

NORMAL VE SUBKLİNİK MASTİTİSLİ İNEKLERİN MEME DOKUSUNUN HUMORAL VE HÜCRESEL SAVUNMA SİSTEMLERİ ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK ÇALIŞMALAR*

İlhami Çelik¹

Reşat N. Aştı²

Light and electron microscopic studies on the cellular and humoral defensive systems of the mammary glands of normal and mastitic cows

Summary : *This study was carried out to determine the location and distribution of the defensive cells in normal lactating bovine mammary gland, whether there was any difference among five selected areas of the bovine udder. Another aim of this study was determination of antigenic stimulation on the defensive cell population.*

As a material, tissue and milk samples taken from 10 noninfected lactating quarters and 10 subclinical mastitic ones were used.

Quantitative cytologic analyses demonstrated a marked and progressive increase in the concentration of the defensive cells from milk-secreting parenchymal tissues to the distal rosette region, near to the squamocolumnar junction in the normal lactating bovine mammary gland. The highest plasma cell concentrations were also found in the rosette area.

Antigenic stimulation caused a sharp increase in all defensive cell concentrations. The most striking increase occurred in the epithelium and subepithelial connective tissues of Furstenberg's rosette. The increase in the plasma cell population was more striking compared with the other cell types.

Since the infectious agents generally reach at the parenchymal tissues through the streak canal, Furstenberg's rosette area which is highly populated with the defensive cells may play an important role in preventing the mammary tissues from invading mammary pathogens.

Özet : *Bu araştırma, normal yapıya sahip inek meme dokusunda bulunan savunma hücrelerinin yerleştikleri bölgelerin ortaya konması, bölgeler arasındaki hücre yoğunlukları farklarının belirlenmesi ve memede oluşan antijenik uyarımın bu hücrelerin yoğunlukları üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi amacıyla yapıldı.*

Materyal olarak 10 adet normal, 10 adette subklinik mastitisli olmak üzere toplam 20 sağmal meme lobundan alınan süt ve doku örneği kullanıldı.

Yapılan hücre sayımları sonucunda normal sağmal inek memesindeki savunma hücresi yoğunluklarının paransimden, Furstenberg rozetinin distaline doğru gidildikçe arttığı ve çok katlı yassı epitelin iki katlı prizmatikğe dönüştüğü bölge (Squamocolumnar junction) yakınında en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edildi. Plazma hücreleri bu bölgede en yüksek yoğunluğa sahip olan hücre tipiydi.

Memedeki antijenik uyarımın, bütün savunma hücresi tiplerinin yoğunluklarında önemli artışlara neden olduğu saptandı. En önemli artışların, Furstenberg rozetinin epitel ve bağ dokularındaki savunma hücrelerinde ortaya çıktığı gözlemlendi. Diğer hücrelerle kıyaslandığında plazma hücrelerinde oluşan artışların daha belirgin olduğu dikkati çekti.

Giriş

Ruminantlarda meme bezinin savunma sisteminin oldukça karmaşık bir yapıya sahip olduğu bildirilmektedir (19,23,25). Mastitise karşı güçlü bir korunma sisteminin geliştirilebilmesi, büyük oranda bu sistemin özelliklerinin aydınlatılmasına bağlıdır (20).

Meme savunmasında en önemli fonksiyonları hücresel ve humoral faktörler yerine getirmektedir (1,5,20). Süt, erken kuru dönem salgıları ve kolostrum üzerinde yapılan çalışmalarla (3,4,12), memenin farklı fizyolojik dönemlerinde ve yangıda bu salgılardaki hücresel ve humoral faktörlerde oluşan değişiklikler ortaya konmuştur. Kolostrumda çeşitli hücre tiplerinin varlığı, 1844 yılından beri bilinmesine rağmen, bunların fonksiyonları ve meme savunmasındaki önemleri üzerindeki bilgiler son yıllarda yapılan çalışmalarla elde edilmiştir. İneklerin normal meme salgılarında nötrofil, lenfosit, monosit/makrofaj, eozinofil ve epitel hücrelerinin bulunduğu bildirilmektedir (3,19).

Meme dokusunda lokalize olan savunma hücrelerinin memedeki dağılımları ve lokalize oldukları

* Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiş olan doktora çalışmasından özetlenmiştir.

1. Yrd. Doç. Dr. S. Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, Konya

2. Prof. Dr. S. Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, Konya

bölgelerin belirlenmesi amacıyla yapılmış olan çalışmalar, genellikle memebaşı dokuları üzerinde yoğunlaşmıştır (14,15,16). Bu çalışmalarda savunma hücresi yoğunluklarının memebaşı sinusundan Furstenberg rozetine doğru gidildikçe arttığı ve bölgenin memebaşı kanalıyla birleştiği bölgede en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Nickerson ve ark. (16), plazma hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada bu hücre tipinin de aynı bölgede en yüksek yoğunluğa ulaştığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, normal yapıya sahip olan meme dokusunun, paransimini de kapsayan beş ayrı bölgedeki savunma hücresi yoğunluklarının belirlenerek, memede oluşan antijenik uyarımın bu hücre yoğunlukları üzerindeki etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasi'na kesim için getirilen Holstein ırkı 20 ineğin meme loplarından alınan süt ve doku örneği materyal olarak kullanıldı.

Uygun loplardan alınan süt örneklerine California mastitis testi (CMT) uygulanarak, test sonucu negatif olan 10 ve test sonucu +2 pozitif olan 10 loptan kesimden önce usulüne uygun olarak süt örnekleri, kesimden hemen sonra da beş ayrı meme bölgesinden doku örnekleri alındı.

Steril kapaklı cam tüplere alınan süt örneklerinden önce bakteriyolojik ekimler yapıldı. Daha sonra her süt örneğinden ikişer adet froti hazırlanarak havada kurutuldu. Levowitz-Weber yöntemiyle (23) boyanan frotilerde somatik hücrelerin sayımı yapılarak total somatik hücre sayıları ile nötrofil yüzdeleri belirlendi.

CMT sonuçları negatif, bakteri izole edilemeyen, total somatik hücre sayıları 500.000'den az, nötrofil oranları % 25'ten düşük olan loplar normal kabul edildi. CMT sonuçları +2 pozitif, bakteri izolasyonu yapılan, total somatik hücre sayıları 800.000'den fazla ve % 60'tan daha yüksek oranda nötrofil içeren loplar ise subklinik mastitisli kabul edildi (23).

Doku örnekleri memenin duktus papillaris, Furstenberg rozeti, sinus papillaris, sinus laktiferus ve paransim bölgelerinden alınarak ışık ve elektron mikroskop için ayrı tespit sıvılarında tespit edildi.

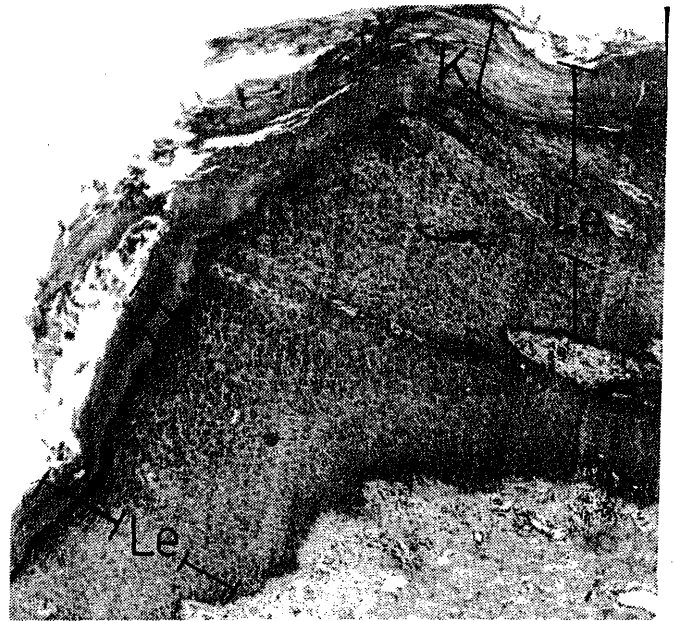
Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku örneklerinin takibi yapılarak parafinde bloklandı. Bloklardan alınan 6 mikron kalınlığındaki kesitler metil green-pironin, hematoksilen-eozin ve triple yön-

temleriyle boyandı (6). Hücre sayımları oküler kare mikrometre (10X10 kare) yardımıyla X1000 büyütmede yapıldı. 1.44×10^4 mikrometrekarelik alan birim alan (BA) kabul edilerek, hücre yoğunlukları hücre sayısı/birim alan olarak (HS/BA) ifade edildi. Sayısal veriler istatistiksel metodlarla (8) analiz edildi.

Elektron mikroskobu için alınan doku örnekleri Karnowsky (10) yöntemiyle tespit edilerek, dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirildikten sonra Araldit-M'de bloklandı. Bloklardan alınan ince kesitler Uranil asetat ve kurşun sitratla boyanarak, Carl Zeiss EM 9S-2 model elektron mikroskopta incelendi.

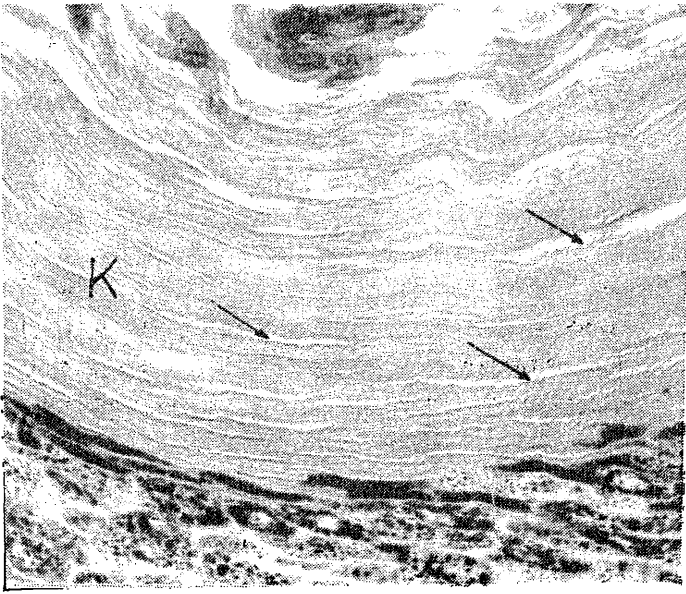
Bulgular

Memebaşı kanalının oldukça kalın bir keratin katına sahip olan çok katlı yassı keratinize epitelle örtülü olduğu gözlemlendi. Keratin, kanal giridinde (Ostium papillare) daha kalın ve ağımsı yapıdayken (Resim 1K), kanalın orta bölgesinde boyuna yerleşimli, birbirine paralel lamellerden oluşmaktaydı.



Resim-1 Memebaşı kanalı deliği (Ostium papillare). Lamina epitelyalisle birlikte keratin katta da belirgin bir kalınlıkta görülmekte. Le) Lamina epitelyalis, K) Keratin. Trichrome., X202.

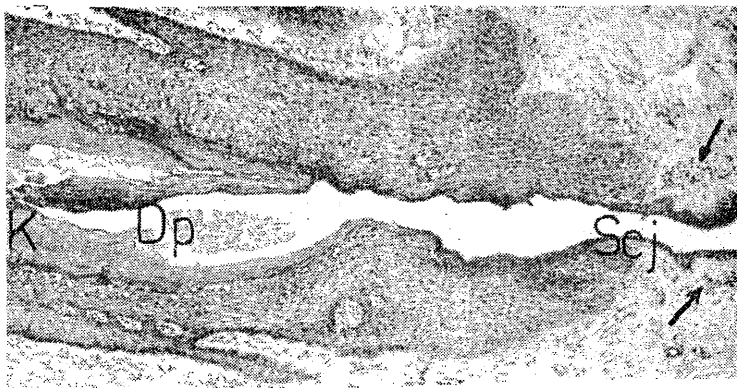
Fig. 1 External orificium of the teat canal. Thickness in both the epithelial and keratin layers are seen. Le) Epithelial layer, K) Keratin. Trichrome., X202.



Resim-2 Memebaşı kanalının orta bölgesi. Stratum korneumdaki boyuna yerleşimli dar yarıklar görülmekte. K) Keratin, Oklar) Yarıklar. Hematoksilen-eozin., X410.

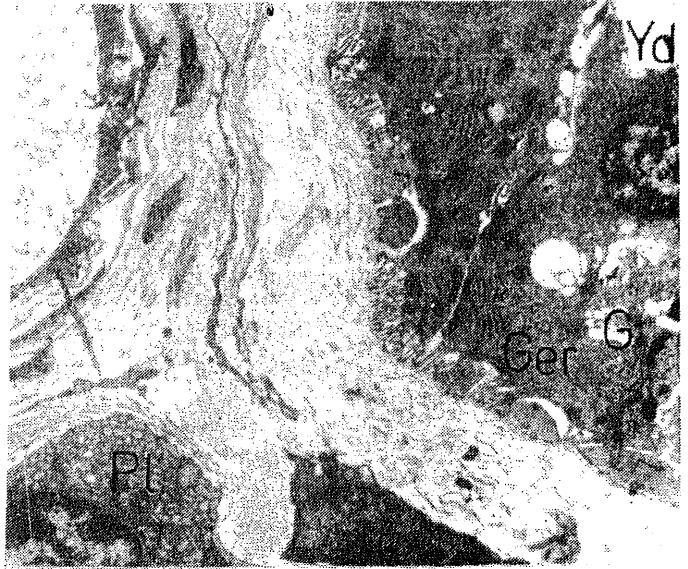
Fig. 2 Midportion of the teat canal. Longitudinally oriented narrow fissures are seen. K) Keratin layer, Arrows) Fissures. Hematoxyline-eosin., X410.

Furstenberg rozeti başlangıcında iki katlı prizmatik özellik kazanan epitel (Resim 3 Scj), bu özelliğini sinus papillaris, sinus laktiferus ve buraya açılan geniş süt kanallarında da devam ettirmekteydi.



Resim-3 Memebaşı kanalı-Furstenberg rozeti geçiş bölgesi. Epitelin iki katlı prizmatikliğe dönüştüğü bölgede lenfosit infiltrasyon alanı görülmekte. Dp) Duktus papillaris, Scj) geçiş bölgesi, K) Keratin, Oklar) Lenfositler. Triple., X72.

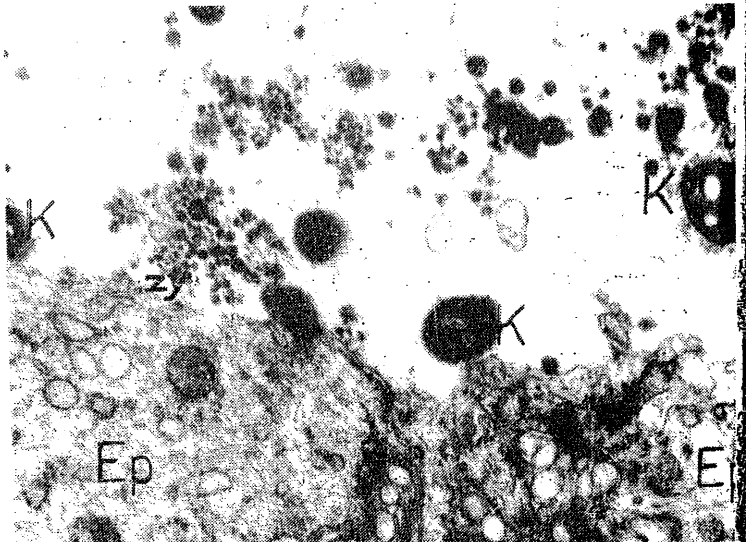
Fig. 3 Streak canal-Furstenberg's rosette connection. Lymphocyte infiltration area is seen. Dp) Streak canal, Scj) Squamocolumnar junction, K) Keratin layer, Arrows) Lymphocytes. Trichrome., X72.



Resim-4 Meme paransimi. Alveol epitellerinin ince yapısı ve interalveoler stromada bir plazma hücresi görülmekte. Ger) Granüler endoplazmik retikulum, Yd) Yağ damlacığı, G) Golgi organeli, Pl) Plazma hücresi. Kurşun sitrat., 7920.

Fig. 4 Milk secreting deep parenchym. Ultrastructure of alveolar epithelial cells and a plasma cell are seen. Ger) Rough endoplasmic reticulum, G) Golgi apparatus, Yd) Lipid droplet, Pl) Plasma cell. Lead citrate., X7920.

Yangılı paransim dokusunda ise alveol lümenlerinin daralırken, interalveoler septumların genişlemiş olduğu ve alveol lümenlerinde çeşitli hücre tiplerinin oluşturduğu toplulukların bulunduğu dikkati çekti. Bazı yangılı sinus papillaris örneklerinde lumene komşu olan epitel hücrelerine tutunmuş halde koklara rastlandı. Bu hücrelerin hücre zarlarının yırtılarak, sitoplazmik içeriğin epitel yüzeyi ve lumene yayılmış olduğu dikkati çekti (Resim 5).

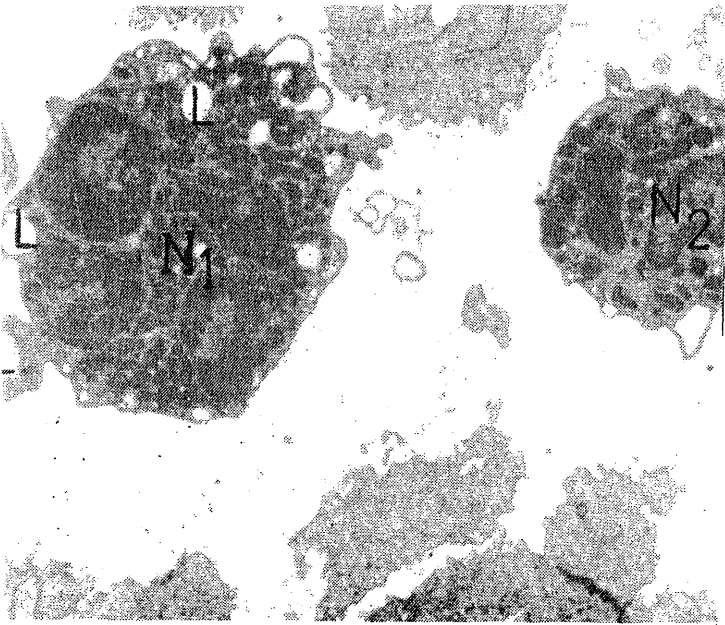


Resim-5 Sinus papillaris bölgesi. Bölge epitellerine tutunmuş ve serbest haldeki koklarla epitel hücrelerindeki dejenerasyonlar görülmekte. Ep) epitel hücreleri, K) Koklar, zy) Hücre zarındaki yırtılma. Kurşun sitrat., X13750.

Fig. 5 Teat sinus. Cocci, free and attached to the degenerated epithelial cells are seen. Ep) Epithel cells, K) Coccus, zy) Torn in the cell membrane. Lead citrate., X13750.

Yangılı paransimdeki alveollerin bazılarının lumenlerinde çok sayıda yağ damlacığı ve kazeini fagosite etmiş olan nötrofillere rastlandı. Elektron mikroskopik incelemelerde bu hücrelerin psödopodlarını büyük oranda kaybetmiş ve çekirdeklerinin hafifçe şişmiş olduğu dikkati çekti (Resim 6).

Normal memebaşı kanalının epiteli ve bağ dokusunda rastlanmayan plazma hücreleri, en yoğun olarak Furstenberg rozetinin bağ dokusu ve epitel katı içinde gözlemlendi (Resim 7). Bu hücelere epitel tabakası içinde ender olarak lumene komşu durumda da rastlandı. Rozet bölgesinin lamina propriasında genellikle çok sayıda hücreden oluşan gruplar halinde bulunan bu hücreler, paransimde ise tek tek yada az sayıda hücreden oluşan gruplar halinde gözlemlendi. Paransimde alveol epitellerine yakın ve onların arasında lokalize olan plazma hücrelerine rastlanmadı. Bütün meme bölgelerinde epitel içinde en sık rastlanan hücre tipi lenfositlerdi. Bu hücrelerin rozet bölgesinde geniş infiltrasyon odakları oluşturdukları dikkati çekti.



Resim-6 Alveol lümeninde yağ damlacıkların fagosite etmiş nötrofiller. N₁, N₂) Nötrofiller, L) Lipid damlacıkları. Kurşun sitrat., X9000.

Fig. 6 Neutrophils ingested lipid droplets are seen in the alveolar lumina. N₁, N₂) Neutrophils, Lipid droplets. Lead citrate., X9000.

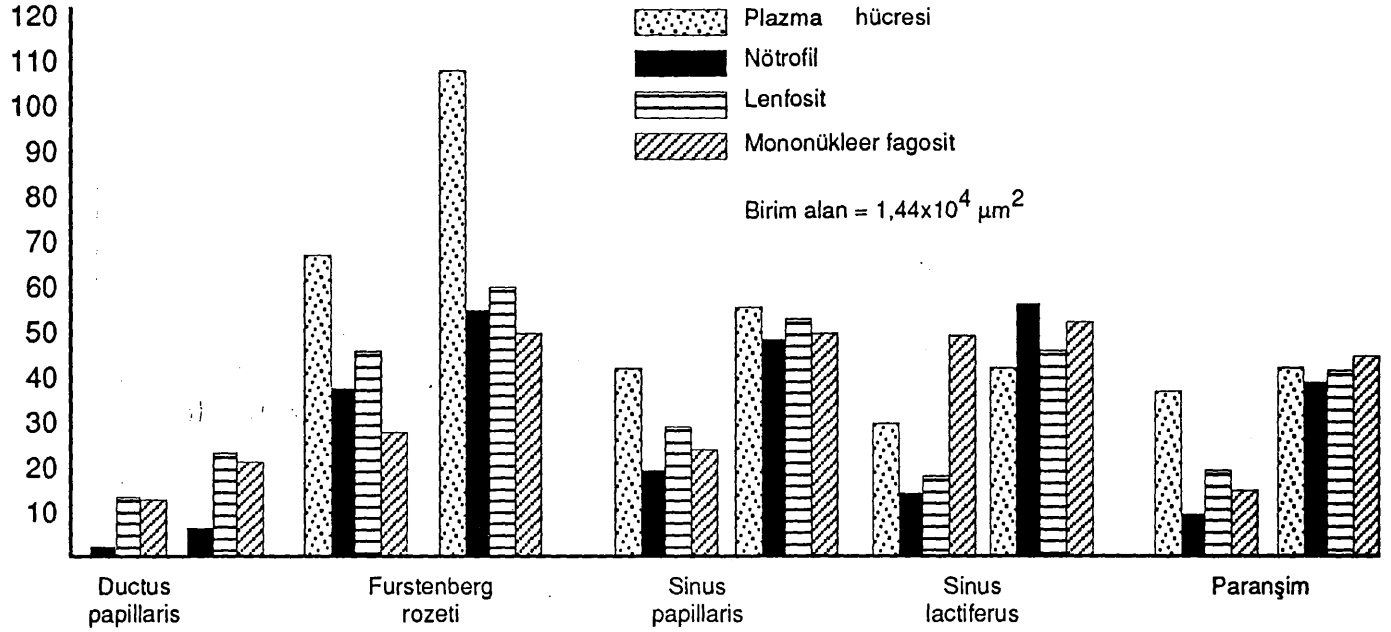


Resim-7 Furstenberg rozeti bölgesinde epitel hücreleri tarafından sarılmış olan bir plazma hücresi. Ep₁, Ep₂) Epitel hücreleri, Oklar) Hücre zarlarının değme bölgeleri. Kurşun sitrat., X8200.

Fig. 7 A plasma cell surrounded by the epithelial cells is seen. Ep₁, Ep₂) Epithelial cells, Arrows) Contacts between the cell membranes. Lead citrate., X8200.

Hücre sayımlarından elde edilen sonuçlar grafik 1'de ve bu değerlerin istatistiksel analiz sonuçları tablo 1'de verilmiştir.

Grafik-1 Normal ve yangılı meme dokusunun beş farklı bölgesinde belirlenen savunma hücresi sayıları (HS/BA). Her bölgede soldaki sütun grubu normal, sağdaki grup ise subklinik mastitisli grubun ortalama hücre sayılarını göstermektedir.



Tablo-1 Normal ve yangılı meme dokusunun beş ayrı bölgesinde belirlenen hücre sayıları ve bölgelerarası yoğunluk farklarının önemini ortaya koymak amacıyla yapılan LSD testi sonuçları.

HÜCRE TİPİ	BÖLGELERDE SAPTANAN ORTALAMA HÜCRE SAYILARI				
	Furstenberg rozeti (HS/BA)	S. papillaris (HS/BA)	S. lactiferus (HS/BA)	Paraşim dokusu (HS/BA)	D. papillaris (HS/BA)
NORMAL					
Plazma H.	68.5 ^a	40.5 ^b	30.7 ^c	30.9 ^{bc}	0 ^d
Lenfosit	47.9 ^a	24.6 ^b	20.7 ^c	17.2 ^{bc}	14.1 ^c
Nötrofil	33.9 ^a	16.7 ^b	10.6 ^b	8.0 ^{bc}	0.6 ^c
Mononükleer fagosit	25.6 ^a	22.6 ^a	22.5 ^a	11.0 ^b	13.5 ^b
YANGILI					
Plazma H.	105.1 ^a	53.3 ^b	42.4 ^{bc}	39.2 ^c	0 ^d
Lenfosit	59.7 ^a	50.7 ^{ab}	40.6 ^{bc}	39.6 ^c	22.6 ^d
Nötrofil	53.9 ^a	46.3 ^a	54.7 ^a	32.2 ^b	2.7 ^c
Mononükleer fagosit	47.6 ^a	47.5 ^a	51.4 ^a	47.8 ^a	21.5 ^b

Aynı satırda değişik harflerle belirlenen ortalama değerler arası farklar istatistiksel yönden önemlidir (P<0.05).

Sonuçlara göre normal ve subklinik mastitisli meme dokusunda en yüksek savunma hücresi yoğunlukları Furstenberg rozetinde görülmektedir (Grafik 1). En düşük hücre yoğunlukları ise duktus papillaris'te ortaya çıkmaktadır. Normal yapıya sahip olan sinus papillaris, sinus laktiferus ve paraşim bölgeleri ise birbirine yakın savunma hücresi yoğunluklarına sahiptir. Rozet bölgesinin bağ dokusunda en sık rastlanan hücre tipi plazma hücreleri iken, epitel katında lenfositlerdir.

Yangılı grupta ise savunma hücrelerinin yoğunluklarında belirgin artışların meydana geldiği dikkati çekmektedir. Duktus papillaris bölgesindeki artışlar önemsiz (P>0.05) iken, Furstenberg rozetindeki artışların çok önemli (P<0.05) olduğu görülmektedir (Tablo

1).

Tartışma ve Sonuç

Mastitis etkenleri genellikle memebaşı kanalından girerek paraşime ulaşmakta ve mastitise neden olmaktadır (2). Memebaşı kanalı sfinkteri ve kanal keratininin bakteri girişine karşı güçlü bir bariyer oluşturduğu çeşitli araştırmacılar (7,11,13,24) tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada, memebaşı kanalının lamina propriasında iki kat halinde düz kas demetlerinin bulunduğu; keratin katın ostium papillarede daha kalın ve ağimsı yapıya sahip olduğu halde, kanalın orta bölümünde daha ince ve birbirine paralel lamellerden oluştuğu tespit edildi. Lameller arasında gözlenen longitudinal yerleşimli dar yarıklar, buraya ulaşabilen bakterilerin sinus papillaris'teki süte ulaşmalarını kolaylaştırabileceğinden, memebaşı kanalının bariyer etkinliğinin kanal giridinde daha güçlü olabileceği sonucuna varıldı. Nickerson ve Pankey'de (14), yaptıkları bir çalışmada bu durumu vurgulamışlardır.

Concha (3), süt ve diğer meme salgılarındaki hücresel faktörler yanında, meme dokusunda bulunan hücrelerin de lokal meme savunmasında dikkate alınması gerektiğini, yangı başlangıcında memenin belli bölgelerinde yeterli sayı ve immun yeteneğe sahip savunma hücresi popülasyonu bulunmasının, lokal savunma sisteminin gücünü artıracak olduğunu bildirmiştir. Nickerson ve Pankey (17), memebaşı kanalından giren antijenlere karşı oluşan immun yanıtta, oldukça kalın bir keratin katına sahip olan çok katlı yassı epitelle örtülen ve düşük savunma hücresi yoğunluğuna sahip olan memebaşı kanalının oldukça düşük bir hücresel tepki oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle

araştırmacılar (14,15), memenin antijenik uyarıma karşı asıl tepkisinin, iki katlı prizmatik epitle örtülen Furstenberg rozeti bölgesinde ortaya çıktığını kabul etmektedirler. Bu çalışmada da gerek normal ve gerekse de yangılı meme dokusunda en yüksek savunma hücresi yoğunluğuna bu bölgede rastlanması, araştırmacıların (14,15) bulgularına uyum göstermektedir.

Epitel katı içinde lokalize olan plazma hücrelerinin salgıladıkları antikorları ya direkt olarak veya epitel hücreleri yoluyla bölge epiteli yüzeyine ve süte verdikleri ileri sürülmüştür (16). Bu antikorlar, toksinleri nötralize ederek, fagositozu kolaylaştırarak ya da bakterilerin epitel hücrelerine tutunmalarını engelleyerek lokal meme savunmasında çok önemli bir fonksiyon görmektedirler. Özellikle Furstenberg rozeti bölgesinde epitel içinde plazma hücrelerine daha sık rastlandı. Bazı hastalıkların patogeneğinde bakterilerin epitel hücrelerine tutunmaları, hastalığın ilk evresini oluşturmaktadır. Gudding ve ark. (9), Staphylococcus aureusla oluşturdukları deneysel mastitiste, kokların çoğunlukla sinus papillaris bölgesi epiteline tutunduğunu saptamışlardır. Preez (21) ise, inatçı memebaşı kanalı enfeksiyonlu ineklerde yaptığı Scanning elektron mikroskopik çalışmada, kokları epitel yüzeyindeki çukurluklarda gözlediğini bildirmiştir. Periyodik olarak sütün şiddetli akış etkisine maruz kalan bu bakterilerin, bölge epitel hücrelerine spesifik olarak tutundukları aynı araştırmacı (21) tarafından ifade edilmektedir. Bu çalışmada yapılan elektron mikroskopik gözlemlerde sinus papillaris bölgesinde epitel hücrelerine tutunmuş haldeki koklara rastladığımızdan, araştırmacının görüşlerine katılmaktayız.

Süt nötrofillerinin süt yağı ve kazeinini fagosite ettiği bilinmektedir (22). Hücre, bu maddeleri sindirebilmek amacıyla lizozomal enzimlerinin büyük bir kısmını harcadığından, daha sonra fagosite edilen bakterilerin parçalanması işlemi gerçekleşmemektedir (22). Bu çalışmada yangılı paranzim alveollerinin lümenlerindeki nötrofillerin, çok sayıda yağ damlacığını fagosite etmiş olduğunu ve hafif dejenerasyon gösterdiklerini tespit ettiğimizden, elde ettiğimiz bulgular bu araştırmacıların bulgularını desteklemektedir. Nickerson ve ark (18) bazı antibiyotik ve antibiyotik taşıyıcılarının da nötrofillerin yaşama ve fagositoz güçlerinde kayıplara neden olduğunu bildirmektedir. Bu durum, mastitis tedavisinde antibiyogram yapılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, Furstenberg rozeti memenin lokal savunmasında antijenik uyarıma karşı ilk bağışıklık tepkisinin şekillendiği çok önemli bir bölgedir. Güçlü bir meme savunması için bu bölgede yeterli sayı ve immun yeteneğe sahip olan savunma hücresi popülasyonu bulunması mutlaka gereklidir.

Kaynaklar

1-Arda, M. (1985) "Immunoloji (Bağışıklık Bilimi)". Cilt I. A. Ü. Vet. Fak. Yayınları 404, A. Ü. Basımevi, Ankara.

- 2-Büyükpamukçu, M. (1980) "Veteriner Patoloji (Meme Hastalıkları)" Cilt III. A. Ü. Vet. Fak. Yayınları 359, A. Ü. Basımevi, Ankara.
- 3-Concha, C. (1986) Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretions. Saertryk af Nordisk Veterinaer Medicin., 38, 257-372.
- 4-Craven, N. and James, C. A. (1984) Phagocytosis of Staphylococcus aureus by bovine mammary gland macrophages and intracellular protection from antibiotic action invitro and invivo. J. Dairy Res., 51, 513-523.
- 5-Craven, N. and Williams, M. R. (1985) Defenses of the bovine mammary against infection and prospects for their enhancement. Vet. Immunol. and Immun Pathol., 10, 71-127.
- 6-Culling, C. F. A., Allison, R. T. and Barr, W. T. (1985) "Cellular pathology techniques". Butterwort and Co. Ltd., London.
- 7-Donald, W. S. and Susan, C. B. (1983) Changes in penetrability of papillary duct to endotoxin infusion. Am. J. Vet. Res., 44,12,2373-2375.
- 8-Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987) "Araştırma ve deneme metodları". A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları 1021., A. Ü. Basımevi, Ankara.
- 9-Gudding, R., Donald, J. S. M., Cheville, N. F. (1987) Pathogenesis of Staphylococcus aureus mastitis: Bakteriologic, histologic and ultrastructural pathologic findings. Am. J. Vet. Res., 41,12,2525-2531.
- 10-Karnowsky, M. J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell. Biol., 27, 137-138.
- 11-Lissik, E. A., Lengemann, F. W. (1984) Mechanisms of pathogen transport through the teat canal in dairy cattle. Am. Society of Agr. Engineers., 84, 3532-3537.
- 12-Mullan, N. A., Carter, E. A., Nguyen, K. A. T. (1985) Phagocytic and bactericidal properties of bovine macrophages from nonlactating mammary glands. Res. in Vet. Sci., 38, 160-166.
- 13-Nickerson, S. C. (1985) Defense mechanisms of bovine teat end tissues. Kieler milchwirtschaftliche Forschungberichte., 37, 462-465.
- 14-Nickerson, S. C., Pankey, J. W. (1983) Cytologic observations of the bovine teat end. Am. J. Vet. Res., 44,8,1433-1441.
- 15-Nickerson, S. C., Heald, C. W., Watts, J. L. and Boddie, N. T. (1983) Role of teat end in preventing bovine mastitis. Louisiana Agr. Summer., 26,4,5-8.
- 16-Nickerson, S. C., Pankey, J. W., Boddie, N. T. (1984) Distribution, location and ultrastructure of plasma cells in the uninfected, lactating bovine mammary gland. J. Dairy Res., 51, 209-217.
- 17-Nickerson, S. C., Pankey, J. W. (1984) Electron microscopic study of leucocytic infiltration of the mammary teat duct during infection with Staphylococcus aureus. Res. in Vet. Sci., 38, 167-173.
- 18-Nickerson, S. C., Paape, M. J., Ann, M. and Dulin, B. S. (1985). Effect of antibiotics and vehicles on bovine polymorphonuclear leucocyte activity invitro. Am. J. Vet. Res., 46,11,2259-2265.
- 19-Outteridge, P.M., Lee, C. S. (1988) The defense mechanisms of the mammary gland of domestic animals. Prog. Vet. Microbiol. Immun., 4, 165-196.
- 20-Paape, M. J., Schultzæ, W. D., Guidry, A. J. (1985) Development of natural defense mechanisms. Kieler milchwirtschaftliche Forschungberichte., 37,4,447-457.
- 21-Preez, J. D. H. (1979). Research communication: Scanning electron microscopy-aided observations on and therapy of teat canal infections. Orderstepoort J. Vet. Res., 46,231-234.
- 22-Russel, M. W., Brooker, B. E. and Reiter, B. (1977) Electron microscopic observations of the interaction of casein miscelles and milk fat globules with bovine polymorphonuclear leucocytes during the phagocytosis of Staphylococci in milk. J. Comp. Pathol., 87,43-52.
- 23-Schalm, O. W., Carrol, E. J., Jain, N. C. (1972) "Bovine mastitis". Lea and Febiger Co., Philadelphia.
- 24-Timorthy, J. N. and Bourne, J. (1977) The nature of the local immun system of the bovine mammary gland. J. Immunol., 118, 2, 461-465.
- 25-Vecht, U. (1985) Immunological approach to mastitis control. Kielermilchwirtschaftliche Forchungberichte., 37, 4, 515-523.