

Aydın İli Söke İlçesinde Sütçü İneklerde Subklinik Mastitis Prevalansının ve Mastitise Neden Olan Aerobik Bakterilerin Belirlenmesi *

Özkan ÇELİK^{1,a}, Erdem SUR^{2,b}, Hayrettin ÇETİN^{1,c,**}

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-9312-0815, ^bORCID:0000-0002-9383-7146, ^cORCID:0000-0001-9010-0993

Geliş Tarihi: 09.04.2021

Kabul Tarihi: 09.10.2021

Özet: Bu çalışmada, Aydın ili Söke ilçesinin farklı mahallelerinde bulunan Siyah-Alaca ineklerde subklinik mastitis oranının belirlenmesi ve subklinik mastitise neden olan bakterilerin sekans analizi ile moleküler identifikasyonlarının yapılması amaçlandı. Materyal olarak 312 baş Siyah-Alaca ineğin 1231 meme lobu kullanıldı. California Mastitis Test (CMT) sonucunda, ineklerin %72,44'ünün ve meme loblarının %46,63'ünün subklinik mastitisli olduğu belirlendi. California Mastitis Testi pozitif 226 inekten aseptik şartlarda alınan süt numunelerinin 128'inde (%56,64) patojen mikroorganizmalar tespit edilirken 98'inde (%43,36) besi yerinde patojen etken üremedi. Yüz yirmi sekiz numuneden, 178 adet mikroorganizma ürettiği, bunlardan 77'sinin (%43,75) bulaşıcı, 99'unun (%56,25) çevresel mastitis grubu bakteri, ikisinin ise maya olduğu tespit edildi. *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. ve koliform grubu bakterilerin en çok identifiye edilen türler olduğu görüldü. Atlık materyali olarak gübrenin kullanıldığı işletmelerde, çevresel mastitis etkenlerinin subklinik mastitiste başlıca risk faktörü olduğu tespit edildi. Kauçuk altlık kullanılan işletmelerde subklinik mastitisin önemli derecede azaldığı tespit edildi (P<0.001). Aydın ili Söke ilçesinde subklinik mastitisin önemli bir sorun olduğu, ayrıca yetiştiricilerin hastalığın tanı, tedavi ve daha önemlisi koruma-kontrol yolları hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları belirlendi. Belirli aralıklarla subklinik mastitis taraması yapılması, etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mastitise karşı alınacak tedbirlerin, işletmelerin karlılığı ve sürdürülebilirliği için önemli olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: California Mastitis Test, Moleküler identifikasyon, Subklinik mastitis.

Determination of Subclinical Mastitis Prevalence and Aerobic Bacteria Causing Mastitis in Dairy Cows in Soke District of Aydın

Abstract: This study aimed to determine the prevalence of subclinical mastitis in Holstein cows in different districts of Soke, Aydın and to identify sequence analysis of bacteria causing subclinical mastitis. A total of 1231 samples from 312 Holstein cows were screen with California Mastitis Test (CMT) in this study. Based on CMT results, 72.44% of cows and 46.63% of mammary lobes had subclinical mastitis. Pathogenic microorganisms were detected in 128 (56.64%) of the aseptic milk samples taken from 226 CMT-positive cows, whereas 98 (43.36%) of them had negative results. The culture analysis showed 178 microorganisms of 128 samples, of which 77 (43.75%) were contagious, 99 (56.25%) were environmental mastitis group bacteria, and 2 were yeast. *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. and the coliform group were the most identified species. It was concluded that environmental mastitis agents were risk factors for subclinical mastitis in the dairy farms where manure was used as a flooring material. Subclinical mastitis was found to be significantly reduced in the barns where rubber (latex) mat was used as floor material (P<0.001). The present study reports a high prevalence of subclinical mastitis in Soke district of Aydın province. The breeders do not have enough information about the diagnosis, treatment and more importantly protection, and control of the disease. The findings of the study concluded that screening of subclinical mastitis at regular intervals, isolation and identification of agents should be focused and measures of regular screening for mastitis are essential for the profitability and sustainability of the dairy farms.

Keywords: California Mastitis Test, Molecular identification, Subclinical mastitis.

Giriş

Süt sığırı işletmelerinde kârlı bir üretim yapmak için kaliteli ve sağlıklı sütün elde edilmesi gerekmektedir. Dünya nüfusunun artmasıyla süt ve süt ürünlerine olan talep de artmaktadır. Bu talebi karşılamak için hastalıklara karşı dirençli, yüksek süt verimine sahip hayvan sayısını artırmak amacıyla birçok ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (2019) verilerine göre 2000 yılında

birim hayvan başına yıllık süt üretimi 1.654 kg iken, 2018 yılında 3.161 kg'a yükselmiştir. Bu yükseliş, ırk seleksiyonu ile kültür ırklarımız ve melezlerinin toplam hayvan varlığımızdaki oranının artması, küçük işletmelerin yerlerini yavaş yavaş daha büyük işletmelerin alması, bu sayede daha bilinçli ve korumaya yönelik yapılan birçok uygulama ile sağlanmıştır.

Mastitisin; süt üretiminin düşmesi, sütün kalitesindeki değer kaybı, sütün satış değerindeki azalma, emek ve zaman kaybı, ilaç ve tedavi giderleri, elde edilen sütün dökülme zorunluluğu nüks oranının yüksek olması, ineğin sürüden erken çıkartılması (%21-39,4) gibi birçok ekonomik zararı vardır (Awale ve ark, 2012; Guimaraes ve ark, 2017; Hertl ve ark, 2018; Keskin, 2015; Taponen ve ark, 2017; Viguier ve ark, 2009). Çek Cumhuriyet’inde (Wolfova ve ark, 2006), düzenli olarak kayıt tutulan beş siyah-alaca sütçü inek işletmesinde, çeşitli hastalıkların tedavilerine yönelik giderlerin tümü içinde sadece mastitis vakaları için %38’den fazla bir pay ayrıldığı ifade edilmektedir. Farklı ülkelerde birçok araştırmacının yapmış olduğu incelemelerde mastitisli ineklerde yıllık 250-1277 kg süt kaybı olduğu belirlenmiştir (Hortet ve Seegers, 1998; Lucey ve ark, 1986; Mtallah ve ark, 2002; Schepers ve Dijkhuizen, 1991). Bu nedenle mastitis ile mücadelede etkenlerin çok iyi tanınması ve bunlara yönelik önlemlerin alınması gerekmektedir (Vural ve ark, 2016).

Sunulan çalışmada, Aydın ili Söke ilçesinde, süt hayvancılığı yapan işletmelerde subklinik mastitis oranını ortaya çıkarmak ve subklinik mastitise neden olan mikroorganizmaları tespit etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapılan başvuruda, deney hayvanı kullanılmadığı için, onay gerekmediği raporu alınmıştır (64583101/2018/003). Çalışmanın materyalini Aydın ili Söke ilçesinin 10 farklı mahallesinde bulunan, 27 işletmede, genel durumu sağlıklı görülen 312 Siyah-Alaca Holstein ineğe ait 1231 meme lobu oluşturdu. Çalışma 2019 yılı Nisan-Mayıs ayları arasında gerçekleştirildi.

Mastitis taraması için gidilen süt işletmelerinde sağım için hazırlanan ineklerin normal meme temizliği yapıldıktan sonra California Mastitis Testi (*Bovivet CMT Liquid, Kruuse®*) ile mastitis teşhisi yapıldı. Test sonucu pozitif veren meme lobları ve dereceleri, Vural ve ark. (2016) tarafından belirtilen yöntemle göre değerlendirildi. Numune göndermek için ilk olarak CMT derecesine bakılmaksızın pozitif çıkan sağ arka meme lobu seçildi. Sağ arka meme lobu CMT negatif çıkan ineklerde test için diğer meme loblarında CMT pozitiflik derecesi en yüksek olan seçilerek 5-10 ml süt, aseptik koşullarda laboratuvara gönderildi.

İzolasyon ve İdentifikasyon: Süt örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırıldıktan sonra genel (%7 kanlı agar) ve selektif (MacConkey Agar) besiyerlerine ekilerek izolasyonları yapıldı (Quinn ve ark. 2011). İzole edilen bakterilerin tür

düzeyinde identifikasyonlarında sekans analizi kullanıldı.

DNA Ekstarksiyonu: İzolatların total DNA ekstraksiyonu ticari genomik DNA ekstraksiyon kiti (*InstaGeneMatrix, Katalog No: 732-6030, BIO-RAD®, München, Germany*) kullanılarak üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Ekstraksiyonu yapılan DNA’lar üniversal primerler (16S20 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG- 3' ve 16S1390 5'-GAC GGG CGG TGT GTA CAA-3') kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifiye edildi (Edwards ve ark. 1989; Zheng ve ark. 1996). Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile 16S rRNA geninin çoğaltılmasında, elde edilen bakteriyel DNA’dan 2 µL olacak şekilde toplam 30 µL reaksiyon miktarı için son konsantrasyon Taq enzimi tampon çözeltisi 1X, magnezyum klorür (MgCl₂) 2 mM, dNTP 0,2mM, primer (her biri için) 0,4 pmol, Taq DNA polimeraz (Fermentas) 1,5 U olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. Program 95°C’da beş dakikalık ön denatürasyonu takiben 35 siklus 95°C 30 sn, 56°C 30 sn ve 72°C 1 dakikada tamamlandıktan sonra, 72°C’de 7 dakika ile sona erdirildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu’nda beklenen büyüklükte (1371 bp) bant görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Amplifikasyon ürünü daha sonra sekanslama için Macrogen (Hollanda) firmasına gönderildi ve sonuçlar NCBI (National Center for Biotechnological Information) nükleotid blast programında gen bankasıyla karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen veriler SPSS 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, Amerika) programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında frekanslar bakımından farklar Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Elde edilen P değerinin 0,05’in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

Bulgular

Klinik Muayene ve CMT Bulguları: Muayene edilen 312 ineğin 1248 meme lobundan 17’si (%1,36) kör olarak kaydedildi. Süt verimi normal olan 1231 meme lobundan 574’ü (%46,63) CMT pozitif olduğu belirlendi.

Çiftlik altlık yapısı göz önünü alınarak değerlendirme yapıldığında, diğer gruplara kıyasla kauçuk altlık grubunda en düşük oranda mastitisle karşılaşıldığı ve bu grupta tespit edilen CMT pozitiflik değerinin diğer gruplardan düşük ve farkın istatistiki açıdan önemli (p<0.001) olduğu tespit edildi (Tablo 1). Meme körlüğü bakımından altlık grupları arasındaki farklılık istatistik açıdan önemsiz bulundu.

Tablo 1. İneklerin buldukları işletmenin altlık yapısına göre CMT test sonuçları.

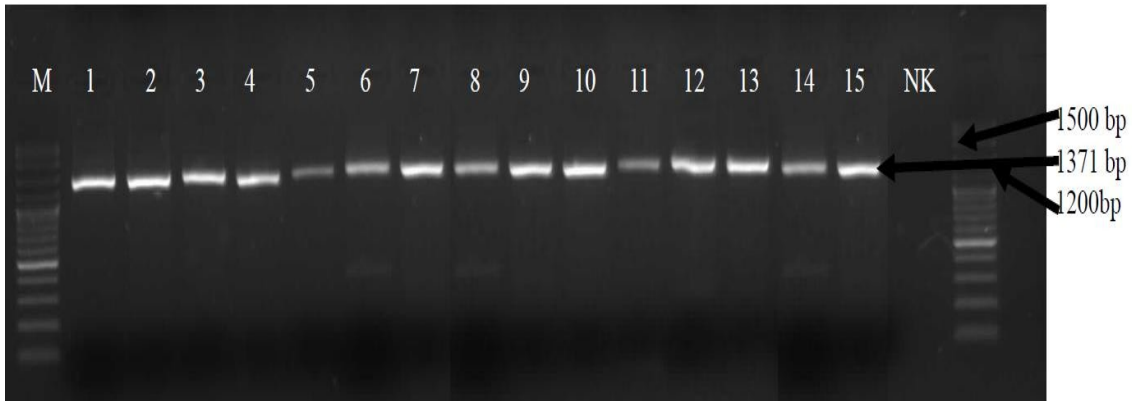
Altılık	BAŞ				Toplam	MEME LOBU				Toplam
	CMT(+)		CMT(-)			CMT(+)		CMT(-)		
Yapısı	n	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)	
Gübre	173 ^a	80,47	42 ^a	19,53	215	459 ^a	54,38	385 ^a	45,61	844
Kauçuk	26 ^b	41,27	37 ^b	58,73	63	54 ^b	21,51	197 ^b	78,49	251
Beton	27 ^a	79,41	7 ^a	20,59	34	61 ^a	44,85	75 ^a	55,15	136
Genel	226	72,43	86	27,57	312	574	46,62	657	53,37	1231
X²	10,59					44,93				
P	*					*				

*: P<0,05, a, b: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklılık istatistik açıdan önemlidir (p<0,05). Toplamda incelenen 312 hayvanın bazılarında meme lobları kör (toplam 17 meme lobu) olduğu için toplam incelenen meme lobu sayısı beklendiği gibi 1248 yerine 1231 olmuştur.

Mikrobiyolojik Bulgular: Yapılan PZR'da, 128 izolat için 16S üniversal primerleri kullanılarak 1371 bp uzunluğunda bantlar elde edildi (Resim 1).

Hayvan başı birer numune olmak üzere seçilen 226 numuneden, mikrobiyolojik ekim sonrasında 128'inde (%56,64) üreme (izolat) tespit edilirken, 98'inde (%43,36) üreme tespit edilemedi.

Mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonucu 128 süttten 178 mikroorganizma ürettiği (Tablo 2), bunlardan 176'sının (45 farklı) bakterisi, ikisinin maya olmak üzere, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. ve koliform grubu bakterilerin en çok identifiye edilen türler olduğu belirlendi.



Resim 1. 16S üniversal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR M: Marker (100 bp DNA Ladder) 1-14: Saha izolatları, 15: Pozitif Kontrol (*E. faecalis* ATCC 29212). NK: Negatif Kontrol (DNA'sız mastermiks).

Moleküler identifikasyon sonucu, 176 adet bakterinin 77 (%43,75) adeti bulaşıcı mastitis, 99 (%56,25) adeti çevresel mastitis etkeni olarak belirlendi ve çiftlik yapısına göre dağılım Tablo 3'te verildi. Bulaşıcı mastitis etkenleri içerisinde *Corynebacterium* spp. 32 (%17,97), Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) 26 (%11,2), *S. agalactiae* 12 (%6,74), *S. aureus* 7 (%3,93) olarak tespit edildi. Belirlenen otuz iki *Corynebacterium* spp.'nin %87,5'i (n=28) serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı işletmelerde, %6,2'i (n=2) serbest gezintili ve kauçuk yataklığın kullanıldığı işletmede,

%6,2'i (n=2) ise beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapan işletmelerde görüldü. İzolasyonu yapılan 29 *S. uberis*'in (9 işletmede *Corynebacterium* türü bakteriler ile birlikte) %93,1 (n=27) serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı işletmelerde, %6,9'u (n=2) beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapılan işletmelerde saptandı. İzole edilen bulaşıcı mastitis etkeni olan 12 *S. agalactiae*'nin tümü serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı bir işletmede belirlendi.

Tablo 2. İzole edilen bakteriler.

İzole edilen patojenler	N	%	İzole edilen patojenler	N	%
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	14	7,87	<i>Rhodococcus sp.</i>	3	1,69
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3,93	<i>Lactococcus lactis</i>	4	2,25
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6	3,37	<i>Aerococcus viridans</i>	4	2,25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	2,25	<i>Brevibacterium paucivorans</i>	1	0,56
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	0,56	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	2	1,12
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	0,56	<i>Brachybacterium paraconglomeratum</i>	1	0,56
<i>Streptococcus uberis</i>	29	16,29	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1	0,56
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12	6,74	<i>Kocuria salsicia</i>	1	0,56
<i>Streptococcus parauberis</i>	6	3,37	<i>Trueperella pyogenes</i>	1	0,56
<i>Streptococcus hongkongensis(uberis)</i>	4	2,25	<i>Escherchia coli</i>	3	1,69
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2	1,12	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,56
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	1,12	<i>Enterobacter cloacea</i>	1	0,56
<i>Corynebacterium sp.</i>	32	17,97	<i>Shigella flexneri</i>	1	0,56
<i>Bacillus licheniformis</i>	7	3,93	<i>Acinetobacter iwoffi</i>	3	1,69
<i>Bacillus pumilis</i>	3	1,7	<i>Hafnia paralvei</i>	2	1,12
<i>Bacillus subtilis</i>	2	1,69	<i>Pasteurella multocida</i>	1	0,56
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1	0,56	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,56
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	3,4	<i>Pseudomonas spp.</i>	1	0,56
<i>Enterococcus faecium</i>	1	0,56	<i>Pseudocitrobacter spp.</i>	1	0,56
<i>Enterococcus durans</i>	1	0,56	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,56
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	0,56	<i>Candida spp.</i>	2	1,1

Tablo 3. İzole edilen etkenlerin altlık gruplarına göre dağılımı.

Altlık Yapısı	Etken		Genel
	Çevresel	Bulaşıcı	
Gübre	71	63	134
Kauçuk	6	3	9
Beton	22	11	33
Genel	99	77	176
kikare	1,064		
P	Ö.D.		

Tartışma ve Sonuç

Süt inekçiliğinde sık olarak karşılaşılan mastitis, özellikle de subklinik mastitis ülkemiz hayvancılığında önemli ekonomik kayıplara sebep olmakta ve ülkemizin farklı yörelerinde farklı oranlarda görülmektedir. Yapılan çalışmalarda CMT ile meme lobu ve hayvan bazında tespit edilen subklinik mastitis oranları, sırasıyla; %7,4-60,2 ve %24-73,8 arasında değiştiği belirlenmiştir (Acar ve ark, 2012; Kaşıkçı ve ark, 2012; Özenç, 2019;

Rişvanlı ve Kalkan, 2001; Sağlam ve ark, 2018; Saydan ve Kalkan, 2017; Tel ve ark, 2009). Sunulan çalışmada meme lobu bazında subklinik mastitis oranı %46,6, hayvan bazında ise %72,4 olarak tespit edildi. Hayvan bazında CMT pozitiflik oranı, yapılan çalışmalardaki oranlar arasında kaldığı, fakat yüksek oranlara (Akdağ ve ark, 2017; Çokal ve Konuş, 2012; Ergün ve ark, 2004; Özenç, 2019; Tel ve ark, 2009) daha yakın olduğu belirlendi. Subklinik mastitis prevalansının yüksek oranda tespit edilmesi, aile tipi ve 10-50 sağmal kapasiteli işletmelerde, Özenç ve

ark. (2019) ile Yeşilmen ve arkadaşlarının (2012) da belirttiği gibi subklinik mastitise karşı korunma tedbirlerinin tam bilinmemesi ya da uygulanmaması şeklinde yorumlandı.

Subklinik mastitisler düzenli kontrolleri ve koruma uygulamaları yapılmadığı zaman ilerleyerek klinik mastitis şekillenebilir. Klinik mastitis olgularında meme dokusuna erken ve doğru bir tedavi yapılmadığında enfekte meme lobu süt üretim özelliğini kaybeder ve meme körelir. Ülkemizde yapılan mastitis ile ilgili çalışmalarda (Koçyiğit ve ark, 2016; Özdemir ve Kaymaz, 2013; Özenç, 2019; Saydan ve Kalkan, 2017), kör meme lobu oranının %0,78-4,84 arasında olduğu görülmüştür. Subklinik mastitis prevalansının belirlenmesi için yapılan bu çalışmada kör meme lobu oranı %1,36 olarak bulundu. Bu oran ülkemizde yapılan daha önceki çalışmalarda elde edilen değerler ile uyumlu olduğu görüldü. On yedi adet kör meme lobunun 16'sı (%94,12), altlık olarak gübre kullanılan ve sağım hijyenine dikkat edilmeyen işletmelerde tespit edildi.

Ahır ve barınağa bağlı faktörler de mastitise duyarlılığı artırır, özellikle ineklerin ayrı bağlandığı ve yeterli genişlikte alana sahip olmaması durumlarında ineklerde stres meydana gelir. Hayvanların yatıp kalkma sırasında birbirlerinin memesine basabilir ve meme yaralanmaları ile mastitise duyarlılık artar. Altlık olarak nemli gübre, talaş, saman gibi organik maddeler bakterilerin barınma ve üremeleri için uygun ortamlardır. Bundan dolayı önerilen altlıklar nem oranı düşük, içinde bakterilerin kullanabileceği besin maddesi az ve inorganik yapılı olmalıdır (Baştan, 2019). Altlık yapısının CMT sonuçları üzerinde etkisi değerlendirildiğinde Tablo 1'de belirtildiği üzere, kauçuk altlık grubunda bulunan ineklerde CMT+ oranının önemli derecede düşük olduğu görüldü (P<0.001). Yapılan çalışmada kullanılan altlıklardan, kauçuk altlığın meme sağlığı açısından tercih edilebilir olduğunu göstermiştir.

Subklinik mastitise sebep olan mikroorganizmaların tanısı için yapılan incelemelerin hepsinde bakteriyel üremeye rastlanılmamaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda (Çokal ve Konuş, 2012; Ergün ve ark, 2004; Gürtürk ve ark, 1998; Koçyiğit ve ark, 2016; Sağlam ve ark, 2018; Tel ve ark, 2009; Yeşilmen ve ark, 2012) CMT pozitif ineklerde üremenin tespit edilmediği oran %10,82-39,20 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 312 inekten CMT pozitif sonuç veren 226 ineğin 98'inde (%43,36) üreme tespit edilemedi. Bu oran ülkemizde rastlanan oranların üzerinde olduğu ve sebebinin çalışmanın yapılma zamanının süt ineği işletmelerinin ani rasyon değişikliği yaptığı zamana denk gelmesi ve düşük konsantrasyonlu meme

patojenleri (Wellenberg ve ark. 2002) olabileceği kanaatine varıldı.

Bulaşıcı mastitis etkenleri olan *S. aureus*, *S. agalactiae*, *C. bovis*, KNS ve *Mycoplasma* türlerinin en önemli kaynağı enfekte meme lobları, yetersiz sağım hijyeni, sağımda kullanılan kontamine ekipman ve sağım makinelerinde gözlenen sorunlardır. Sürü içerisinde inekten ineğe yayılım gösterir, genellikle meme paranzim dokusuna ve süt toplama kanallarına yerleşerek kronik mastitise yol açar ve sürü için devamlı bir mastitis kaynağı oluştururlar. Bu mikroorganizmalar memenin saprofitidir. Genel olarak bulaşıcı mastitis etkenlerine; %22,9-81,24 oranları arasında rastlanılmaktadır (Baştan ve ark, 2015; Beytut ve ark, 2002; Çokal ve Konuş, 2012; Ergün ve ark, 2004; Sağlam ve ark, 2018; Tel ve ark, 2009; Türkyılmaz ve ark. 2010; Yeşilmen ve ark, 2012). Sunulan çalışmada 77 (%43,75) adet bulaşıcı mastitis etkeni tespit edildi. Tespit edilen bu oranın, ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen oranlar ile uyumlu olduğu belirlendi.

Koagülaz negatif stafilkokların prevalansı %8,33-44,83 olarak belirlenmiştir. (Baştan ve ark, 2015; Beytut ve ark, 2002; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konuş, 2012; Ergün ve ark, 2004; Hadımlı ve ark, 2013; Koçyiğit ve ark, 2016; Macun ve ark, 2011; Sağlam ve ark, 2018; Tel ve ark, 2009). Bulunduğu sürüde çiftlik yönetimi iyi değil ise hızlı yayılım özelliği gösteren ve önemli ölçüde süt kaybına yol açan *S. agalactiae*'nin oranını Ergün ve ark (2004) %3,5, Acar ve ark (2012) %5,88, Beytut ve ark (2002) ise %9,37 olarak belirtmişlerdir. Bulaşıcı mastitis etkenleri arasında yer alan *Corynebacterium* spp.'nin görülme oranı %0,3-2,35 arasında değişmektedir (Baştan ve ark, 2015; Sağlam ve ark, 2018). Cins bazında incelendiğinde ise Tel ve ark (2009) *C. bovis*'i %3,1, Beytut ve ark (2002) *C. pyogenes*'i %19,79 oranında bulunduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan çalışmada ise bulaşıcı mastitis etkenleri içerisinde en sık *Corynebacterium* türleri 32 (%17,98) ve sırasıyla KNS 26 (%14,61), *S. agalactiae* 12 (%6,74), *S. aureus* 7 (%3,93) adet tespit edildi.

Çevresel mastitis etkenlerinin %16,68-77,1 oranları arasında bulunduğu (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Koçyiğit ve ark, 2016; Türkyılmaz ve ark. 2010) ve tespit edilen %56,25 oranın, diğer çalışmalarda elde edilen değerler arasında kaldığı görüldü. Subklinik mastitis ile ilgili kaynaklarda koliform bakterilerin en önemlisi *E. coli*'dir ve tespit edilme oranı %2,2-28,9 arasında değişir (Baştan ve ark, 2015; Beytut ve ark, 2002; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konuş, 2012; Ergün ve ark, 2004; Koçyiğit ve ark, 2016; Özdikmenli Tepeli ve Zorba, 2017; Sağlam ve ark, 2018; Tel ve ark, 2009). Sunulan çalışmada *E. coli*

%1,69 oranında tespit edildi. Bu oran bazı çalışmalarda (Baştan ve ark, 2015; Ergün ve ark, 2004) orana yakın (%2,2 -2,73) olmakla birlikte ve ülkemizde subklinik mastitis ile ilgili bulunan oranların çok altında kaldığı görüldü. Mastitise neden olan bakteriler, yöresel olarak farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılığa, her yöredeki çevresel bakteri florasındaki farklılıklar, çalışmalarda kullanılan izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar hatta yörelerde mastitis tedavisinde kullanılan farklı yöntemler sebep olabilir. Tablo 3'de verilen değerler incelendiğinde çevresel mastitis etkenleri, altlık olarak gübrenin kullanıldığı işletmelerde daha yüksek oranda belirlendi.

Sonuç olarak, subklinik mastitis olguları süt ineği yetiştiriciliği yapan işletmeler için tehdit olmaya devam etmektedir. Mastitis vakalarının kontrol edilebilmesinde, mastitise neden olan patojenlerin doğru bir şekilde tanımlanması esastır. Bu çalışmada, etiyolojik etkenlerin kısa sürede ve doğru bir şekilde tanımlanmasında sekans analizi yöntemi uygulanmıştır. Veteriner teşhis laboratuvarlarında bakterilerin tanımlanması için sekans analizi yöntemi, maliyetlerinin düşmesi ve teknik personelin bilgisinin artması sonucunda, geleneksel fenotipik tanımlama yöntemlerinin yerini alacak gibi görünmektedir.

Kaynaklar

- Acar G, Yılmaz E, Solmaz H, Cantekin Z, 2012: Hatay bölgesinde klinik ve subklinik mastitisli ineklerden *Streptococcus* spp. etkenlerinin izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *AVKAE Dergisi*, 2 (2), 1-5.
- Akdağ F, Gürler H, Teke B, Uğurlu M, Koçak Ö, 2017: Jersey ırkı ineklerde CMT skorlarının ve skorların değerlendirilmesinde farklılığın süt verimi, süt bileşimi ve subklinik mastitis tanısına etkisi. *JIVS*, 43 (1), 44-51.
- Awale MM, Dudhatra GB, Avinash K, Chauhan BN, Kamani DR, Modi CM, Patel HB, Mody SK, O'Kennedy R, 2012: Bovine Mastitis: A Threat to Economy. *Open Access Scientific Reports*, 1, 295.
- Baştan A, Salar S, Cengiz M, Darbaz İ, Demirel MA, Özen D, 2015: The prediction of the prevalence and risk factors for subclinical heifer mastitis in Turkish dairy farms. *Turk J Vet Anim Sci*, 39, 682-687.
- Baştan A, 2019: İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları 3. Baskı. Neyir Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri, Ankara.
- Beytut E, Aydın F, Özcan K, Genç O, 2002: Kars ili ve yöresinde ineklerde mastitislerin patolojik ve bakteriyolojik olarak incelenmesi. *Kafkas Üniv. Vet Fak Derg*, 8 (2), 111-122.
- Büyükcangaz E, Mat B, Khider ABD Alrahim Ahmed M, 2012: Subklinik mastitisli sığır sütlerinin mikrobiyolojik analizi ve izolatların antimikrobiyal direnç profili. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 31 (2), 35-44.
- Çokal Y, Konoş R, 2012: Subklinik mastitisli ineklerin sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu. *Balikesir Sağlık Bil Derg*, 2012, 1 (2), 65-69.
- Edwards U, Rogall T, Blöcker H, Emde M, Böttger EC, 1989: Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res*, 17 (19), 7843-53.
- Ergün Y, Aslantaş Ö, Doğruer G, Cantekin Z, 2004: Hatay ilindeki aile tipi süt sığırcılığı işletmelerinde subklinik mastitislerin epidemiyolojisi. *Eurasian J Vet. Sci*, 20 (4), 25-28.
- Guimaraes JL, Brito MA, Lange CC, Silva MR, Ribeiro JB, Mendonça LC, Souza GN, 2017: Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. *Prev Vet Med*, 142, 46-50.
- Gürtürk K, Boynukara B, Ekin İH, Gülhan T, 1998: Van ve yöresindeki ineklerde subklinik mastitisin etiyolojisi üzerine bir çalışma. *YYÜ Vet Fak Derg* 9 (1-2), 1-4.
- Hadimli HH, Sayın Z, Erganiş O, Kav K, Sakmanoğlu A, 2013: Subklinik mastitisli süt ineklerinden izole edilen koagülaz negatif stafilkokların identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Eurasian J Vet Sci*, 30 (1), 14-19.
- Hertl JA, Schukken YH, Tauer LW, Welcome FL, Gröhn YT, 2018: Does clinical mastitis in the first 100 days of lactation predict increased mastitis occurrence and shorter herd life in dairy cows? *J Dairy Sci*, 101, 2309-2323.
- Hortet P, Seegers H, 1998: Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Prev Vet Med*, 37(1-4), 1-20.
- Kaşıkcı G, Çetin Ö, Bingöl EB, Gündüz MC, 2012: Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turk J Vet Anim Sci*, 36 (1), 49-55.
- Keskin, A, 2015: Sürülerde mastitis kontrol stratejileri, In: Sığırlarda sürü sağlığı ve yönetimi Batmaz H (Ed), 1. Baskı, 335-378, Alfa Akademi, Bursa.
- Koçyiğit R, Yılmaz O, Özenc E, Uçar M, 2016: Effect of some risk factors on subclinical mastitis in dairy cows. *Kocatepe Vet J*, 9 (3), 185-193.
- Lucey S, Rowlands GJ, Russel AM, 1986: Short-term associations between disease and milk yield of dairy cows. *J Dairy Res*, 53, 7-15.
- Macun HC, Pir Yağcı İ, Ünal N, Kalender H, Sakarya F, Yıldırım M, 2011: Kırıkkale'de belirlenen subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve antibiyotik direnç durumu. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 8 (2), 83-89.
- Mtaallah B, Oubey Z, Hammami H, 2002: Assessment of milk yield losses and subclinical mastitis risk factors using bulk milk somatic cell counts in dairy herds. *Rev Med Vet*, 153 (4), 251-260.
- Özdemir S, Kaymaz M, 2013: Küçük aile işletmelerinde yetiştirilen ineklerde subklinik mastitis insidensi ve tanı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8 (1), 71-79.
- Özdikmenli Tepeli S, Zorba NN, 2017: Çanakkale (Yenice) ilinde üretilen çiğ sütlerin bazı özellikleri ve subklinik

- mastitis görülme oranı. *Trakya Univ J Natural Sci*, 18 (1), 41-47.
- Özenç E, 2019: Determination of risk factors associated with subclinical mastitis as detected by california mastitis test in smallholder dairy farms in Afyonkarahisar. *Kocatepe Vet J*, 12 (3), 277-283.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fliz Patrick ES, Fanning S, Hartigan PJ, 2011: Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Second Edition, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.
- Rişvanlı A, Kalkan C, 2001: Elazığ bölgesi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislerin dağılımı, mastitislere sebep olan mikroorganizmaların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine çalışma. Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu, Burdur 04-05 Mayıs, *Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi*, Yayın No: 2, 59-67.
- Sağlam AG, Otlu S, Çoşkun MR, Çelik E, Büyük F, Şahin M, 2018: Prevalence of subclinical mastitis in cows, isolation of agents and determination of their antibiotic susceptibility. *Eurasian J Vet Sci*, 34 (2), 92-98.
- Saydan M, Kalkan C, 2017: Malatya Arguvan yöresinde süt ineklerinde subklinik mastitis prevalansı. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg (Vet)*, 31 (3), 193 - 200.
- Schepers JA, Dijkhuizen AA, 1991: The economics of mastitis and mastitis control in dairy cattle; A critical analyses of estimates published since 1970. *Prev Vet Med*, 10 (3), 213-224.
- Taponen S, Liski E, Heikkilä AM, Pyörala S, 2017: Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *J Dairy Sci*, 100, 493-503.
- Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arsenim Kaya NB, 2009: Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitis görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg (Vet)*, 23 (2), 101-106.
- TUİK,2019:http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002, Erişim tarihi;15.12.2019.
- Türkyılmaz S, Yıldız Ö, Oryaşın E, Kaynarca S, Bozdoğan B, 2010: Molecular identification of bacteria isolated from dairy herds with mastitis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6), 1025-1032.
- Viguié C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R, 2009: Mastitis detection: Current trends and future perspectives. *J Biotechnol*, 27, 486-493.
- Vural R, Ergün Y, Özenç E, 2016: Büyük ruminantlarda mastitis, In: Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. (Ed), 1. Baskı, 149-259, Medipres, Malatya.
- Wellenberg GJ, van der Poel WHM, Van Oirschot JT, 2002: Viral infections and bovine mastitis: A review. *Vet Microbiol*, 88, 27-45.
- Wolfova M, Stipkova M, Wolf, J, 2006: Incidence and economics of clinical mastitis in five Holstein herds in the Czech Republic. *Prev Vet Med*, 77 (1-2), 48-64.
- Yeşilmen S, Özyurtlu N, Bademkiran S, 2012: Diyarbakır yöresinde subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1 (4), 24-29.
- Zheng D, Alm EW, Stahl DA, Raskin L, 1996: Characterization of universal small-subunit rRNA hybridization probes for quantitative molecular microbial ecology studies. *Appl Environ Microb*, 62 (12), 4504-13.
- *: "Aydın İli Söke İlçesinde Siyah-Alaca Sütçü İneklerde Subklinik Mastitis Prevalansının Belirlenmesi" adlı Yüksek Lisans tezinden özetlenmiş, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (VTF-18036) desteklenmiştir.
- ****Yazışma Adresi:** Hayrettin ÇETİN
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Işıklı, Efeler, Aydın.
e-mail: hcetin@adu.edu.tr