda değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler süt ve süt ürünlerinin kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Mastitislerden korumak için hayvanların immün sistemi güçlü tutulmalıdır. Güçlü tutulan immün sistem ile meme mastitise karşı korunur ve böylece elde edilen sütün de kalitesi yükselmiş olur.

Sitokinler, enfeksiyona karşı immünitede aktif rol alan yangısal mediatörlerdir. Özellikle proinflamatuvar sitokinler hem lokal hem de sistemik oluşan yangısal cevapta oldukça etkilidir (103, 138).

Tümör nekroz faktör- α , hem yararlı hem de zararlı özelliklere sahip olduğu bilinen proinflamatuvar bir sitokindir. Lokal olarak, TNF- α tarafından aktive edildikten sonra lökositlerin enfeksiyon bölgesine göçü hızlanır. Tümör nekroz faktör- α 'nın sistemik etkileri ise vücut ısısında ve akut faz proteinlerinin sentezinde artışa neden olmalıdır. Bu lokal ve sistemik etkiler, enfeksiyona karşı konağın doğuştan gelen bağışıklık sistemi için faydalı olmakla birlikte, konağın hayatını tehdit edebilen aşırı yangısal cevap şekillenmesine de yol açmaktadır. Spesifik olarak, TNF- α 'nın şok, doku hasarı, vasküler sızıntı, çoklu organ yetmezliği ve düzensiz koagülopatiye neden olduğu gösterilmiştir (113). Ancak, TNF- α ve diğer sitokinlerin sistemik olarak pirojen etki ve yüksek ateşe neden olabilmesi yani hayvanı sistemik olarak etkileyebilmesi için düzeylerinin çok yüksek olması ve hayvanın klinik olarak semptom göstermesi gerekmektedir (103). Çalışmada

kullanılan ineklerde sadece subklinik mastitis olduğu için ineklerde vücut ısısının yükselmesine neden olan klinik bir tablo söz konusu değildi. Bir başka deyişle ineklerin genel durumları fizyolojik sınırlar (septisemi, toksemi, yeme-içmede bozukluk ve vücut ısısında artış yoktu) içindeydi. Makrofajlar, lenfositler, nötrofiller ve epitel hücreler dâhil olmak üzere birden fazla hücre tipinin TNF- α ürettiği bilinmektedir. Tümör nekroz faktör- α 'nın üretimini tetikleyici faktörler arasında virüs, mantar, parazitik patojenler, toksinler, IL-1 ve IFN- γ gibi diğer sitokinler ve komplement sistemleri bulunur (113). Diğer bakteriyel hastalıklarda TNF- α 'nın artış gösterdiği gibi sığır mastitisinde de TNF- α artış göstermektedir. Yapılan çalışmalarda hem deneysel oluşturulmuş hem de doğal şekillenen mastitis vakalarında TNF- α düzeyinin artış gösterdiği bildirilmektedir (115, 122, 139). Sunulan bu tezde de *Escherichia coli* grubundaki TNF- α düzeyi *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gruplarına göre oldukça yüksek bulundu. Elde edilen bulgular daha önce yapılan çalışmaları (140, 141) destekler niteliktedir. Mastitis vakalarındaki bu farkın ise bakteriler tarafından uyarılan *Toll-like receptors* (TLRs) aracılığı ile indüklenen *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) ve *mitogen activated protein kinases* (MAPKs) yolaklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu yolakların aktivasyonları, yangısal cevapta önemli rol oynamaktadır. *Escherichia coli* grubunda TNF- α düzeyinin yüksek bulunması *Escherichia coli*'nin bu yolakları daha çok uyarması ve böylece TNF- α üretiminde artışa neden olmasından kaynaklandığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (142, 143).

İnterferon- γ , konağın patojenlere karşı geliştirdiği doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminde kritik rol oynamaktadır. Mastitis vakalarında da aktif görev

almaktadır. Mastitis patojeni olan *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* ile enfekte memeden salgılanan sütte IFN- γ düzeyi yüksek bulunmuştur (114, 144). Doğal şekillenen mastitis vakalarının (115) yanı sıra deneysel oluşturulan mastitis vakalarında da IFN- γ düzeyi artış göstermektedir (116, 117, 119). Sunulan tez çalışmasında da *Escherichia coli* grubunun IFN- γ düzeyi diğer gruplara kıyasla daha yüksek tespit edildi.

İnterlökin-2, CD4⁺ lenfositler tarafından üretilir ve başlangıçta T hücre büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu sitokin, B lenfositlerin büyümesini ve farklılaşmasını uyardığı, NK hücrelerini aktive ettiği ve T lenfosit aktivasyonunu indüklediği için, kazanılmış bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol almaktadır. İnterlökin-2 üretimindeki değişiklikler, memenin immün yanıt kapasitesinde bir azalmaya neden olur ve bu da mastitisin şekillenmesine neden olur (145). Süt IL-2 düzeyi, *Staphylococcus aureus*, koliform mastitis ve sağlıklı meme bezi hücrelerinde tespit edilmiştir (146, 147, 148). *Staphylococcus aureus* ile enfekte olmuş sığır meme bezinde IL-2'nin transkripsiyonel aktivitesinin enfeksiyondan 24 saat sonra azaldığı kaydedilmiştir. İnterlökin-2 transkripsiyonundaki bu önemli azalma, sığır meme bezinde bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesindeki önemini göstermektedir. Proinflamatuvar karakterde olduğu için enfeksiyonun ilerleyen süreçlerinde azalırken, antiinflamatuvar sitokin türleri de artış göstermektedir (148). Sunulan tezde *Escherichia coli* grubunda IL-2 düzeyi *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gruplarına göre düşük bulundu. Bu durum, *Escherichia coli* kaynaklı mastitis grubundaki hayvanlarda enfeksiyonların henüz başlangıç döneminde olmasından ve dolayısıyla enfeksiyonun seyrine göre antiinflamatuvar grubu sitokinlerin daha sonradan artmaya başlayacağı şeklinde yorumlanabilir. Öte

yandan IL-2'nin, Th₂ kaynaklı bir sitokin olmasından dolayı gerek in vitro gerekse de memeye infüzyon şeklinde terapötik olarak rekombinant IL-2 kullanılan çalışmalarda süt SHS'nin artışına neden olduğu gibi makrofajların fagositik aktivitesini de artırdığı belirtilmektedir (121, 149, 150). Bu durumda bazı yangı tiplerinde IL-2'nin, yangının ilerleyen dönemlerinde de artabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Fonseca ve ark. (151) tarafından yapılan çalışmada, mastitisli ve sağlıklı sütler arasında IL-4 düzeyi açısından fark gözlenmemiştir. Öte yandan Bochniarz ve ark. (124) yaptığı çalışmada IL-4 düzeyi KNS mastitisli sütlerde düşük bulmuştur. Sunulan tez çalışmasında, CMT (-) grubunda süt IL-4 düzeyi *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* grubuna göre düşük bulunurken, *Streptococcus agalactiae* grubuna göre ise istatistiki fark bulunmadı. Bu bulgulardan yola çıkarak bakteri türünün salgılanan IL-4 düzeyine farklı düzeylerde etki ettiği söylenebilir. İnterlökin-4, B hücre uyarıcı faktör ve B hücre büyüme faktörü olarak adlandırılan lenfosit oluşumunu da aktive eder. Aktive olan B lenfositler Ig üretimi yapan hücrelerdir. Böylece, Th₂ lenfositleri tarafından üretilen IL-4, hümmoral yanıtta görev almaktadır. Bu durum sunulan çalışmanın sonuçlarının yorumlanması sırasında da dikkate alınmalıdır.

İnterlökin-10, yangıyı sınırlandırmada ve enfeksiyona karşı hümmoral immün yanıtın oluşmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Ayrıca, Th₂ lenfositleri tarafından üretilmektedir. İnterlökin-10 monositler, makrofajlar, proinflatuvar sitokinler ve kemokin üretimini inhibe ederek geniş bir antiinflatuvar etki göstermektedir (152, 153). Dahası bu sitokin, Th₁ polarizasyonunun teşvik edilmesinde rol oynayan IFN- γ ve IL-12 üretimini baskılayarak Th₁/Th₂ dengesini

değiştirmede rol oynar ve dengeyi Th₂ yönünde değiştirmektedir (153, 154). İnterlökin-10 düzeyindeki artış, *Escherichia coli*, *Klepsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus* spp gibi çeşitli patojen türlerin neden olduğu mastitis vakalarında tespit edilmiştir (113). Sunulan tez verilerinden farklı olarak, Bochniarz ve ark. (124) tarafından KNS mastitisleri üzerinde yapılan bir çalışmada süt IL-10 düzeyi sağlıklı gruba göre daha düşük bulunmuştur. Sunulan tezde de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* bakterilerinin neden olduğu mastitis gruplarında süt IL-10 düzeyinde değişikliklerin olduğu tespit edildi. Ancak, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gruplarındaki süt IL-10 düzeylerinin CMT (-) grubundan istatistiki olarak farklı olmadığı belirlendi. İnterlökin-10 ve diğer antiinflamatuvar sitokinlerin, enfeksiyonun başlangıç evrelerinde düşük düzeylerde olduğu gibi sonraki evrelerde artış göstermesi yangının düzenlenmesi adına antiinflamatuvar karakterli olduğu göz önünde tutulmalıdır.

Hücreler arasında iletişimi sağlamak amacı ile farklı hücre tiplerinden salgılanan çok sayıda sitokin tanımlanmıştır. Özellikle Th₁ (IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-12, TNF- α) ve Th₂ (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25, IL-31 ve GM-CSF) sitokin grupları yangı durumlarında önemli rol oynamaktadır. Bu sitokin grupları enfeksiyonun seyrine göre artış veya azalış göstermektedir. Ancak, bu değişimler aynı gruba ait sitokinlerin hepsinde aynı anda artış veya azalış olması beklenmez. Artan veya azalan sitokinlerin çoğunluğunun olduğu gruba göre yorumlanması yapılır (103, 104). Rekombinant olarak üretilen sitokinlerin tedavi amaçlı olarak kullanıldığı ve yangı sürecine katkı sağladığı da bilinmektedir (155). Sunulan tezde de elde edilen veriler doğrultusunda bakteri türüne ve SHS düzeyine

göre sitokin gruplarından hangisinin aktif olduğu belirlendi. Th₁ veya Th₂ sitokin gruplarından hangisinde aktiflik söz konusu ise yangı süresince de o yönün desteklenip sürece katkı sağlanması gerekmektedir. Bu bağlamda, Th₁ ve Th₂ yönünde desteklenmelidir ifadesi sadece ekstra sitokin uygulamaları yapılacak anlamı taşımamaktadır, immün sistemi destekleyici uygulamaların yapılması gerektiği şeklinde yorumlanmalıdır.

Subklinik mastitisli sütlerde bakteri türüne göre Th₁ ve Th₂ lenfositlerinden üretilen sitokin gruplarının ayrı ayrı değerlendirilmesi yapılarak Th₁/Th₂ sitokin dengesinin hangi yönde değiştiğine dair herhangi bir literatür bilgisi bulunamamıştır. Geçmişte yapılan çalışmalar çoğunlukla mastitis oluşturan bakterilerin neden olduğu kısmi sitokin değişimleriyle sınırlı kalmış ve Th₁/Th₂ sitokin dengesinin polarizasyonu ile ilgili bilgiler verilmemiştir. Sunulan tezde, *Escherichia coli* grubunda TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde artışının olduğu ve buna bağlı olarak Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₁ yönüne kaydığı, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gruplarında ise TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde azalış olduğu ve buna bağlı olarak ise Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₂ yönünde olduğu görüldü. Bundan dolayı *Escherichia coli* mastitislerinde Th₁ yönü ile ilgili uygulamalar yapılarak hücresel immünitinin güçlendirilmesinin uygun olacağı kanaatine varıldı. Hücresel immünitinin güçlendirilmesi için de selenyum, bakır, çinko gibi mineraller, E vitamini, A vitamini (156, 157), D₂ (*Ergocalciferol*) ve D₃ (*Cholecalciferol*) formuna sahip D vitamini takviyeleri yapılması tavsiye edilmektedir (158). Ayrıca, beslenme programlarındaki düzenlemelerle ineğin negatif enerji dengesine girmesi engellenerek kan keton seviyesini düşük tutmak da tavsiye edilen uygulamalar arasındadır (159). Yine sunulan tezden elde edilen

veriler ışığında *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* kaynaklı mastitislerde Th₂ yönünün yani hümmoral immünitenin desteklenmesi gerektiği anlaşıldı. Bunu sağlamak için ise geçmişteki çalışmalarda immünoglobulin düzeyinde artışlara neden olan *Corynebacterium cutis* lizatı uygulamaları (160), homeopatik ilaçlar (Healwell VT-6, Dolisovet) (161, 162), çeşitli peptitler (Melittin gibi) (163) ve immünoglobulin seviyelerini yüksek tutan aşı uygulamalarının yapılması tavsiye edilmektedir (164).

Mastitise neden olan bakteri türündeki farklılık süt SHS düzeylerine değişik şekillerde etki etmektedir. Koagülaz negatif Stafilokoklar, *Corynebacterium* spp ve *Aerococcus viridans* kaynaklı mastitis olgularında da süt SHS düzeyinde farklılıklar olduğu bildirilmiştir (38, 165, 166). Yapılan bir meta analiz çalışmasında mastitis sebebi olan KNS (138.000 hücre/ml), *Staphylococcus aureus* (375.000 hücre/ml), *Streptococcus dysgalactiae* (547.000 hücre/ml), *Streptococcus agalactiae* (857.000 hücre/ml), *Corynebacterium bovis* (105.000 hücre/ml), *Streptococcus uberis* (1.024.000 hücre/ml) ve koliform (1.151.000 hücre/ml) gibi etkenlerin SHS düzeylerine farklı şekilde etki ettiği tespit edilmiştir (35). *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gibi kontagiyöz mastitis etkenlerinin çevresel kaynaklı mastitis etkenlerine göre SHS'nın daha çok artmasına neden olduğu da belirtilmektedir (15). Sunulan tezde de *Streptococcus agalactiae* SHS'nın en fazla artmasına neden olan bakteri olarak bulundu. Bunu sırasıyla *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* grubunun takip ettiği görüldü. Mastitise neden olan bakteri türlerine göre SHS'ndaki değişimlerin farklı olduğu, *Streptococcus agalactiae*'nın diğerlerine göre SHS'nı daha fazla arttırdığı bilinmektedir. Ancak, SHS'nın başka faktörlerden de etkilenebileceği göz önünde tutulmalıdır.

Farklı türdeki bakteriler tarafından hem doğal şekillenmiş hem de deneysel olarak meme içine infüzyon şeklinde uygulanarak oluşturulmuş mastitis vakalarında sütte SHS'nın arttığı ve bunun sonucunda da sitokin (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 ve IL-10) düzeylerinde değişimler olduğu ileri sürülmektedir (113, 114, 126, 127, 144). Lee ve ark. (114) tarafından yapılan çalışmada, SHS'nın artması ve azalmasına IL-8 ve IL-12'nin paralellik gösterdiği belirtilirken, aynı çalışmada SHS ile TNF- α ve IL-6 düzeyleri arasında korelasyon kurulamamıştır. Deneysel oluşturulan bir enfeksiyonun 18. saatinden sonra SHS'nın artmaya devam ettiği halde TNF- α ve IL-8 düzeylerinin azalmaya başladığı da bildirilmektedir (126). Bannerman ve ark. (117) tarafından yapılan çalışmada da SHS değişimi ile IFN- γ , IL-12 ve IL-10 düzeyleri arasında korelasyon kurulamamıştır. Hisaeda ve ark. (115) tarafından yapılan çalışmanın aksine, sunulan tezde SHS düzeyi arttıkça süt TNF- α ve IFN- γ düzeylerinin azaldığı tespit edildi. Ayrıca, sunulan tezde IL-5 düzeyinin de arttığı görüldü. Tüm bu veriler göz önüne alındığında sitokin düzeyleri ile SHS değişimi arasında net bir korelasyon kurulamayacağı da ileri sürülebilir.

Somatik hücre sayısının yüksek olduğu, yani subklinik mastitisli sütte, süt proteini, süt yağı, yağsız kuru madde, laktoz ve minerallerdeki değişikliklerle kendini göstermektedir. Bu değişikliklerden dolayı da elde edilen süt ve süt ürünlerinde kalitenin azaldığı ileri sürülmektedir (15, 83). Bazı araştırmacıların yaptığı çalışmalarda süt yağ oranının artan SHS ile birlikte düştüğü ileri sürülmektedir (83, 167). Millogo ve ark. (168) yaptığı çalışmada ise SHS'nın artması ile süt yağ oranının azaldığı belirtilirken, bazı araştırmalarda (169, 170) ve sunulan tezde de SHS değişimleri ile yağ oranı arasında bir ilişki olmadığı tespit

edilmiştir. Sunulan tezde en düşük yağsız kuru madde, protein, laktoz ve mineral madde oranı yüksek SHS'na sahip süt örneklerinde tespit edildi. Yüksek SHS ile yağsız kuru madde ve proteinin negatif korelasyon içinde olduğu geçmişte yapılan bazı araştırmalarla da (170, 171, 172) ortaya konmuştur. Özlem ve Kul (173) tarafından yapılan araştırmada, yağsız kuru madde, protein ve laktoz değerinin SHS değişimi ile fark oluşturmadığı belirtilmektedir. Öte yandan, sütte artan SHS ile laktozun azaldığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (76, 81). Ayrıca, yüksek SHS ile yağ ve proteinin negatif korelasyonda olduğu da belirtilmektedir (174). Başka bir çalışmada ise protein ve laktoz değerinin sağlıklı ve subklinik mastitis grupları arasında fark olmadığı fakat klinik mastitis şekillendiği durumda ise protein değerinin arttığı, laktoz değerinin düştüğü belirtilmektedir. Aynı çalışmada klinik mastitis dahil sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde yağ ve yağsız kuru madde değerinin değişmediği de bildirilmektedir (175). Buna göre geçmişte yapılan ve sunulan tez çalışmasının verileri dikkate alındığında SHS ile sütün kompozisyonu arasında da net bir ilişkinin kurulamayacağı söylenebilir.

Mastitis sırasındaki şekillenen değişiklikler, meme epitel hücrelerinin hasar görmesi ve damar geçirgenliğindeki değişimlerle ilişkilidir. Damar geçirgenliğindeki bu değişimlere bağlı olarak sütün yapısındaki iyonlar da değişmektedir. Sütün iyon değerinin farklılaşması sonucu sütün elektrik iletkenliğinde de değişim olmaktadır (94, 95). Sunulan tezde, en yüksek SHS'nın *Streptococcus agalactiae* grubunda olduğu tespit edildi. Dolayısıyla en yüksek elektrik iletkenliği de bu grupta gözlemlendi. Sütün elektrik iletkenliği ile SHS arasında pozitif korelasyon bulunurken, dansite ile SHS arasında negatif korelasyon tespit edildi. Çalışma bulguları, daha önce sütün elektrik iletkenliği ile SHS arasındaki

ilişkiyi belirlemek için yapılan çalışmaları da (96, 97, 172) destekler niteliktedir. Ancak, yapılan başka bir çalışmada ise subklinik mastitis durumunda dansitenin sağlıklı süt örneklerine göre değişmediği de bildirilmektedir (175). Bu durum, sütün dansite ve elektrik iletkenliğinin mastitis şekillendiği durumlarda değişebileceğinin göstegesini olarak yorumlanabilir. Ancak, sütün elektrik iletkenliği ve dansitesinin mastitis dışında başka faktörlerden de etkilenebileceği dikkate alınmalıdır.

Vasil ve ark. (99) tarafından yapılan çalışmada, bakteri farklılığının sütün dansitesi üzerine etkisi araştırılmış, KNS kaynaklı mastitisli sütlerle sağlıklı süt arasında fark bulunamamıştır. Yapılan başka çalışmada ise *Streptococcus uberis* kaynaklı mastitiste sağlıklı süte göre dansite değişimi belirlenememiştir (176). Sunulan tez çalışmasında da *Streptococcus agalactiae* ve *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu mastitisli sütler ile sağlıklı süt arasında dansite değerinde fark bulunmazken, *Escherichia coli* grubunda ise dansite değerinde azalma tespit edildi. Küplülü ve ark. (177) *Staphylococcus aureus* ile enfekte sütlerde elektrik iletkenliğini en yüksek değerde ($7,53 \pm 0,22$ mS/cm) bulurken, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus dysgalactiae* tespit edilen olgularda elektrik iletkenlikleri sırasıyla $4,86 \pm 0,08$ mS/cm, $5,24 \pm 0,06$ mS/cm ve $5,54 \pm 0,11$ mS/cm olarak bulunmuştur. Sunulan tezde de sütün elektrik iletkenliğinin en fazla *Streptococcus agalactiae* grubunda olduğu gözlemlendi. Yine *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* gruplarının elektrik iletkenliği sağlıklı sütlere göre daha yüksek bulundu. Ancak, bu iki grup arasında fark tespit edilemedi. Bu durumun daha önce yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olduğu gözlemlendi.

Süt kompozisyonu laktasyon sayısı, laktasyon dönemi, ırk, yaş, mevsim, bakım ve beslemedeki farklılıklarla değişebildiği gibi mastitise neden olan bakteri

türüne göre de değişiklik göstermektedir. *Staphylococcus xylosus* ve *Staphylococcus warneri* kaynaklı mastitislerde süt kompozisyonu üzerine olan değişikliklerin tespiti için yapılan çalışmada protein ve kuru maddenin azaldığı belirtilirken, laktoz ve yağ oranında değişimin olmadığı ileri sürülmektedir (99). Koagülaz negatif Stafilokokların neden olduğu mastitisli sütte yapılan başka bir çalışmada da laktoz oranı düşük, protein oranı yüksek olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* kaynaklı mastitislerde de protein yüksek, laktoz düşük oranda tespit edilmiştir (98). Malek dos Reis ve ark. (86) tarafından yapılan çalışmada ise *Staphylococcus aureus*'nun neden olduğu mastitisli sütlerde yağsız kuru madde ve protein oranının azaldığı, laktoz oranının etkilenmediği, KNS'lar ve *Streptococcus* spp kaynaklı sütlerde ise yağ ve yağsız kuru madde oranında azalma olurken, laktoz ve protein oranında değişim olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada *Corynebacterium* spp mastitislerinde protein oranında artış, laktoz ve yağ oranında azalma görülürken, yağsız kuru madde oranında değişiklik olmadığı belirtilmektedir. *Streptococcus uberis* kaynaklı mastitislerde ise yağ ve protein oranında artış olurken, laktoz oranının sağlıklı olanlara göre farklı olmadığı bildirilmektedir (176). Büyük oranda *Staphylococcus chromogenes*'in izole edildiği KNS ile enfekte sütlerde yapılan bir çalışmada bu etkenlerin SHS'nın artmasına neden olduğu halde, süt bileşenlerine etki etmediği de belirtilmektedir (178). Sunulan tezde de *Escherichia coli*'nin neden olduğu mastitisli sütte yağ oranı artarken, yağsız kuru madde, protein ve laktoz oranlarında azalma tespit edildi. *Staphylococcus aureus* grubunda ise süt bileşenlerinde sağlıklı süte göre değişiklik gözlenmezken, *Streptococcus agalactiae*'da da sadece yağ oranında artış görüldü. Bu konu ile ilgili geçmişte yapılan ve sunulan tezin verileri

de dikkate alındığında mastitisli sütlerde bakteri türüne göre sütün kompozisyonunda standardize edilebilecek değişimlerin olmadığı ileri sürülebilir.

Bu tezden elde edilen veriler ışığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır;

- Süt sığırı işletmelerinin en önemli problemlerinden biri olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* kaynaklı mastitisli sütlerde bakteri türüne göre bazı sitokinlerin düzeyinde değişimlerin olduğu tespit edildi. Yine *Escherichia coli* kaynaklı mastitis durumunda süt Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₁ sitokinleri yönüne kaydığı görüldü. *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gibi Gram pozitif kaynaklı bir mastitis söz konusu ise Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin Th₂ yönünde olduğu belirlendi. Mastitisi tedavi etmekten ziyade koruyucu önlemlerin ön planda tutulduğu da bilinen bir gerçektir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *Escherichia coli* kaynaklı mastitisten korumak için immün sistemin Th₁ yönünde desteklenmesi gerektiği, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae*'nin neden olduğu mastitislerden korumak için de Th₂ yönünde desteklenmesi gerektiği kanaatine varıldı. Yani, *Escherichia coli*'ye bağlı mastitis vakalarında hücresel immünitenin güçlü tutulması gerekirken, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* etkenleri söz konusu olduğunda ise hümoral immünite ön planda tutulup desteklenmesi gerektiği gözlendi. Buna bağlı olarak yukarıda bahsedilen immün tedbirlerin alınması durumunda süt işletmeleri için çok büyük ekonomik kayıplara neden olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* kaynaklı mastitislerden korunma noktasında büyük avantajların elde edileceği kanaatine varıldı.

- Mastitis sütün kompozisyonunda, elektrik iletkenliğinde ve dansitesinde değişikliklere neden olurken, bu değişikliğin sütün SHS'na göre değişebileceği görüldü. Ancak, bakteri türüne göre bu parametrelerdeki değişikliklerin standardize edilemeyeceği kanaatine varıldı.

- Mastitise neden olan bakteri türüne göre SHS'nın değişebileceği, bu durumun özellikle *Streptococcus agalactiae* enfeksiyonlarında daha bariz olduğu tespit edildi. *Streptococcus agalactiae* mastitislerinde SHS'nın diğer tür bakterilere nazaran daha fazla artmasına sebep olduğu bir kez daha teyit edildi.

- Sütteki SHS ile sitokin düzeyleri arasında bir ilişkinin olduğu özellikle SHS'nın düşük olduğu durumlarda TNF- α ve IFN- γ düzeylerinin yüksek, süt Th₁/Th₂ polarizasyon dengesinin ise Th₁ yönünde olduğu ve bu tür durumlarda da immün sistemin Th₁ yönünde desteklenmesi ve bunun içinde hücresel immün sistemi destekleyecek uygulamaların yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

Bu çalışmanın sonuçları gelecekte ortaya çıkabilecek mastitis olgularının teşhis, tedavi, koruma ve kontrol noktasında fayda sağlayabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte mastitis etkenlerinin immün sistem üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması, gelecekte yapılabilecek çalışmalar için veri sunması açısından da önemlilik arz etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci* 1994; 77(7): 2103-2112.
2. Blowey R, Edmondson P. *Mastitis Control in Dairy Herds*. 2nd Edition, CAB International 2010.
3. Malik TA, Mohini M, Mir SH, et al. Somatic cells in relation to udder health and milk quality-a review. *J Anim Heal Prod* 2018; 6(1): 18-26.
4. Hogeveen H, Østerås O. Mastitis management in an economic framework. In: Hogeveen H, (Editors). *Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions*. Wageningen Academic Publishers 2005: 41-52.
5. Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O’Kennedy R. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol* 2009; 27(8): 486-493.
6. Awale M, Dudhatra G, Kumar A, et al. Bovine mastitis: a threat to economy. *J Vet Sci Technol* 2012; 1(11): 1-10.
7. Olechnowicz J, Jaśkowski JM. A connection between mastitis during early lactation and reproductive performance of dairy cows: a review. *Ann Anim Sci* 2013; 13(3): 435-448.
8. Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet Q* 2007; 29(1): 18-31.
9. Baştan A. *İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları*. 2nd Edition, Ankara, 2013.
10. Vural R, Ergün Y, Özenç E. Büyük ruminantlarda mastitis. In: Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. (Editörler). *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları*. Medipress 2016: 149-259.
11. Zhao X, Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J Anim Sci* 2008; 86(1): 57–65.
12. Ashraf A, Imran M. Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm. *Trop Anim Health Prod* 2018; 50: 1193–1202.
13. Fox LK. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Vet Microbiol* 2009; 134(1-2): 82-88.
14. Harmon R. *Somatic Cell Counts: A Primer*. National Mastitis Council, 2001.
15. Deshapriya RMC, Rahularaj R, Ransinghe RMSBK. Mastitis, somatic cell count and milk quality: an overview. *Sri Lanka Vet J* 2019; 66(6): 1-12.
16. Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-Australasian J Anim Sci* 2011; 24(3): 429-438.
17. Olechnowicz J, Jaśkowski JM. Somatic cells count in cow’s bulk tank milk. *J Vet Med Sci* 2012; 74(6): 681-686.
18. Deb R, Kumar A, Chakraborty S, et al. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pakistan J Biol Sci* 2013; 16(23): 1653-1661.

19. Adkins PRF, Middleton JR. Methods for diagnosing mastitis. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract* 2018; 34(3): 479-491.
20. Özenç E, Ergün Y, Cantekin Z, Vural. R. Sütçü sürülerde mastitislerin tanısında kullanılan güncel yöntemler. In: Uçar M. (Editör). *Veteriner Jinekolojide Kullanılan Klinik Tanı Yöntemlerine Güncel Yaklaşımlar Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Doğum ve Jinekoloji - Özel Konular* 2018: 114-118.
21. Katholm J, Bennedsgaard TW, Koskinen MT, Rattenborg E. Quality of bulk tank milk samples from Danish dairy herds based on real-time polymerase chain reaction identification of mastitis pathogens. *J Dairy Sci* 2012; 95(12): 5702–5708.
22. Parker AM, Sheehy PA, Hazelton MS, Bosward KL, House JK. A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *J Vet Intern Med* 2018; 32(3): 1241-1252.
23. Koskinen MT, Wellenberg GJ, Sampimon OC, et al. Field comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. *J Dairy Sci* 2010; 93(12): 5707–5715.
24. Taponen S, Salmikivi L, Simojoki H, Koskinen MT, Pyörälä S. Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine clinical mastitis with no growth in conventional culturing. *J Dairy Sci* 2009; 92(6): 2610-2617.
25. Barreiro JR, Gonçalves JL, Grenfell R, et al. Direct identification of bovine mastitis pathogens by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in pre-incubated milk. *Brazilian J Microbiol* 2018; 49(4): 801-807.
26. Barcelos MM, Martins L, Grenfell RC, et al. Comparison of standard and on-plate extraction protocols for identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF MS. *Brazilian J Microbiol* 2019; 50(3): 849-857.
27. Petzer IM, Etter EMC, Donkin EF, Webb EC, Karzis J. Epidemiological and partial budget analysis for treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* intramammary infections considering microbiological and cytological scenarios. *Prev Vet Med* 2017; 148: 66-77.
28. Alpaz G, Yeşilbağ K. Mastitis olgularında virüslerin rolü. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009; 28(1): 39-46.
29. Celik B, Kale M. Serodetection bovine Herpesvirus types 1, 4 and bovine Parainfluenza virus type 3 infections in milk of cows with clinical mastitis based in dairy cattle management in Turkey. *Annu Res Rev Biol* 2020; 35(1): 30-38.
30. Şafak T, Rişvanlı A. Meme sağlığı üzerine virüslerin etkileri. In: Nur İH. (Editör). *Veteriner Hekimlikte Güncel Yaklaşımlar. Akademisyen Yayınevi* 2020: 55-70.
31. Kalińska A, Wójcik A, Slósarz J, et al. Occurrence and aetiology of staphylococcal mastitis: a review. *Anim Sci Pap Reports* 2018; 36(3): 263-273.
32. Petersson-Wolfe C, Tholen A, Currin J, Leslie K. Practical methods for mastitis control. *Adv Dairy Technol* 2013; 25: 341-358.
33. Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract* 2012; 28(2): 203-216.

34. Page Dinsmore R. Biosecurity for mammary diseases in dairy cattle. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract* 2002; 18(1): 115-131.
35. Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res* 2002; 33(4): 335-357.
36. Klimiene I, Ružauskas M, Špakauskas V, et al. Antimicrobial resistance patterns to beta-lactams of gram-positive cocci isolated from bovine mastitis in Lithuania. *Pol J Vet Sci* 2011; 14(3): 467-472.
37. Klimiene I, Virgailis M, Pavilonis A, et al. Phenotypical and Genotypical Antimicrobial Resistance of Coagulase-negative staphylococci Isolated from Cow Mastitis. *Pol J Vet Sci* 2016; 19(3): 639-646.
38. Supré K, Haesebrouck F, Zadoks RN, et al. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *J Dairy Sci* 2011; 94(5): 2329-2340.
39. Hamel J, Zhang Y, Wente N, Krömker V. Non-*Staphylococcus aureus* staphylococci (NAS) in milk samples: infection or contamination? *Vet Microbiol* 2020; 242: 1-8.
40. Condas LAZ, De Buck J, Nobrega DB, et al. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *J Dairy Sci* 2017; 100(7): 5613-5627.
41. Traversari J, Van Den Borne BHP, Dolder C, et al. Non-aureus staphylococci species in the teat canal and milk in four commercial swiss dairy herds. *Front Vet Sci* 2019; 6: 1-8.
42. Akan M. *Staphylococcus* infeksiyonları. In: Aydın N, Paracıkoğlu J. (Editörler). *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. İlke Emek Matbaacılık ve Yayıncılık 2006: 5-13.
43. Smeltzer M, Beenken K. *Staphylococcus*. In: McVey D, Kennedy M, Chengappa M. (Editors). *Veterinary Microbiology*. 3rd Edition, Wiley-Blackwell 2013: 184-193.
44. Barkema HW, Green MJ, Bradley AJ, Zadoks RN. Invited review: the role of contagious disease in udder health. *J Dairy Sci* 2009; 92(10): 4717-4729.
45. Gurjar A, Gioia G, Schukken Y, et al. Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract* 2012; 28(3): 565-576.
46. Svennesen L, Nielsen SS, Mahmmod YS, et al. Association between teat skin colonization and intramammary infection with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in herds with automatic milking systems. *J Dairy Sci* 2019; 102(1): 629-639.
47. Monistero V, Graber HU, Pollera C, et al. *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in eight countries: genotypes, detection of genes encoding different toxins and other virulence genes. *Toxins* 2018; 10(6): 1-22.
48. Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. Invited review: the role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 2006; 89(6): 1877-1895.
49. Pal M, Kerorsa GB, Marami LM, Kandi V. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review. *Am J Public Heal Res* 2020; 8(1): 14-21.

50. Spohr M, Rau J, Friedrich A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in three dairy herds in southwest Germany. *Zoonoses Public Health* 2011; 58(4): 252-261.
51. Krukowski H, Bakula Z, Iskra M, et al. The first outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cattle in Poland with evidence of on-farm and intrahousehold transmission. *J Dairy Sci* 2020; 103(11): 10577-10584.
52. Vanderhaeghen W, Cerpentier T, Adriaensen C, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. *Vet Microbiol* 2010; 144(1-2): 166-171.
53. Yang F, Zhang S, Shang X, et al. Short communication: detection and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis cases in China. *J Dairy Sci* 2020; 103(1): 840-845.
54. Song JW, Yang SJ, Shin S, et al. Genotypic and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk in Korea. *J Food Prot* 2016; 79(10): 1725-1732.
55. Klibi A, Jouini A, Gómez P, et al. Molecular characterization and clonal diversity of methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates of milk of cows with clinical mastitis in Tunisia. *Microb Drug Resist* 2018; 24(8): 1210-1216.
56. Türkyilmaz S, Tekbiyik S, Oryasin E, Bozdogan B. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoonoses Public Health* 2010; 57(3): 197-203.
57. Benić M, Habrun B, Kompes G. Clinical and epidemiological aspects of cow mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and its Methicillin-Resistant strains. *Rad Hrvat Akad Znan i Umjet Med Znan* 2012; 511(37): 113-121.
58. de Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wit B, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol* 2009; 134(1-2): 52-56.
59. Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Franconieri I, La Salandra G. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. *Food Microbiol* 2017; 62: 141-146.
60. Akan M. *Streptococcus* infeksiyonları. In: Aydın N, Paracıkoğlu J. (Editörler). *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. İlke Emek Matbaacılık ve Yayıncılık 2006: 15-29.
61. Hogan J, Larry Smith K. Coliform mastitis. *Vet Res* 2003; 34(5): 507-519.
62. Moxley R. *Enterobacteriaceae: Escherichia*. In: Scott McVey D, Kennedy M, Chengappa M. (Editors). *Veterinary Microbiology*. 3rd Edition, Wiley-Blackwell Publication 2013: 62-74.
63. Omerovic M, Müştak HK, Kaya İB. *Escherichia coli* patotiplerinin virülens faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2017; 28(1): 1-6.
64. Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. Severity of *Escherichia coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet Res* 2003; 34(5): 521-564.

65. Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011; 16(4): 357-372.
66. Dogan B, Klaessig S, Rishniw M, et al. Adherent and invasive *Escherichia coli* are associated with persistent bovine mastitis. *Vet Microbiol* 2006; 116(4): 270-282.
67. Petzl W, Zerbe H, Günther J, et al. *Escherichia coli*, but not *Staphylococcus aureus* triggers an early increased expression of factors contributing to the innate immune defense in the udder of the cow. *Vet Res* 2008; 39(2): 1-23.
68. Shpigel NY, Elazar S, Rosenshine I. Mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Curr Opin Microbiol* 2008; 11(1): 60-65.
69. Ezzat Alnakip M, Quintela-Baluja M, Böhme K, et al. The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *J Vet Med* 2014; 2014: 1-31.
70. Bradley AJ, Green MJ. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J Dairy Sci* 2000; 83(9): 1957-1965.
71. White LJ, Schukken YH, Dogan B, et al. Modelling the dynamics of intramammary *Escherichia coli* infections in dairy cows: understanding mechanisms that distinguish transient from persistent infections. *Vet Res* 2010; 41(2): 1-15.
72. Ivanov GY, Bilgucu E, Balabanova TB, Ivanova IV, Uzatici A. Effect of animal breed, season and milk production scale on somatic cell count and composition of cow milk. *Bulg J Agric Sci* 2017; 23(6): 1047-1052.
73. Pyz-Lukasik R, Paszkiewicz W, Tatara MR, Brodzki P, Belkot Z. Microbiological quality of milk sold directly from producers to consumers. *J Dairy Sci* 2015; 98(7): 4294-4301.
74. Mundan D, Meral B, Demir A, Doğaner M. Süt sığırları işletmelerinde sütteki toplam bakteri ve somatik hücre sayısının ekonomik açıdan değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015; 4(2): 84-89.
75. Li N, Richoux R, Boutinaud M, Martin P, Gagnaire V. Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci Technol* 2014; 94(6): 517-538.
76. Sobczuk-Szul M, Wielgosz-Groth Z, Nogalski Z, et al. Changes in the fatty acid profile of cow's milk with different somatic cell counts during lactation. *Vet ir Zootech* 2015; 69(91): 52-57.
77. Sharif A, Ahmad T, Bilal MQ, Yousaf A, Muhammed G. Effect of severity of subclinical mastitis on somatic cell count and lactose contents of buffalo milk. *Pak Vet J* 2007; 27(3): 142-144.
78. Özek K. Süt sığırlarında süt kompozisyonunu etkileyen faktörler ve besleme - süt kompozisyonu ilişkisi. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi* 2015; 4(2): 37-45.
79. Pavel ER, Gavan C. Seasonal and milking-to-milking variations in cow milk fat, protein and somatic cell counts. *Not Sci Biol* 2011; 3(2): 20-23.

80. Lindmark-Mansson H, Br nning C, Ald n G, Paulsson M. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. *Int Dairy J* 2006; 16(7): 717-727.
81. Garcia RR, Maion VB, de Almeida KM, et al. Relationship between somatic cell counts and milk production and composition in Jersey cows. *Rev Salud Anim* 2015; 37(3): 137-142.
82. Bruckmaier RM, Ontsouka CE, Blum JW. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Vet Med* 2004; 49(8): 283-290.
83. Kul E,  ahin A, Atasever S, U urlutepe E, Soydaner M. The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. *Vet Arh* 2019; 89(2): 143-154.
84. Le Roux Y, Laurent F, Moussaoui F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Vet Res* 2003; 34: 629-645.
85. Eydur n E,  zdemir T, Yazgan K, Keskin S. Siyah alaca inek s t ndeki somatik hücre sayısına laktasyon sırası ve dönemin etkisi. *Y z nc  Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005; 16(1): 61-65.
86. Malek dos Reis CB, Barreiro JR, Mestieri L, Porcionato MF, dos Santos MV. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Vet Res* 2013; 9(67): 1-7.
87. Uzmay C, Kaya I, Akba  Y, Kaya A. Siyah alaca ineklerde meme ve meme ba ı formu ile laktasyon sırası ve laktasyon döneminin subklinik mastitis üzerine etkisi. *Turkish J Vet Anim Sci* 2003; 27(3): 695-701.
88. Bademkiran S, Ye ilmen S, G r bulak K. Sütü ineklerde günlük sa ım sayısının klinik mastitis ve süt verimi üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005; 16(2): 17-21.
89.  oban  , Tüzemen N. Siyah alaca ve Esmer ineklerde subklinik mastitis için risk faktörleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2007; 26: 27-31.
90. Tosun S, Baki Acar D. The comparison of milking hygiene with bulk tank somatic cell count and total bacterial count in dairy herds in Tekirdag province. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 2019; 12(3): 292-299.
91. Yal ın C,  ener A, Sar  zkan S, G nl  A. Producer profiles, production characteristics and mastitis control applications at dairy herds in Konya, Burdur and Kırklareli provinces, Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2010; 57: 43-48.
92. Koseman A, Risvanlı A, Kaygusuzoglu E, ve ark. Determining demographic characteristics of breeders and their knowledge of reproduction, herd health and hygiene issues in dairy farms in Malatya. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 2016; 32(2): 101-108.
93. Kitchen BJ. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *J Dairy Res* 1981; 48(1): 167-188.
94. Alhussien MN, Dang AK. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: an overview. *Vet World* 2018; 11(5): 562-577.

95. Norberg E, Hogeveen H, Korsgaard IR, et al. Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status. *J Dairy Sci* 2004; 78(4): 1099–1107.
96. Kaşıkçı G, Çetin Ö, Bingöl EB, Gündüz MC. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turkish J Vet Anim Sci* 2012; 36(1): 49-55.
97. Boas DFV, Filho AEV, Pereira MA, Junior LCR, Faro L El. Association between electrical conductivity and milk production traits in dairy Gyr cows. *J Appl Anim Res* 2017; 45(1): 227-233.
98. Coulon JB, Gasqui P, Barnouin J, et al. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Anim Res* 2002; 51(5): 383-393.
99. Vasil M, Pecka-Kiełb E, Elečko J, et al. Effects of udder infections with *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus warneri* on the composition and physicochemical changes in cows milk. *Pol J Vet Sci* 2016; 19(4): 841-848.
100. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* 2009; 87(13): 3-9.
101. Kaçar C, Kırşan İ. Memenin savunma sistemi. In: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A. (Editörler). *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları*. Medipres 2016: 41-58.
102. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 5th Edition, Elsevier, 2015.
103. Sordillo LM. Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract* 2018; 34(3): 507-523.
104. Dembic Z. *The Cytokines of the Immune System the Role of Cytokines in Disease Related to Immune Response*. Mica Haley, 2015.
105. Diker K. *İmmünoloji*. 2nd Edition, Medisan, 2005.
106. Owen J, Punt J, Stranford SA, Jones P. Receptors and Signaling: Cytokines and Chemokines. In: Owen J, Punt J, Stranford SA. (Editors). *Kuby Immunology*. 7th Edition, H. Freeman and Company 2012: 105-140.
107. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy, Asthma Immunol* 2000; 85: 9-18.
108. Yang L, Wang P, Mi H, et al. Comparison of Th1 and Th2 cytokines production in ovine lymph nodes during early pregnancy. *Theriogenology* 2019; 123(1): 177-184.
109. Sengül A. Cellular immune response. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları - Özel Konular* 2008; 1(1): 19-22.
110. Zhang H, Wu LM, Wu J. Cross-talk between apolipoprotein e and cytokines. *Mediators Inflamm* 2011; 2011(1): 1-10.
111. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112(5): 1557-1569.
112. De Weerd NA, Nguyen T. The interferons and their receptors-distribution and regulation. *Immunol Cell Biol* 2012; 90(5): 483-491.

113. Bannerman DD. Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy cows. *J Anim Sci* 2009; 87(13): 10-25.
114. Lee JW, Bannerman DD, Paape MJ, Huang MK, Zhao X. Characterization of cytokine expression in milk somatic cells during intramammary infections with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* by real-time PCR. *Vet Res* 2006; 37(2): 19-229.
115. Hisaeda K, Hagiwara K, Eguchi J, et al. Interferon- γ and Tumor Necrosis Factor- α levels in sera and whey of cattle with naturally occurring coliform mastitis. *J Vet Med Sci* 2001; 63(9): 1009-1011.
116. Bannerman DD, Paape MJ, Lee JW, et al. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11(3): 463-472.
117. Bannerman DD, Paape MJ, Goff JP, et al. Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet Res* 2004; 35(6): 681-700.
118. Kauf ACW, Rosenbusch RF, Paape MJ, Bannerman DD. Innate immune response to intramammary *Mycoplasma bovis* infection. *J Dairy Sci* 2007; 90(7): 3336-3348.
119. Bannerman DD, Paape MJ, Hare WR, Hope JC. Characterization of the bovine innate immune response to intramammary infection with *Klebsiella pneumoniae*. *J Dairy Sci* 2004; 87(8): 2420-2432.
120. Zecconi A, Piccinini R, Fiorina S, et al. Evaluation of interleukin-2 treatment for prevention of intramammary infections in cows after calving. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2009; 32(5): 439-451.
121. Wedlock DN, Doolin EE, Parlane NA, et al. Effects of yeast expressed recombinant interleukin-2 and interferon- γ on physiological changes in bovine mammary glands and on bactericidal activity of neutrophils. *J Dairy Res* 2000; 67(2): 189-197.
122. Ślebodziński AB, Malinowski E, Lipczak W. Concentrations of triiodothyronine (T3), tumour necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in milk from healthy and naturally infected quarters of cows. *Res Vet Sci* 2002; 72(1): 17-21.
123. Ohtsuka H, Kudo K, Mori K, et al. Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis. *J Vet Med Sci* 2001; 63(6): 675-678.
124. Bochniarz M, Zdzisińska B, Wawron W, Szczubiał M, Dąbrowski R. Milk and serum IL-4, IL-6, IL-10, and amyloid A concentrations in cows with subclinical mastitis caused by coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci* 2017; 100(12): 9674-9680.
125. Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of Th1 and Th2 responses. *Immunol Today* 1991; 12(3): 49-53.
126. Riollot C, Rainard P, Poutrel B. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7(2): 161-167.

127. Rambeaud M, Almeida RA, Pighetti GM, Oliver SP. Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 96(3): 193-205.
128. Cohen J. The analysis of variance and covariance. In: Cohen J. (Editor). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2nd Edition, Lawrence Erlbaum Associates 1988: 273-406.
129. Ruegg P, Reinemann D. Milk quality and mastitis tests. *Bovine practitioner* 2002: 1-33.
130. Tolosa T, Verbeke J, Piepers S, Supré K, De Vlieghe S. Risk factors associated with subclinical mastitis as detected by California Mastitis Test in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia using multilevel modelling. *Prev Vet Med* 2013; 112(1-2): 68–75.
131. Hogan JS, Gonzáles RN, Harmon RJ, et al. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. National Mastitis Council, 1999.
132. Lipkens Z, Piepers S, De Visscher A, De Vlieghe S. Evaluation of test-day milk somatic cell count information to predict intramammary infection with major pathogens in dairy cattle at drying off. *J Dairy Sci* 2019; 102(5): 4309-4321.
133. Jaeger S, Virchow F, Torgerson PR, et al. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. *J Dairy Sci* 2017; 100(9): 7419–7426.
134. Alam S, Zaman MA, Roy S, et al. Evaluation of physio-chemical properties of locally produced raw milk in sylhet city corporation area, Bangladesh. *Asian Food Sci J* 2018; 3(2): 1-6.
135. Can Sahna K, Risvanli A. Th1/Th2 cytokine balance and SOCS3 levels of female offspring born from rats with gestational diabetes mellitus. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2015; 21(6): 837-840.
136. Akgül A. *Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri*. 3rd Edition, Emek Ofset Ltd Şti, 2005.
137. Kayri M. Araştırmalarda gruplar arası farkın belirlenmesine yönelik çoklu karşılaştırma. *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi* 2009; 19(1): 51-64.
138. Singh IS, He JR, Hester L, Fenton MJ, Hasday JD. Bacterial endotoxin modifies heat shock factor-1 activity in RAW 264.7 cells: implications for TNF- α regulation during exposure to febrile range temperatures. *J Endotoxin Res* 2004; 10(3): 175-184.
139. Bannerman DD, Chockalingam A, Paape MJ, Hope JC. The bovine innate immune response during experimentally-induced *Pseudomonas aeruginosa* mastitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 107(3): 201-215.
140. Günther J, Esch K, Poschadel N, et al. Comparative kinetics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* specific activation of key immune pathways in mammary epithelial cells demonstrates that *Staphylococcus aureus* elicits a delayed response dominated by interleukin-6 (IL-6) but not by IL-1A. *Infect Immun* 2011; 79(2): 695-707.

141. Fu Y, Zhou E, Liu Z, et al. Staphylococcus aureus and Escherichia coli elicit different innate immune responses from bovine mammary epithelial cells. *Vet Immunol Immunopathol* 2013; 155(4): 245-252.
142. Liu M, Fang G, Yin S, et al. Caffeic acid prevented LPS-induced injury of primary bovine mammary epithelial cells through inhibiting NF- κ B and MAPK activation. *Mediators Inflamm* 2019; 2019: 1-12.
143. Sanjeeva KKA, Jayawardena TU, Kim SY, et al. Sargassum horneri (Turner) inhibit urban particulate matter-induced inflammation in MH-S lung macrophages via blocking TLRs mediated NF- κ B and MAPK activation. *J Ethnopharmacol* 2020; 149: 1-10.
144. Riollet C, Rainard P, Poutrel B. Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk in response to chronic Staphylococcus aureus infection. *J Dairy Sci* 2001; 84(5): 1077-1084.
145. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J Infect* 2007; 54(4): 399-409.
146. Alluwaimi AM. Detection of IL-2 and IFN- γ mRNA expression in bovine milk cells at the late stage of the lactation period with RT-PCR. *Res Vet Sci* 2000; 69(2): 185-187.
147. Alluwaimi AM, Cullor JS. Cytokines gene expression patterns of bovine milk during middle and late stages of lactation. *J Vet Med Ser B* 2002; 49(2): 105-110.
148. Alluwaimi AM, Leutenegger CM, Farver TB, et al. The cytokine markers in Staphylococcus aureus mastitis of bovine mammary gland. *J Vet Med Ser B* 2003; 50(3): 105-111.
149. Sordillo LM, Campos M, Babiuk LA. Antibacterial activity of bovine mammary gland lymphocytes following treatment with interleukin-2. *J Dairy Sci* 1991; 74(10): 3370-3375.
150. Alluwaimi AM. The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy. *Res Vet Sci* 2004; 77(3): 211-222.
151. Fonseca I, Silva PV, Lange CC, et al. Expression profile of genes associated with mastitis in dairy cattle. *Genet Mol Biol* 2009; 32(4): 776-781.
152. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy: review of a new approach. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 241-269.
153. Moore KW, De Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683-765.
154. Mocellin S, Marincola F, Rossi CR, Nitti D, Lise M. The multifaceted relationship between IL-10 and adaptive immunity: putting together the pieces of a puzzle. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 61-76.
155. Canning P, Hassfurth R, TerHune T, et al. Efficacy and clinical safety of pegbovigrastim for preventing naturally occurring clinical mastitis in periparturient primiparous and multiparous cows on US commercial dairies. *J Dairy Sci* 2017; 100(8): 6504-6515.
156. Hogan JS, Smith KL, Weiss WP, Todhunter DA, Schockley WL. Relationships among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. *J Dairy Sci* 1990; 73(9): 2372-2378.

157. Heinrichs AJ, Costello SS, Jones CM. Control of heifer mastitis by nutrition. *Vet Microbiol* 2009; 134(1): 172-176.
158. Poindexter MB, Kweh MF, Zimpel R, et al. Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D3 increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2020; 103(1): 805-822.
159. Waller KP. Mammary gland immunology around parturition. *Adv Exp Med Biol* 2000; 480: 231-245.
160. Saat N, Yuksel M, Toroman Z, Risvanlı A. The efficiency of *Corynebacterium cutis* lysate in cows with subclinical mastitis. *Res Opin Anim Vet Sci* 2016; 6(3): 108-110.
161. Varshney JP, Naresh R. Comparative efficacy of homeopathic and allopathic systems of medicine in the management of clinical mastitis of Indian dairy cows. *Homeopathy* 2005; 94(2): 81-85.
162. Aubry E, Issautier MN, Champomier D, Terzan L. Early udder inflammation in dairy cows treated by a homeopathic medicine (Dolisovet®): a prospective observational pilot study. *Homeopathy* 2013; 102(2): 139-144.
163. Jeong CH, Cheng WN, Bae H, et al. Bee venom decreases LPS-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells. *J Microbiol Biotechnol* 2017; 27(10): 1827-1836.
164. Middleton JR, Luby CD, Adams DS. Efficacy of vaccination against staphylococcal mastitis: a review and new data. *Vet Microbiol* 2009; 134(1): 192-198.
165. Gonçalves JL, Tomazi T, Barreiro JR, et al. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *Vet J* 2016; 209: 87-92.
166. Sun M, Gao J, Ali T, et al. Characteristics of *Aerococcus viridans* isolated from bovine subclinical mastitis and its effect on milk SCC, yield, and composition. *Trop Anim Health Prod* 2017; 49(4): 843-849.
167. Najafi MN, Mortazavi SA, Koocheki A, Khorami J, Rekik B. Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorasan Razavi Province, Iran. *Int J Dairy Technol* 2009; 62(1): 19-26.
168. Millogo V, Ouédraogo GA, Agenäs S, Svennersten-Sjaunja K. Day-to-day variation in yield, composition and somatic cell count of saleable milk in hand-milked zebu dairy cattle. *African J Agric Res* 2009; 4(3): 151-155.
169. Moslehishad M, Ezzatpanah H, Aminafshar M. Chemical and electrophoretic properties of Holstein cow milk as affected by somatic cell count. *Int J Dairy Technol* 2010; 63(4): 512-515.
170. Cinar M, Serbester U, Ceyhan A, Gorgulu M. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. *Ital J Anim Sci* 2015; 14(1): 105-108.

171. Jaeggi JJ, Govindasamy-Lucey S, Berger YM, et al. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *J Dairy Sci* 2003; 86(10): 3082-3089.
172. Sekmen G, Şafak T, Yılmaz Ö, ve ark. İneklerde meme başı kanalının ultrasonografik ölçümlerinin mastitis ile ilişkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2020; 17(2): 131-137.
173. Özlem O, Kul E. İnek tank sütünde somatik hücre sayısı ve sütün kimyasal bileşimi üzerine bazı çevresel faktörlerin etkileri. *Akademik Ziraat Dergisi* 2020; 9(1): 163-170.
174. Sert D, Mercan E, Aydemir S, Civelek M. Effects of milk somatic cell counts on some physicochemical and functional characteristics of skim and whole milk powders. *J Dairy Sci* 2016; 99(7): 5254-5264.
175. Panda BSK, Mohapatra SK, Alhussien MN, Dang AK. Amount of milk neutrophil percentage and associated CD molecular changes on the compositional and technological properties of milk. *Open Biotechnol J* 2019; 13(1): 129-136.
176. Pecka-Kiełb E, Vasil M, Zachwieja A, et al. An effect of mammary gland infection caused by *Streptococcus uberis* on composition and physicochemical changes of cows' milk. *Pol J Vet Sci* 2016; 19(1): 49-55.
177. Küplülü Ş, Vural R, Izgür H, et al. The use of milk cheeker in detecting subclinical mastitis. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1995; 42(3): 281-284.
178. Tomazi T, Gonçalves JL, Barreiro JR, Arcari MA, dos Santos MV. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. *J Dairy Sci* 2015; 98(5): 3071-3078.

8. ÖZGEÇMİŞ

Akademik Faaliyetler

A. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Risvanli A, Dogan H, **Safak T**, Kilic MA, Seker I. (2019). The relationship between mastitis and the B-mode, colour Doppler ultrasonography measurements of supramammary lymph nodes in cows. J Dairy Res. 86(3): 315-318.

2. **Safak T**, Yilmaz O, Ercan K, Yuksel BF, Ocal H. (2021). A case of vaginal hyperplasia occurred the last trimester of pregnancy in a Kangal bitch. Ankara Univ Vet Fak Derg. DOI: 10.33988/auvfd.764656.

B. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Sekmen G, **Şafak T**, Yılmaz Ö, Yüksel BF, Rişvanlı A, Şeker İ. (2020). İneklerde meme başı kanalının ultrasonografik ölçümlerinin mastitis ile ilişkisi. Erciyes Univ Vet Fak Derg. 17(2): 131-137.

2. Rişvanlı A, Saat N, **Şafak T**, Yılmaz Ö, Yüksel BF, Kılınç MA, Doğan H, Yüksel M, Kul S, Şeker İ (2021). Türkiye'de farklı niteliklere sahip süt sığırtı işletmelerinde mastitisin koruma ve kontrolü kapsamındaki bazı uygulamaların düzeyleri. Eurasian J Vet Sci. 37(2): 121-129.

C. Uluslararası Kongrelerde Sunulan Tebliğler

1. Kılınç MA, **Şafak T**, Eröksüz Y, Öcal H, Kalkan C. A Case of vaginal fibropapilloma observed in two Simmental cows. VII. National & I. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 12-15 October 2017 in Marmaris/Turkey.

2. Rişvanlı A, Doğan H, **Şafak T**, Kılınç MA, Şeker İ. The relationship between mastitis and Pulsed Wave Doppler ultrasonography measurements of supramammary lymph nodes in cows. VIII. National & II. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 10-13 October 2019 in Antalya/Turkey.

3. Rişvanlı A, Özbey G, Sproston E, Otlı B, Yakupoğulları Y, Çelik B, Persad A, **Şafak T**, Çambay Z, Özçelik M, Keleştemur N. Identification of bacterial species recovered in milk from mastitic dairy cows using Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight (MALDI-ToF) and investigation on some antioxidant parameters. VIII. National & II. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 10-13 October 2019 in Antalya/Turkey.

4. Yılmaz Ö, **Şafak T**, Kılınç MA, Yüksel BF, Ercan K, Rişvanlı A. A case of different perineal laceration in an Arabian mare. VIII. National & II.

International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 10-13 October 2019 in Antalya/Turkey.

5. **Şafak T**, Yılmaz Ö, Ercan K, Yüksel BF, Öcal H. A case of vaginal hyperplasia in a pregnant bitch. VIII. National & II. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 10-13 October 2019 in Antalya/Turkey.

6. **Şafak T**, Kılınç MA, Kalkan C. The case of persistent hymen that causes to dystocia in a Simmental heifer. VIII. National & II. International Congress of Turkish Society of Veterinary Gynecology" between 10-13 October 2019 in Antalya/Turkey.

D. Kitap Bölümleri

1. Doğan H, **Şafak T**, Kılınç MA, Kalkan C. Fırat üniversitesi veteriner fakültesi doğum ve jinekoloji kliniğine 2003-2016 yılları arasında getirilen vakaların değerlendirilmesi. Çetin H. (Editör). Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Kliniklerine Getirilen Vakaların Analizi. 1. Baskı. Türkiye Klinikleri, Ankara, 2018: 41-48.

2. **Şafak T**, Rışvanlı A. İneklerde kontagiyöz mastitis etkenleri. Nur İH, Demirkale İ. (Editörler). Veterinerlik ve Su Ürünleri Araştırmaları I, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 2019: 45-60.

3. Rışvanlı A, Doğan H, **Şafak T**, Öcal H. Memenin savunma sistemi: meme savunmasında meme başı ve meme başı kanalının rolü. Öcal H. (Editör). İneklerde Mastitis Dışındaki Meme, Meme Başı ve Meme Derisinin Hastalıkları. 1. Baskı. Türkiye Klinikleri, Ankara, 2019: 1-10.

4. **Şafak T**, Yüksel M, Kılınç MA, Kalkan C. Meme ve meme başına uygulanan cerrahi girişimler ve memenin kurutulması (köreltilmesi). Öcal H. (Editör). İneklerde Mastitis Dışındaki Meme, Meme Başı ve Meme Derisinin Hastalıkları. 1. Baskı. Türkiye Klinikleri, Ankara, 2019: 71-76.

5. **Şafak T**, Rışvanlı A. Meme sağlığı üzerine virüslerin etkileri. Nur İH. (Editör). Veteriner Hekimlikte Güncel Yaklaşımlar, Akademisyen Kitabevi, Ankara, 2020: 55-70.

E. Projeler

1. İneklerde Meme Sağlığında Sitokinlerin Rolü. Araştırmacı, FÜBAP, VF.18.06.

2. Somatik Hücre Sayısı Yüksek İnek Sütlerinde Th₁/Th₂ Sitokin Polarizasyonu. Araştırmacı, FÜBAP, VF.19.07.

3. İneklerde Subklinik Mastitislere Sebep Olan Bakteri Türüne Göre Sütteki Th₁/Th₂ Sitokin Dengesinin Belirlenmesi. Araştırmacı, TÜBİTAK, ARDEB, 119O787.

4. Buzağılarda Irisin, Asprosin, Leptin, Adiponektin Düzeyleri ve Bu Düzeylere Buzağının Doğum Şeklinin Etkisi. Araştırmacı, TÜBİTAK, ARDEB, 120O760.

5. Elektrikli Teat Dipping. Araştırmacı, TÜBİTAK, TEYDEB, 3191749.

6. Veteriner Amaçlı Ultrasonik Bıçak. Ar-Ge, İnovasyon ve Endüstriyel Uygulama Destek Programı, Araştırmacı, KOSGEB, 1581809.