

SÜT İNEKLERİNDE STAFİLOKOKKAL MASTİTİSLER İÇİN AŞI ÇALIŞMALARI*

H. Hüseyin Hadimli¹@

Osman Erganiş¹

Studies on Staphylococcal Vaccines for Mastitis in Dairy Cows

Özet: Bu çalışmada, Otojen *Staphylococcus aureus* aşılı ile süt ineklerinde stafilokokkal mastitislerin insidensinin azaltılması amaçlandı. Klinik ve subklinik mastitislerden izole edilen *S. aureus* suşları kullanılarak alüminyum hidroksit veya mineral yağ adjuvantlı otojen *S. aureus* bakterin ve bakterin+toksoid (kombine) aşılılar hazırlandı. Otojen *S. aureus* aşılılarının saha şartlarında kurudaki inek ve düvelerin kan ve süt serumlarındaki immünojenik etkinlikleri (antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin antikorların oluşumu), süteki somatik hücre sayıları ve meme içi *S. aureus* enfeksiyonları üzerine etkileri belirlenmeye çalışıldı. Denemeler, 7-8 aylık gebe 15 baş kurudaki Holstein inek ve 12 baş Holstein düve olmak üzere toplam 27 hayvan üzerinde gerçekleştirildi. Otojen *S. aureus* (bakterin ve kombine) aşılıları; meme üstü lenf düğümü bölgesinden deri altı veya sağ uyluk bölgesinden kas içi yolla 2 kez uygulandı. Kontrol grubu hayvanlara göre aşılana kurudaki inek ve düvelerin kan ve süt serumlarında yüksek titrede antistafilokokkal ($P<0.001$), anti α -hemolizin ($P<0.05$) ve anti β -hemolizin ($P<0.05$) antikorlar belirlendi. Aynı zamanda, aşıllı grupların sütlerindeki somatik hücre sayıları kontrol gruplarına göre daha düşük bulundu ($P<0.05$). Bir laktasyondaki *S. aureus* mastitisleri; aşıllı kurudaki ineklerde % 9.3-12.5 oranlarında iken kontrol grubunda % 15.6 oranında tespit edildi. Aşıllı düvelerde ise *S. aureus* mastitisleri % 8.3-12.5 oranlarında bulunurken aşısız düvelerde % 33.3 oranında belirlendi.

Anahtar Kelimeler : Mastitis, *Staphylococcus aureus*, aşı, sütçü inek

Summary: The aim of the study was to investigate autogenous *Staphylococcus aureus* vaccines in control of mastitis in dairy cows. Selected strains of *S. aureus* isolated from both clinical and subclinical cases were used to prepare autogenous *S. aureus* vaccines (bacterin and bacterin + toxoid) in aluminium hydroxide or mineral oil adjuvants. Sera and milk samples collected from dry cows and heifers were analysed for immunogenic activity of *S. aureus* vaccines by detection of antibody titers to staphylococcal antigens, α - and β -haemolysins, influence on somatic cell counts and intramammary *S. aureus* incidence. Experimental studies were carried out on a total 27 animals (pregnant for 7-8 months 15 dry cows and 12 heifers). Autogenous *S. aureus* vaccines were administered to cows by subcutaneous route in the area of supramammary lymph node or intramuscular route to semitendinous muscle. In comparison with control groups, antibody levels to staphylococcal antigens, and to the α - and β - haemolysins were significantly higher ($P<0.001$, $P<0.05$ and $P<0.05$, respectively) in the sera and whey from vaccinated cows. The average somatic cell count in the milk samples of vaccinated cows were also found to be significantly less ($P<0.05$) than nonvaccinated cows. The ratio for the *S. aureus* mastitis in a lactating period, in dry cows vaccinated bacterin and combined vaccines was 12.5 % and 8.3 %, respectively, 15.6 % in nonvaccinated dry cows. For the vaccinated heifers, the ratios were 9.3 %, 12.5 %, while 33.3 % in nonvaccinated heifers.

Key Words: Mastitis, *Staphylococcus aureus*, vaccine, dairy cow

Giriş

Mastitis, bütün dünyada süt hayvanlarının meme bezinde yangı ile karakterize, süt veriminin azalmasına, süt kalitesinin bozulmasına ve önemli derecede ekonomik kayıplara sebep olan bir hastalıktır (Bramley ve Dodd 1984, Philpot 1984).

Hastalık etkenlerinin polimikrobiyal dağılım göstermesi, hayvan-çevre ilişkisi ve kötü yönetim gibi çeşitli faktörler mastitisin eradikasyonunu imkansız hale getirmektedir (Smith 1983). Yavruların beslenmesi ve

insan sağlığı açısından mastitisli süt kullanımının sakinliği olması mastitisle mücadelede hayvanların korunmasını ön plana çıkarmaktadır (Colditz ve Watson 1985). Ülkemizde (Arda ve İstanbulluoğlu 1979, Arda ve İstanbulluoğlu 1980, Ateş ve ark 1991, Erganiş ve ark 1993, Erganiş ve ark 1995, Sezen ve ark 1986) ve dünyada (Craven ve ark 1986, Francis ve Carroll 1986, Jones 1993, Jonsson ve ark 1991) yapılan çalışmalara göre klinik mastitislerin % 60-65'ini ve subklinik mastitislerin % 80-85'ini stafilokoklar oluşturmaktadır. Özellikle *Staphylococcus aureus* süt

Geliş Tarihi : 23.12.2001 @: hhadimli@selcuk.edu.tr

* Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen aynı adlı doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir (Proje No: SABE-96/171).

¹Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kampüs-KONYA

veriminde önemli ölçüde azalmaya, somatik hücre sayısında artış ile sonuçlanan, tedavisi sınırlı ve maliyeti yüksek mastitislere sebep olmaktadır (DeGraves ve Fetrow 1993, Francis 1989).

Mastitis, toplam sığır hastalıklarının % 26'sını oluşturmaktadır (Philpot 1984, DeGraves ve Fetrow 1993). Ekonomik kaybın % 70-80'ini subklinik mastitiler, % 20-30'unu da klinik mastitiler oluşturmaktadır (Vestweber 1993, Miller ve ark 1993). Mastitis kontrol programları mastitislerin insidensini azaltmayı amaçlamakla beraber, kullanılan metotların maliyetinin yüksek olması, süt bileşimini ve kalitesini bozması ve bazen yetersiz kalması sebebiyle zaman zaman istenilen sonuçlar alınamamaktadır (Craven ve Williams 1985, John ve Dodd 1984). Bu yüzden, mastitisle mücadelede hem koruma hem de tedavide yeni metotların geliştirilmesi zorunlu olmaktadır (Vestweber 1994).

Stafilokokkal subklinik mastitislerin en az % 30'u antibiyotikler ile tedavi edilememekte ve/veya mastitis kontrol programları etkisiz kalabilmektedir (Gudding ve ark 1984, Moore ve Heider 1984). Bununla birlikte, stafilokokların meme dokusunda oluşturdukları mikroapselerin geçici olarak kapanması ile subklinik enfeksiyonların yaklaşık % 20'sinde herhangi bir tedavi uygulamaksızın, kendiliğinden iyileşme görülebilmektedir (Yancey 1993). Meme içi enfeksiyonların kendiliğinden iyileşmesi, çevredeki mikroorganizmaların immün sistemi uyarması ile belirli ölçüde meme bezinde ve süt sekresyonlarında humoral ve hücrel bağışıklığın oluşması ile açıklanabilmektedir (Nickerson 1993b).

Ruminantların meme bezi savunma sistemlerini desteklemek için spesifik mikroorganizmalardan hazırlanan aşılardan tek başına veya kombine şekilde verilmeleri ile kan ve süt serumlarında yeterli seviyede antikor oluşturulması amaçlanmaktadır (Nickerson ve ark 1991). Mastitis'te kullanılan veya geliştirilecek aşılardan; (Buddle ve Pulford 1983, Colditz ve Watson 1985, Widel 1994, Hadimli 1996, Calzolari ve ark 1997) mastitis sıklığını ve şiddetini azaltmalı, yeni meme içi enfeksiyonları engellemeli ve mevcut enfeksiyonları iyileştirebilmelidir. Stafilokokkal mastitislerin oluş-

turduğu kayıpların yüksek olması sebebiyle daha çok *S. aureus* aşı çalışmaları yapılmışsa da, *E. coli*, *Streptococcus ssp.* ve *Corynebacterium ssp.*'ler ile ilgili araştırmalarda bulunmaktadır (Colditz ve ark 1985).

Aşı çalışmalarında, antijen kaynağı olarak kullanılacak suşun yanlış seçimi, aşı materyalinin uygun yol ve kompozisyonda verilmemesi, uygun epitoplardan seçilememesi gibi unsurlar bağışıklamada başarısız olunmasına sebep olmaktadır (Nickerson ve ark 1985, Fırat ve Uysal 1988, Watson 1988). Ayrıca, aşının koruma süresi ve aşılama sonrası oluşabilecek yan etkilerinin bilinmesi gerekmektedir (Yancey 1993). Meme üstü lenf düğümü bölgesine aşılardan deri altı uygulanması, lenfatik dağılımdan dolayı burada sentezlenen antikorların meme sekresyonlarına yüksek seviyede geçişine izin vermesi nedeniyle lokal humoral ve hücrel bağışıklığı daha iyi uyarmaktadır (Calzolari ve ark 1997, Giraud ve ark 1997, Nonnecke ve ark 1986).

Stafilokokkal mastitis aşı çalışmalarında; çoğunlukla klinik ve subklinik mastitislerden izole edilen *S. aureus* suşları kullanılmaktadır (Watson 1988, Nickerson ve ark 1993, Nordhaug ve ark 1994a, Calzolari ve ark 1997, Giraud ve ark 1997). Bununla birlikte, koagülaz negatif stafilokokların kullanıldığı aşı çalışmalarında, *S. aureus* mastitislere karşı belirgin bir koruma sağlanamazken, koagülaz negatif stafilokokkal mastitislerin kontrolünde başarılı sonuçların alındığı ifade edilmektedir (Buddle ve Pulford 1983).

Bu çalışmada, stafilokokkal mastitislerin kontrolü için alüminyum hidroksit veya mineral yağlı adjuvantlarla kombine edilen otojen *S. aureus* (bakterin ve bakterin+toksoid) aşılı ile süt inekleri aşılandı. Saha şartlarında aşı hayvanların kan ve süt serumlarında antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin antikor titreleri, sütteki somatik hücre sayıları ve meme içi enfeksiyonların oranları üzerine aşılamının etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Çalışma, 7-8 aylık gebe 15 baş kuru dönemde Holstein inek ve 12 baş Holstein düve olmak üzere 27 sığır üzerinde gerçekleştirildi (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmaya alınan sığırların laktasyon durumu, otojen *S. aureus* aşı türleri, uygulama yerleri ve sayıları

Deneme Grupları	Aşı Türü	Enjeksiyon Şekli	Aşılı Grup	Kontrol Grup	Laktasyon Dönemi
Deneme 1a	Al(OH)3 Bakterin	Deri altı	4		Kuru
1b	Al(OH)3 Bakterin	Deri altı	3		Düve
Deneme 2	Mineral Yağlı Bakterin	Deri altı	6	3	Düve
Deneme 3	Al(OH)3 Bakt.+Toksoid	Kas içi	8	3	Kuru

Klinik ve subklinik mastitislerden izole edilen (Henslyl 1994) ve α ve β - hemolizin titreleri yüksek olan *S. aureus*'lar otojen aşılarda hazırlanmasında antijen kaynağı olarak kullanıldı.

Aşılama öncesi ve sonrası, 25. haftaya kadar 4 haftalık aralıklarla her hayvandan ayrı ayrı kan ve süt örnekleri toplandı. Süt örnekleri; somatik hücre sayısı ve bakteriyolojik yönden muayene edildi (Shalm 1971). Kan ve süt serumları, antistafilokokkal, anti α - ve β - hemolizin antikorlar yönünden incelendi.

S. aureus İzolatlarının hemolizin Özelliklerinin Belirlenmesi: *S. aureus* izolatları (her ünite için ayrı ayrı) Brain-Heart Infusion Broth (BHIB)'a ekilip 16-18 saat 37°C'de üretilirdi. Daha sonra 2500 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant sıvı alındı. Fizyolojik tuzlu su (FTS) ile süpernatant sıvı 1/2, 1/4,.....1/1024 şeklinde sulandırıldı.

α Hemolizin aktivitesinin belirlenmesi için; üzerilerine eşit miktarda % 1'lik yıkanmış tavşan eritrositi ilave edildi. 37°C'lik su banyosunda 1 saat tutularak tam hemoliz veren dilüsyon tespit edildi (Firat ve Uysal 1988).

β Hemolizin aktivitesinin belirlenmesi için; üzerilerine eşit miktarda % 1'lik yıkanmış koyun eritrositi ilave edildi. 37°C'lik su banyosunda 1 saat ve 4°C'de bir gece tutularak tam hemoliz veren dilüsyon tespit edildi (Firat ve Uysal 1988).

Otojen Aşıların Hazırlanması : Aşı izolatu olarak belirlenen *S. aureus* suşlarından (her ünite için ayrı) otojen aşılarda hazırlandı.

Bakterin Aşıların Hazırlanması : Aşı suşu *S. aureus* izolatları % 7 koyun kanlı agar'a ekilip 37°C'de 16-18 saat inkübe edilerek saf olarak üretilirdi. Üretilen taze kültürden birkaç koloni %10 steril süt serumu (yağsız inek sütü rennin ile presipite edildi ve üst sıvı 0.45 mm'lik milpor filtreden süzülerek elde edildi) içeren Nutrient Broth'a ekildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen kültür 6000 rpm'de 1'er saat santrifüj edilerek 3 kez PBS ile yıkandı. Bakteriyel konsantrasyonu spektrofotometre ve bakteri koloni sayım yöntemi ile karşılaştırılarak 1x10⁹ bakteri/ml ayarlandı. Bakteriyel süspansiyonun içerisine son konsantrasyonu % 0.3-0.5 olacak şekilde (% 37'lik formaldehit (Merck) % 100'lük kabul edilerek hazırlanan) formalin katılarak inaktive edildi (Opdebeeck ve Norcross 1985, Watson 1988, Watson 1992, Nickerson ve ark 1993, Nordhaug ve ark 1994b, Erganiş ve İstanbulluoğlu 1999). Otojen aşılarda kullanım solüsyonları için; 1 kısım (1 ml) bakterin aşı materyali + 1 kısım (1 ml) mineral yağ adjuvant (Span80 7.42 kısım+Span20 2.16 kısım+Tween80

(Span80 7.42 kısım+Span20 2.16 kısım+Tween80 2.37 kısım+Marcol 84.05 kısım) ile mekanik bir karıştırıcıda (mikser) homojenize edildi. Bir kısım (1 ml) bakterin aşı materyali + 1 kısım (1 ml) alüminyum hidroksit jeli (% 20'lik) alınarak manyetik karıştırıcıda homojenize edildi.

Kombine (Bakterin+Toksoid) Aşıların Hazırlanması : Aşı suşu *S. aureus* izolatları BHIB'a ekilip 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Üreyen kültür santrifüj edilerek toplandı ve üstteki süpernatant sıvının α - ve β -hemolizin titreleri belirlendikten sonra son konsantrasyonu % 0.3-0.5 olacak şekilde (% 37'lik formaldehit (Merck) % 100'lük kabul edilerek hazırlanan) formalinle inaktive edilerek toksoid aşı hazırlandı (Firat ve Uysal 1987, Watson 1988, Watson 1992). Kombine aşının kullanım solüsyonu için; 1 kısım (1 ml) bakterin aşı materyali + 1 kısım (1 ml) *S. aureus* α - ve β -toksoidi + 2 kısım (2 ml) alüminyum hidroksit jeli (%20'lik) alınarak manyetik karıştırıcıda homojenize edildi.

Aşıların Sterilite, Zararsızlık ve Toksikite Kontrolleri : Bir ml aşı materyali BHIB'a ekildi ve 37°C'de 1 hafta etüvde tutuldu. BHIB'dan preparat hazırlanarak gram boyama yapıldı ve farklı katı besiyerlerine ekim yapılarak üremenin olup olmadığı tespit edildi. Zararsızlık ve toksisite kontrolleri ise; 3 yetişkin beyaz fareye 0.2 ml aşı materyali deri altı enjekte edildi ve 1 hafta gözlemlendi. Farelerde klinik semptomlar görülmemesi ve canlı kalması sonucu aşılarda güvenli olduğu kanaatine varıldı (Sears 1984, Erganiş ve İstanbulluoğlu 1999).

Otojen Aşıların Uygulanması : Kurudaki İnekler; doğuma 8 ve 4 hafta kala alüminyum hidroksit (Al₂(OH)₃) jelli otojen bakterin aşı 5 ml miktarında meme üstü lenf düğümü bölgesinde deri altı ve otojen kombine aşı sağ uyluk bölgesinde kas içi yolla 2 kez uygulandı (Nickerson ve ark 1993, Nordhaug ve ark 1994b).

Düveler; doğuma 8 ve 4 hafta kala mineral yağlı ve alüminyum hidroksit jeli içeren otojen bakterin aşılarda 5 ml miktarında meme üstü lenf düğümü bölgesinde deri altı yolla 2 kez uygulandı (Watson 1984, Watson 1992).

Aşıların İneklerdeki İmmünojenitelerinin Serolojik Testlerle Belirlenmesi

Antistafilokokkal Titrelerin Mikro Serum Aglutinasyon Testi (mSAT) ile Belirlenmesi : Doğum sonrası 25. haftaya kadar aşı ve aşısız ineklerin kan ve süt serumlarındaki antistafilokokkal antikor titreleri mSAT ile belirlendi. (Nickerson ve ark 1993, Erganiş ve ark 1997). mSAT; 96 gözlü U tabanlı mikropleytler

lerine 50 ml FTS dağıtıldı. Daha sonra birinci göze 20 ml kan veya süt serumu kondu, homojen şekilde karıştırıldı. Birinci gözden 2. göze 50 ml dilüsyon aktarılmak suretiyle son göze kadar serumun 2 katlı sulandırması yapıldı. Serum sulandırmalarının üzerine (her ünite için ayrı ayrı aşı suşlarından hazırlanan) stafilokokkal tüp aglütinasyon antijeninden 50 ml ilave edildikten sonra mikropleytler 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Çıkan sonuçlar normal sayılara çevrildi (örneğin, 1/10=0, 1/20=1, 1/40=2,.....1/10240=11) ve geometrik ortalamaları alınarak değerlendirildi (Nickerson ve ark 1993, Erganiş ve ark 1997).

Anti Hemolizin Titrelelerinin Belirlenmesi : Mikropleytlerin tüm gözlerine 50 ml FTS dağıtıldı ve 1. göze 50 ml kan veya süt serumu ilave edildi. Daha sonra 1. gözden 2. göze 50 ml dilüsyon aktarılmak suretiyle son göze kadar serumun 2 katlı sulandırmaları yapıldı (Fırat ve Uysal 1988).

Anti α -hemolizin Titrelelerinin Belirlenmesi; serum sulandırmaları üzerine (her ünite için ayrı ayrı kullanılan aşı suşlarından hazırlanan) titresi belli α -hemolizin ilave edildi ve oda ısısında 20 dakika bekletildi. Sürenin sonunda tüm gözlere 50 ml % 1'lik yıkanmış tavşan eritrositi ilave edildi ve 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 1 saat bekletildi (Fırat ve Uysal 1988). Çıkan sonuçlar normal sayılara (örneğin, serumun kendisi=1, 1/2=2, 1/4=3,.....1/1024=11) çevrildi ve geometrik ortalamaları alınarak değerlendirildi (Erganiş ve ark 1997).

Anti β -hemolizin Titrelelerinin Belirlenmesi; serum sulandırmaları üzerine (her ünite için ayrı ayrı kullanılan aşı suşlarından hazırlanan) titresi belli β -hemolizin ilave edildi ve oda ısısında 20 dakika bekletildi. Sürenin sonunda tüm gözlere 50 ml % 1'lik yıkanmış koyun eritrositi ilave edildi ve 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 1 saat ve 4°C'de 1 gece

bekletildi (Fırat ve Uysal 1988). Çıkan sonuçlar normal sayılara (örneğin, serumun kendisi=1, 1/2=2, 1/4=3,.....1/1024=11) çevrildi ve geometrik ortalamaları alınarak değerlendirildi (Erganiş ve ark 1997).

Aşıların Sütteki Somatik Hücre Sayıları (SHS) Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi : Doğum sonrası 25. haftaya kadar aşı ve aşısız ineklerin her meme lobundan ayrı ayrı toplanan sütlerinden hazırlanan preparatlar SHS boyama solüsyonu (metilen mavisi 0,6 gr, %95 Etil alkol 54 ml, Glasiyal asetik asit 6 ml, Asetonitril (Tetrakloretan) 40 ml) ile boyandı ve 1 ml'deki SHS belirlendi (IDF 1981, Erganiş ve Hadimli 1996).

Aşıların Meme İçi Enfeksiyonlar Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi : Doğum sonrası 25. haftaya kadar aşı ve aşısız ineklerden alınan süt örneklerinin bakteriyolojik muayenesi ile bir laktasyon dönemindeki mastitislerin oranları belirlendi.

İstatistiksel Analizler : Çalışmanın verilerinin istatistiksel analizi Minitab programında "two samples t" testi ile (Jarvis 1993) yapıldı.

Bulgular

Aşı Suşlarının Seçimi : Deneme gruplarındaki klinik ve subklinik mastitisli ineklerden izole edilen *S. aureus* suşları arasında α - ve β -hemolizin titreleri en yüksek bulunan suşlar (her ünite için ayrı ayrı) otojen aşıların hazırlanmasında antijen kaynağı olarak kullanıldı (Tablo 2).

Tavşanlarda Hazırlanan Hiperimmün Serumların Titreleleri : Tavşanlarda her ünite için ayrı ayrı hazırlanan antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin antikor titreleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin hiperimmün serumların sonuçları serolojik testlerde pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Kurudaki İnek ve Düvelerde Antistafilokokkal Antikor Titrelelerinin Varlığı

Tablo 2. Otojen aşı suşu seçilen *Staphylococcus aureus* izolatlarının α - ve β -hemolizin titreleri

Deneme Grupları	Her Deneme Grubundan ¹		α -hemolizin	β -hemolizin
	İzole Edilen <i>S. aureus</i>	Seçilen <i>S. aureus</i> ²		
1 (n 10)	6	No 5	1/64	1/32
2 (n 8)	5	No 4	1/32	1/32
3 (n 10)	5	No 4	1/128	1/64

¹ Çalışma öncesi klinik ve subklinik mastitisli süt örneklerinden izole edilen ve seçilen *S. aureus* suşları.

² *S. aureus* suşları her deneme grubu içerisinde ayrı ayrı numaralandırıldı.

Tablo 3. Otojen aşı suşu *S. aureus* izolatlarının tavşanlardaki antistafilokokkal, α - ve β - antihemolizin hiperimmün serumların titreleri ¹ (Her ünite için 3'er tavşan kullanıldı)

Deneme	Antistafilokokkal Titreletir		Anti hemolizin Titreletir	
	mSAT	LAT	α - Hemolizin	β - Hemolizin
1	1/2560	+++	1/16	1/16
2	1/1280	++	1/8	1/8
3	1/5120	+++	1/64	1/16

¹ Tavşanlara stafilokokkal antijenler ve α ve β hemolizinlerin son kez verildikten 15 gün sonra alınan serumların titreletir ortalamaları

Doğumdan 8 ve 4 hafta önce, alüminyum hidroksitli bakterin aşı (Deneme 1a) ile deri altı ve kombine aşı ile kas içi (Deneme 3) aşılanan kurudaki ineklerin; aşılama öncesi kan ve doğumu takiben 1., 5., 9., 13., 17., 21. ve 25. haftalarda alınan kan ve süt serumlarındaki antistafilokokkal antikor titreletir Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. Bakterin (Deneme 1a) ve kombine (Deneme 3) aşılar ile aşılanan kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında mSAT ile antistafilokokkal antikor titreletir kontrol gruplarına göre ($P<0.001$) daha yüksek belirlendi (Şekil 1 ve 2). Bununla birlikte, aşıli ineklerin kan ve süt serumlarında antistafilokokkal titreletir arasında farklılıklar bulunmakla birlikte istatistiksel olarak önemsizdi ($P>0.05$).

Alüminyum hidroksitli (Deneme 1b) ve mineral yağlı (Deneme 2) bakterin aşılar ile doğuma 8 ve 4 hafta kala deri altı aşılanan düvelerin, aşılama öncesi kan ve doğumu takiben 1., 5., 9., 13., 17., 21. ve 25. haftalarda alınan kan ve süt serumlarında antistafilokokkal antikor titreletir Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu düvelere göre aşıli düvelerin kan ve süt serumlarında antistafilokokkal antikor titreletir ($P<0.001$) daha yüksek tespit edildi (Şekil 1 ve

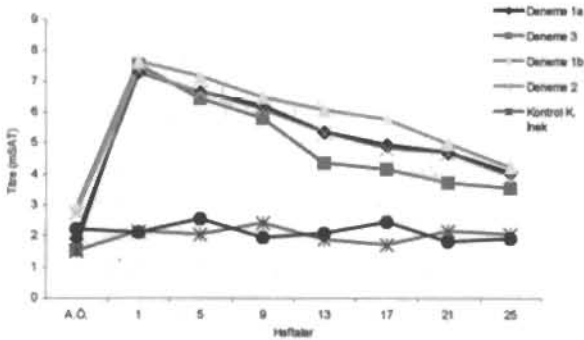
2).

Aşıli kurudaki inek ve düvelerin kan ve süt serumlarındaki antistafilokokkal titreletirdeki farklılıklar istatistiksel olarak önemsizdi ($P>0.05$). Kuru inek ve düvelerde; sütte en yüksek antistafilokokkal antikor titreletir doğumdan sonra 1. haftada alınan örneklerde (kolostrumda) gözlemlendi. İleriki haftalardaki örneklemelerde belirli düşüşlerle karşılaşıldı (Şekil 1 ve 2).

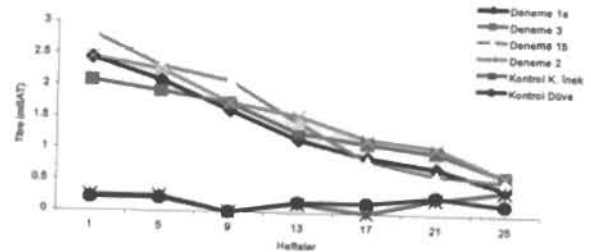
Kurudaki İnek ve Düvelerde Anti α -hemolizin Antikor Titreletirinin Varlığı

Bakterin aşı (Deneme 1a) ve kombine aşı (Deneme 3) ile aşılanan kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında aşılama ile oluşan anti α -hemolizin antikor titreletir Şekil 3 ve 4'de gösterilmiştir. Bakterin aşı (Deneme 1a) ve kombine aşı (Deneme 3) ile aşılanan kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında aşılama öncesi ve kontrol grubu ineklere göre yüksek titrede anti α -hemolizin antikor oluşumu tespit edildi ($P<0.05$) (Şekil 3 ve 4). Bakterin aşıli ineklere göre kombine aşı ile aşılanan kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında anti α -hemolizin antikor titreletirinin daha yüksek olduğu belirlendi.

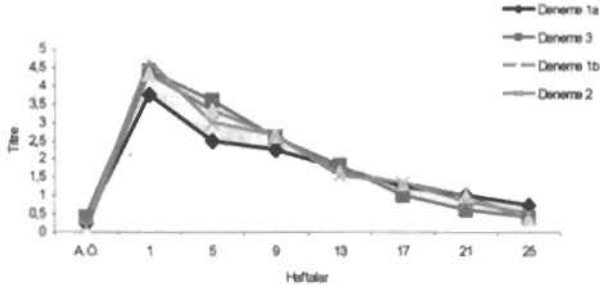
Alüminyum hidroksit (Deneme 1b) ve mineral



Şekil 1. Otojen *S. aureus* Aşıları ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Kan Serumlarındaki Antistafilokokkal Antikor Titreletir



Şekil 2. Otojen *S. aureus* Aşıları ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Süt Serumlarındaki Antistafilokokkal Antikor Titreletir



Şekil 3. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Kan Serumlarındaki Anti Alfa-hemolizin Antikor Titreleri

yağ (Deneme 2) adjuvantlı Bakterin aşılı ile aşılanan düvelerin kan ve süt serumlarındaki anti α -hemolizin antikor titreleri grafik 3 ve 4'de gösterilmiştir. Aşılama öncesi ve kontrol grubu hayvanlara göre yüksek titrede antikor oluşumu belirlendi ($P < 0.05$). Bununla birlikte aşılı düvelerin (Deneme 1b ve 2) kan ve süt serumlarındaki değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsizdi ($P > 0.05$; Şekil 3 ve 4).

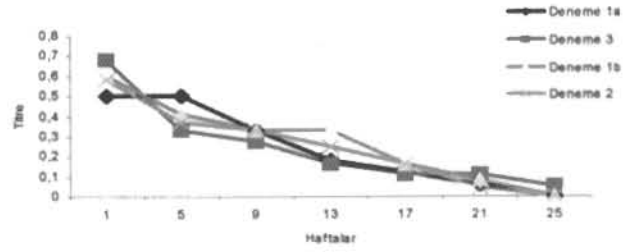
Kurudaki inek ve Düvelerde Anti β -hemolizin Antikor Titrelerinin Varlığı

Bakterin aşılı (Deneme 1a) ve kombine (Deneme 3) ile aşılanan kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında aşılama ile oluşan anti β -hemolizin antikor titreleri Şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir. Bakterin aşılı (Deneme 1a) ve kombine aşılı (Deneme 3) ile aşılanan kurudaki ineklerin kan serum ve süt serum örneklerinde aşılama öncesi ve kontrol grubu ineklere göre yüksek titrede anti β -hemolizin antikorlar belirlendi ($P < 0.05$; Şekil 5 ve 6).

Alüminyum hidroksit (Deneme 1b) ve mineral yağ (Deneme 2) adjuvantlı bakterin aşılı ile aşılanan düvelerin kan ve süt serumlarındaki anti β -hemolizin antikor titreleri Şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir. Aşılama öncesi ve kontrol grubu hayvanlara göre yüksek titrede antikorlar belirlendi ($P < 0.05$). Mineral yağ adjuvantlı aşılı ile aşılanan düvelerin (Deneme 2) süt serum örneklerinde daha yüksek titrede antikor tespit edildi (Şekil 6). Bununla birlikte, aşılı düvelerin değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P > 0.05$).

Otojen *S. aureus* Aşılıların Somatik Hücre Sayıları (SHS) Üzerine Etkileri

Otojen *S. aureus* aşılı ile aşılanan kurudaki inek (Deneme 1a ve 3) ve düvelerin (Deneme 1b ve 2) kolostrum örneklerinde yüksek değerlerdeki so-



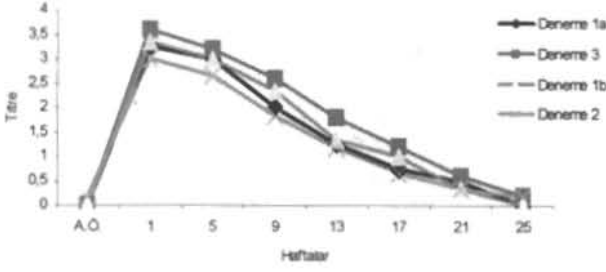
Şekil 4. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Süt Serumlarındaki Anti Alfa-hemolizin Antikor Titreleri

matik hücre sayıları fizyolojik olarak normal kabul edildi.

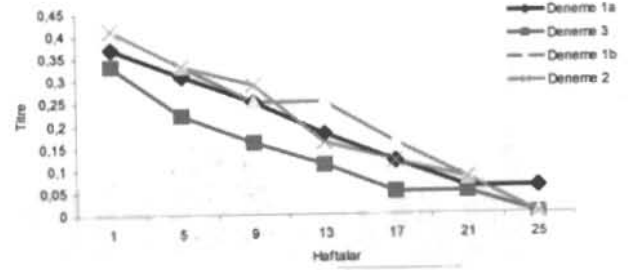
Aşılı ve kontrol grubu ineklerin sütlerindeki somatik hücre sayıları (SHS) Şekil 7'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ineklere göre bakterin aşılı ile aşılı (Deneme 1a) ineklerden alınan süt örneklerindeki somatik hücre sayılarının 9. haftadan itibaren daha düşük değerlerde belirlendi (Şekil 7) ($P < 0.05$). Bununla birlikte, kombine aşılı ile aşılı (Deneme 3) ve kontrol grubu ineklerin sütlerindeki somatik hücre sayıları arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığı görüldü ($P > 0.05$) (Şekil 7).

Bakterin aşılı ile aşılanan düvelerin (Deneme 1b ve 2) ve kontrol grubu düvelerin sütlerindeki somatik hücre sayıları Şekil 7'de gösterilmiştir. Kontrol grubu düvelere göre aşılı düvelerin sütlerindeki somatik hücre sayıları 5. haftadan itibaren daha düşük olduğu gözlemlendi ($P < 0.05$).

Otojen *S. aureus* Aşılıların Kurudaki İnek ve Düvelerde Meme İçi Enfeksiyonları Üzerine Etkileri : Bakterin (Deneme 1a) aşılı ve kombine (Deneme 3) aşılı ile aşılanan kurudaki ineklerde; doğum sonrası bir laktasyondaki *S. aureus* mastitisleri; % 9.3-12.5 oranlarında belirlendi (Tablo 4). Bununla birlikte, aşısız ineklerde ise bir laktasyondaki *S. aureus* mastitisi % 15.6 oranında bulundu. Ayrıca, Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS), *E. coli*, *Streptococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, *Bacillus ssp. Act. pyogenes* ve *Pseudomonas ssp.* türü mikroorganizmalarda izole edildi (Tablo 4). Bakterin aşılı ile aşılanan düvelerde (Deneme 1b ve 2) doğum sonrası bir laktasyondaki *S. aureus* mastitisleri; % 8.3-12.5 oranlarında belirlendi (Tablo 5). Bununla birlikte, aşısız düvelerde ise bir laktasyondaki *S. aureus* mastitisi % 33.3 oranında bulundu. Ayrıca, KNS, *E. coli*, *Streptococcus ssp.*, *Enterobacter ssp.*, *Act. pyogenes*, *Pseudomonas ssp.*, *Corynebacterium ssp.*, *Bacillus ssp.* ve *Aspergillus*



Şekil 5. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Kan Serumlarındaki Anti Beta-hemolizin Antikor Titreleleri



Şekil 6. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Süt Serumlarındaki Anti Beta-hemolizin Antikor Titreleleri

ssp. türü mikroorganizmalarda izole edildi (Tablo 5).

Tartışma ve Sonuç

Mastitis, süt üreticiliği yapılan dünyanın her yerinde görülebildiği gibi ülkemizde de sıklıkla karşılaşılmaktadır (Erganiş ve Uçan 2001). Mastitisi oluşturan etkenler polimikrobiyel bir dağılım göstermekle birlikte klinik mastitislerin % 60-65'ini ve subklinik mastitislerin % 80-85'ini stafilokoklar oluşturmaktadır. Özellikle *S. aureus* önemli ölçüde süt veriminde azalma, somatik hücre sayılarında artış, tedavisi sınırlı ve maliyeti yüksek mastitisleri oluşturmaktadır. Mastitislerin insidensini azaltmak için geliştirilen mastitis kontrol programlarına rağmen *S. aureus*'lar daima bir problem teşkil etmektedir (Ateş ve ark 1991, Erganiş ve ark 1993, Francis ve Carroll 1986, Moore ve Heider 1984).

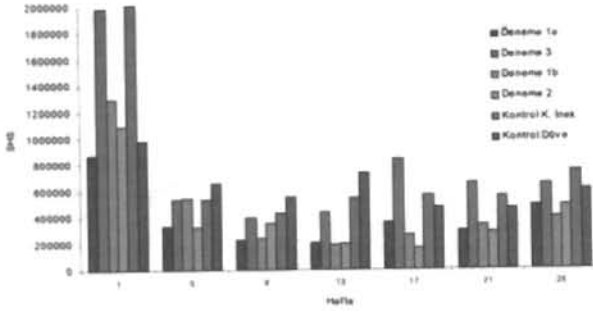
Mastitislerin kontrolü için; geliştirilmiş sürü yetiştirme programları, sağım ve sağım ekipmanı hijyeni, teat dipping uygulamaları, kuru dönem ve/veya laktasyonda döneminde oluşan mastitislerin antibiyotiklerle tedavisi, sürülerdeki hayvanların belirli dönemlerde muayeneleri ile sağlıklı ve hasta hayvanların belirlenmesi gibi kontrol programları kullanılmaktadır (Philpot 1984). Ayrıca, sağmal ineklerin meme bezi içerisine spiral takılması, kuru döneme geçerken meme bezinin involusyonunun hızlandırılması, immünmodülatör preparatların (Levamisol, Baypamun, vs), vitamin ve mineral maddeler ilavesi ve sitokinlerin kullanılması ile meme bezinin savunma sistemleri non-spesifik olarak artırılmaya çalışılmaktadır (Craven ve Colditz 1985, Nickerson 1993a, Nickerson 1993b).

Mastitislerin aşılama ile eradikasyonu veya kontrolü araştırmacılar için daima ulaşılmaz bir hedef olarak görülmektedir (Yancey 1993). Aşılama ile leptospiroz, bruselloz vb sistemik hastalıkların eradikasyonu mümkün olabilirken, mastitiste ise yeni

meme içi enfeksiyonların oranlarının azaltılması, mastitis şiddetinin hafifletilmesi ve süresinin kısaltılması istenmektedir (Hadimli 1996, Widel 1994, Yancey 1993).

Opdebeeck ve Norcross (1985), *S. aureus* bakterin aşı ile doğuma 7 gün kala deri altı aşılama kurudaki ineklerin ELISA ile kan ve süt (serum 1.750, kolostrumda 12.338) serumlarında kontrol gruplarına (serum 128 ve kolostrum 700) göre anti-stafilokokkal antikorların daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Nickerson ve ark (1993), *S. aureus* bakterin aşı ile 6 hafta arayla 2 kez kas içi ve deri altı aşılama kurudaki Jersey ineklerin kan ve süt serumlarında ELISA ile aşısız ineklere göre 4.7 kat daha yüksek antistafilokokkal antikor titrelerini, 2. aşılama ile titrelerin daha da yükseldiğini ve kas içi ve deri altı aşılamanın antikor titrelerinde istatistiksel bir farklılık oluşturmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar (Nickerson ve ark 1993), aşı ve kontrol grubu ineklerin sütlerindeki somatik hücre sayıları arasında istatistiksel bir farklılık olmamakla birlikte deri altı aşılama ineklerde daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir. İkinci aşılama 4 hafta sonra yapılan *S. aureus* epruvasyonunda; kontrol grubu ineklerin % 91.7'sinde ve aşı ineklerin (kas içi % 36.4 ve deri altı % 60.0) % 47.6'sında yeni *S. aureus* mastitisi oluştuğunu ve mastitislerin aşı gruplarında % 48.1 (kas içi % 60.3 ve deri altı % 34.7) oranında iyileşme rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, kontrol grubu ineklere (2.14 ve 0.25) göre alüminyum hidroksitli bakterin aşı ile deri altı aşılama kurudaki ineklerin (Deneme 1a) kan ve süt serumlarında (7.31 ve 2.43) daha yüksek titrede antistafilokokkal antikorlar tespit edildi ($P < 0.001$) (Şekil 1 ve 2). Opdebeeck ve Norcross (1985a) aşı ineklerin kolostrum ve serumunda yüksek titre, Nickerson ve ark (1993) ise kontrollere göre aşı ineklerin kan ve süt serumlarında 4.7 kat daha yüksek antistafilokokkal antikorları belirlemişlerdir. Bu çalışma ile



Şekil 7. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İnek ve Düvelerin Sütlerindeki Somatik Hücre Sayıları

araştırmacıların (Opdebeek ve Norcross 1985a, Nickerson ve ark 1993) çalışmalarında aşılı ineklerin özellikle kolostumda antikor titrelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Aşılı kurudaki ineklerin kan ve süt serumlarında antistafilokokkal ($P<0.001$), anti α -hemolizin ($P<0.05$) ve anti β -hemolizin ($P<0.05$) titreleri oldukça yüksek bulundu (Şekil 3-6). Aşılı kurudaki ineklerin sütlerindeki somatik hücre sayılarının daha düşük olduğu gözlemlendi (Şekil 7). Nickerson ve ark (1993), aşılı ve aşısız ineklerin sütlerindeki somatik hücre sayıları arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığını bildirirken, bu çalışmada kontrol ve aşılı gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi ($P<0.05$).

Doğum sonrası bir laktasyon döneminde şekillenen toplam *S. aureus* mastitis oranları; bakterin (Deneme 1a) ve kombine (Deneme 3) aşılı ineklerde % 12.5-9.3 ve kontrol grubu ineklerde % 15.6 olarak belirlendi (Tablo 4). Bakterin aşı ile aşılanan ineklere göre (Deneme 1a %12.5) kombine aşı ile aşılanan ineklerde (Deneme 3 % 9.3) *S. aureus* mastitisleri daha düşük oranda belirlendi. Nickerson ve ark (1993), eprüvasyon sonrası aşılı gruplarda yeni *S. aureus* mastitis oranlarını düşük (% 47.6), iyileşen *S. aureus* mastitis oranını daha yüksek ve özellikle deri altı aşılama (% 34.7) göre kas içi aşılamanın (% 60.3) daha iyi olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, deri altı aşılama ineklerdeki (% 12.5) *S. aureus* mastitis oranı kontrol grubu (% 15.6) ve araştırmacıların (Nickerson ve ark 1993) sonuçlarından daha düşük bulundu.

Watson (1984), klinik mastitisten izole edilen, hemoliz özelliğini kaybedinceye kadar pasajlayıp atene ettiği *S. aureus*'u (1×10^{10} bakteri/ml) düvelere deri altı verdiğini, aşılama öncesi ve aşısız hayvanlara göre aşılı düvelerin kan ve süt serumlarında anti-stafilokokkal IgG₂ antikor titresini 2.7 kat daha

fazla bildirilmiştir. Ayrıca, *S. aureus*'un eprüvasyon sonrası süt serumlarında antikor seviyesinin 8 kat arttığını, aşılı grupta da *S. aureus* mastitisinin oluşmadığını belirtmiştir. Araştırmacı (Watson 1984), eprüvasyon sonrası somatik hücre sayılarında geçici bir yükselme olduğu, fakat gruplar arasında belirgin farklılık olmadığını rapor etmiştir. Nourdhaug ve ark (1994b), inaktif pseudokapsüllü, a ve b toksoid ihtiva eden, mineral yağlı aşı ile doğumdan 8 ve 4 hafta önce gebe düveleri deri altı aşıladıklarını; 1. ve 2. aşılama sonrası ELISA ile *S. aureus* pseudokapsüle karşı (özellikle kolostumda) yüksek titrede IgG₁ ve IgG₂ (toplam IgG) antikorları, a ve b toksoide karşı oluşan IgG antikorları belirlemişler ve yaklaşık 120. güne kadar titreleri tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (Nourdhaug ve ark 1994b) 2. aşılamanın antikor titrelerinin daha uzun süreli olmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, aşılı düvelerin % 5.2'si ve kontrol grubu düvelerin % 14.0'ü ≥ 500.000 hücre/ml iken, aşılı düvelerin % 51.7'si ve aşısız düvelerin % 40.0'nin <100.000 hücre/ml altında olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, aşılama sonrası *S. aureus* mastitisleri aşılı düvelerde % 10.8 kontrol grubunda % 14.5 oranlarında belirlenmiştir. Giraudo ve ark (1997), klinik mastitislerden izole edilen *S. aureus* inaktif kapsüllü *S. aureus*, subklinik mastitislerden izole edilen kapsülsüz *S. aureus* hücreleri, *S. aureus* ekso polisakarit ekstraktı ve *Streptococcus* ssp. hücrelerini ihtiva eden aşı ile doğum öncesi 8. ve 4. hafta ve doğum sonrası 1. ve 5. haftalarda deri altı aşıladıkları ve kontrol grubu düvelerin süt örneklerindeki somatik hücre sayıları arasında farklılığın olmadığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar (Giraudo ve ark 1997), doğum sonrası 7 ay boyunca alınan süt örneklerinde *S. aureus* mastitisleri doğum öncesi % 6.7, doğum sonrası % 6.0 aşılı düvelerde ve aşısız düvelerde % 18.8 oranlarında bulmuşlardır.

Bu çalışmada, Kontrol grubuna göre alüminyum hidroksitli veya mineral yağlı bakterin aşılı ile deri altı aşılama düvelerin kan ve süt serumlarında daha yüksek titrede antistafilokokkal, anti α -hemolizin ve anti β -hemolizin titreleri belirlendi (Şekil 3-6). Nourdhaug ve ark (1994b) kontrol gruplarına göre aşılı düvelerin kan ve süt serumlarında ELISA ile antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin antikorlarının belirlendiği çalışma ile bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, alüminyum hidroksitli ve mineral yağlı bakterin aşı ile kas içi ve deri altı aşılama sağmal, kurudaki inek ve düvelerin kan ve süt serumları arasında antistafilokokkal, anti α - ve β -hemolizin antikorları yönünden farklılıklar istatistiksel olarak önemsizdi ($P>0.05$). Aşılı kurudaki inek ve düvelerin kolostum (1. hafta) örneklerinde en yüksek seviyede antikor tit-

Tablo 4. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Kurudaki İneklerde Meme içi Enfeksiyonların Durumu

Enfeksiyonlar*	Al ₂ (OH) ₃ 'li				Kontrol	
	Bakterin		Kombine		İnek n=3 n %	Meme lobu n=12 n %
	İnek n=4 n %	Meme lobu n=16 n %	İnek n=8 n %	Meme lobu n=32 n %		
<i>S. aureus</i>	2 (50)	2 (12.5)	2 (25)	3 (9.3)	1 (33.3)	2 (15.6)
KNS	1 (25)	2 (12.5)	1 (12.5)	2 (6.25)	1 (33.3)	2 (16.6)
<i>Streptococcus ssp.</i>	-	-	2 (25)	2 (6.25)	-	-
<i>E. coli</i>	1 (25)	1 (6.25)	-	-	-	-
<i>Act. pyogenes</i>	-	-	1 (12.5)	1 (3.1)	-	-
<i>Pseudomonas ssp.</i>	-	-	-	-	1 (33.3)	1 (8.3)
<i>Enterobacter ssp.</i>	1 (25)	1 (6.25)	-	-	-	-
<i>Basillus ssp.</i>	-	-	1 (12.5)	1 (3.1)	-	-

*Bazı meme loblarından birden fazla mikroorganizma izole edildi.

Tablo 5. Otojen *S. aureus* Aşılı ile Aşılanan Düvelerde Meme içi Enfeksiyonların Durumu

Enfeksiyonlar*	Al ₂ (OH) ₃ 'li Bakterin Deneme 1c		M. Yağlı Bakterin Deneme 2b		Kontrol	
	İnek n=3 n %	Meme lobu n=12 n %	İnek n=6 n %	Meme lobu n=24 n %	İnek n=3 n %	Meme lobu n=12 n %
	<i>S. aureus</i>	1 (33.3)	1 (8.3)	1 (33.3)	3 (12.5)	2 (66.6)
KNS	2 (66.6)	3 (25)	1 (15.6)	1 (4.1)	1 (33.3)	2 (15.6)
<i>Streptococcus ssp.</i>	-	-	1 (15.6)	1 (4.1)	-	-
<i>E. coli</i>	1 (33.3)	1 (8.3)	-	-	1 (33.3)	1 (8.3)
<i>Enterobacter ssp.</i>	-	-	-	-	-	1 (8.3)
<i>Corynebacterium ssp.</i>	1 (33.3)	1 (8.3)	-	-	-	-
<i>Aspergillus ssp.</i>	-	-	1 (15.6)	1 (4.1)	-	-
<i>Basillus ssp.</i>	-	-	1 (15.6)	1 (4.1)	-	-

*Bazı meme loblarından birden fazla mikroorganizma izole edildi.

resi belirlendi.

Kontrol grubuna göre aşılı düvelerin sütlerindeki somatik hücre sayılarının daha düşük olduğu gözlemlendi (Şekil 7). Watson (1984) attenüe aşının somatik hücre sayısında artış yapabileceği ile açıklanırken, Nourdhaug ve ark (1994a)'ın elde ettiği sonuçlarla benzerlik tespit edildi.

Doğum sonrası laktasyon döneminde şekillenen toplam *S. aureus* mastitisleri; aşılı düvelerde % 8.3-

12.5 ve kontrol grubu düvelerde % 33.3 olarak belirlendi (Tablo 5). Kontrol gruplarına göre aşılı gruplarda *S. aureus* mastitislerin daha düşük oranlarda olduğunu ifade edilmiştir (Nourdhaug ve ark 1994b, Giraudo ve ark 1997). Bu çalışmada aşılı düvelerde tespit edilen oranların, Nourdhaug ve ark (1994b)'nın aşılı düvelerde %14.5 olarak bulunduğu oranından düşük, Giraudo ve ark (1997)'nin % 6.0 ve % 6.7'lik bulgularından yüksek bulundu.

Sonuç olarak, değişik adjuvantlı ve içerikli aşıların kurudaki inek ve düvelere farklı uygulamaları ile elde edilen sonuçları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edildi. Aşısız hayvanlara göre aşıli hayvanlarda *S. aureus* mastitis oranlarının daha düşük çıkması mastitise karşı aşılanmanın olumlu etkisini göstermektedir. Bununla birlikte, bu çalışma ve diğer araştırmaların sonuçlarına göre etkenin eradikasyonu gerçekleştirilememiş olup sadece meme içi enfeksiyon oranlarında bir düşme sağlanabilmiştir. Mastitisin bütünüyle eradikasyonu mümkün olmamakla birlikte, mastitis kontrol programları ve aşılanma ile başarılı sonuçlar alınması mümkün olabilmektedir.

Kaynaklar

- Arda, M. ve İstanbulluoğlu, E. (1979) Mastitislere sebep olan Anaerob, Aerob, Mycoplasma ve Mantarların izolasyonu, identifikasyonu ve bunlara etkili olan antibiyotiklerin saptanması. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 26, 3-4:14-29.
- Arda, M. ve İstanbulluoğlu, E. (1980) Mastitislere sebep olan Aerobik-Mikroaerofilik, Anaerobik bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu üzerinde çalışmalar. TÜBİTAK VHAG-304, Kesin Rapor.
- Ateş, M., Erganiş, O., Çorlu, M. ve Serpek, B. (1991) Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDH aktivitesi. Doğa, Tr. Vet. Animal Sci. 47; 152-157.
- Bramley, A.J. and Dodd, F. H. (1984) Reviews of the progress of dairy science: mastitis control – progress and prospects. J. Dairy Res. 51,481-512.
- Buddle, B.M. and Pulford, H.D. (1983) Vaccination against staphylococcal mastitis.(Letter to the Editor), New Zea. Vet. J., 31:182-183.
- Calzolari, A., Giraud, J.A., Rampone, H., Odierno, L., Giraud, A T., Frigerio, C., Bettera, S., Raspanli, C., Hernandez, J., Wehbe, M., Mattea, M., Ferrari, M., Lariestra, A. and Nagel, R. (1997) Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 1. Evaluation in two commercial dairy herds. J. Dairy Sci., 80:854-858.
- Colditz, J.G. and Watson, D.L. (1985) The immunophysiological basis for vaccinating ruminants against mastitis. Australian Vet. J., 62(5): 145-153.
- Craven, N., Anderson, J.C. and Jones, T.O. (1986) Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. Vet. Record 15, 290-291.
- Craven, N. and Williams, M.R. (1985) Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. Vet. Immun.and Immunopath., 10;71-127.
- DeGraves, F.J. and Fetrow, J. (1993) Economics of mastitis and mastitis control. Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice . 9(3): 421-434.
- Erganiş, O. ve Uçan, U.S. (2001) Veteriner Epidemiyoloji, II. Baskı, Konya.
- Erganiş, O. ve Hadimli, H.H. (1998) Süt ineklerinde stafilocokkal mastitislerin kontrolü için otojen *Staphylococcus aureus* aşısı çalışmaları. III. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, sh 41-42, 23-25 Eylül, Bursa.
- Erganiş, O., Hadimli, H.H. ve Solmaz, H. (1997) Tavukların kolibasilozu için *Escherichia coli* O1, O2, O78 serotiplerinden aşısı geliştirilmesi. Tübitak VHAG-1126 nolu proje, Kesin Rapor.
- Erganiş, O. ve İstanbulluoğlu, E. (1999) İmmünoloji. II. Baskı, Konya.
- Erganiş, O., Kaya, O. ve Kuyucuoğlu, Y. (1993) İnek mastitislerine sebep olan mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Vet. Hek. Birl. Dergisi. 5 (3); 49-50.
- Erganiş, O., Kuyucuoğlu, Y. ve Ok, Ü. (1995) İnek ve koyun mastitislerine sebep olan koagulaz negatif ve pozitif stafilocokların biyotiplendirilmesi. Veterinarium, 6(1-2): 23-27.
- Fırat, G. ve Uysal, Y. (1988) Stafilocokkal orijinli mastitislere karşı bir aşı hazırlanması. Pendik Hayv. Hast. Araşt. Enst. Derg. 2; 28-43.
- Foster, T.J. (1991) Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus aureus*. Vaccine, 9; 221-227.
- Francis, P.G. (1989) Mastitis therapy. Br. Vet. J., 145:302-310.
- Francis, P.G. and Carroll, P.J. (1986) Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical bovine mastitis. Vet. Record., 29, 361-363.
- Giraud, J.A., Calzolari, A., Rampone, H., Rampone, A., Giraud, A. T., Bogni, C., Lariestra, A. and Nagel, R. (1997) Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 1. Evaluation in heifers. J. Dairy Sci., 80:845-853
- Gudding, R., McDonald, J.S. and Cheville, N.F. (1984) Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* mastitis: Bacteriologic, histologic and ultrastructural pathologic findings. Am. J. Vet. Res., 45(12): 2525-2531.
- Hadimli, H.H. (1996) Mastitis ve Bağışıklık (Doktora Semineri II), S. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Hensyl, W.R. (1994) Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth Edition (Edited by Sneath P H A), Williams & Wilkins. Baltimore, USA.
- International Dairy Federation -IDF (1981) Laboratory Methods for Use Mastitis Work.
- Jarvis, M.C. (1993) Minitab for windows, release 9.2, Minitab Inc, 3081 Enterprise Drive State Colloge, PA 16801 USA.
- John, A. and Dodd, F.H. (1984) Reviews of the dairy science: Mastitis control – progress and prospects. J.Dairy Res., 51, 481-512.
- Jones, T.O. (1993) Bovine mastitis bacteriology: Problems and pitfalls. Cattle Practice, 1, 4:55-57.

- Jonsson, P., Olsson, S., Olofson, A., Falth, C., Holmberg, O. and Funke, H. (1991) Bacteriological investigations of clinical mastitis in heifers in Sweden. *J. Dairy Res.*, 58, 179-185.
- Miller, G.Y., Bartlett, P.C., Lance, S.E., Anderson, J. and Heider, L.E. (1993) Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. *J. A. V. M. A.*, 202(8): 1230-1236.
- Moore, G.A. and Heider, L.E. (1984) Treatment of mastitis. *Vet. Clin. North Am.: Animal Pract.* 6(2): 32-37.
- Nickerson, S.C. (1987) Immune mechanisms of the bovine udder: An overview. *J. A. V. M. A.* 187(1): 41-45.
- Nickerson, S.C. (1993a) Controlling *Staphylococcus aureus* mastitis through prevention and therapy. *Vet. Med.*, April, 366.
- Nickerson, S.C. (1993b) Preventing new *Staphylococcus aureus* mastitis infections. *Vet Med.*, April, 368-374.
- Nickerson, S.C., Owens, W.E. and Boddie, R. (1991) Progress in the development of a vaccine to control mastitis. *Louisiana Agriculture*, 34(4): 20-22.
- Nickerson, S.C., Owens, W.E. and Boddie, R.L. (1993) Effect of a *Staphylococcus aureus* bacterin on serum antibody, new infection and mammary histology in non-lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*; 76:1290-1297.
- Nonnecke, B.J., Elsen, L.A. and Kehrl, M.E. (1986) Local and systemic immune response in the cow after intramammary vaccination during lactation. *Vet. Immun. and Immunopath.*, 11:31-44
- Nordhaug, M.L., Nesse, L.L., Norcross, N.L. and Gudding, R. (1994a) A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical Parameters. *J. Dairy Sci.*; 77:1267-1277.
- Nordhaug, M.L., Nesse, L.L., Norcross, N.L. and Gudding, R. (1994b) A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 2. Antibody response. *J. Dairy Sci.*, 77:1276-1284.
- Opdebeeck, J.P. and Norcross, N.L. (1985) Antibodies in bovine serum and lacteal secretions to capsular antigens of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Vet. Res.*, 46(7): 1561-1564.
- Philpot W N (1984) Economics of mastitis control. *Vet. Clin. North Am.: Animal Pract.*, 6(2): 233-245.
- Sears, P.M. (1984) Immunisation and Immunity. *Vet. Clin. North America: LAnimal Prac.*, 6(2): 391-398.
- Schalm, O.W., Carrol, E.J. and Jain, N.C. (1971) Bovine mastitis. Lea Febiger Camp., Philadelphia.
- Sezen, İ.Y., Erganiş, O., Çorlu, M. ve Ateş, M. (1986) Mastitisli inek sütlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus*'larda penisilin rezistansı ile bazı enzim karakterleri ve biyokimyasal testler üzerinde çalışmalar. *S.Ü. Vet. Fak. Deg.* 2, 91-102.
- Smith, L.K. (1983) Mastitis control: A discussion. *J. Dairy Sci.*, 66:1790-1794.
- Vestweber, J.G. (1993) *Staphylococcus aureus* mastitis. Part I. Virulence, defence mechanisms and establishment of infection. *Food Animal*, 15(11):1561-1566.
- Vestweber, J.G. (1994) *Staphylococcus aureus* mastitis. Part II. Diagnostic aids, therapy and control. *Food Animal*, 16(2): 217-225
- Watson, D.L. (1984) Evaluation of attenuated, live staphylococcal mastitis vaccine in lactating heifers. *J. Dairy Sci.* 67:2608-2613.
- Watson, D.L. (1988) Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in ewes. *Res. Vet. Sci.*; 45:16-21.
- Watson, D.L. (1992) Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in dairy heifers. *Res. Vet. Sci.* 53:346-353.
- Watson, D.L. and Lee, C.G. (1978) Immunity to experimental staphylococcal mastitis. Comparison of live, killed vaccines. *Aust. Vet. J.*, 54:374-378.
- Watson, D.L., McColl, M.L. and Davies, H.I. (1996) Field trial of a staphylococcal mastitis vaccine in dairy herds: clinical, subclinical and microbiological assessments. *Aust. Vet. J.*, 74(6): 447-450.
- Widel, P.W. (1994) What about *Staphylococcus aureus* vaccine?, *Agri-Practice*, 15(6): 26-28.
- Yancey, R.J. (1993) Recent advances in bovine vaccine technology. *J. Dairy Sci.*, 76:2418-2436.