

## İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİSİN ERKEN TEŞHİSİ AMACIYLA SÜTTE N-ASETİL $\beta$ -D GLUKOZAMİNİDAZ (NAG ase) ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİNİ \*

Mehmet Nizamlioğlu<sup>1</sup> Leyla Kalaycioğlu<sup>2</sup> Dursun Ali Dinç<sup>3</sup> Osman Erganiş<sup>4</sup> Firuze Özeren<sup>5</sup>

Determination of N-acetyl  $\beta$ -D glucosaminidase enzyme activity in bovine milk for the early diagnosis of subclinical mastitis

**Summary :** In this present study, N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG ase) activity and microbiological investigations were carried out in milk samples for the early diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows.

Forty Holstein cow, in 4-5 years old were used as materials.

NAG ase activity, PMN and microbiologic values, in milk samples in which CMT test performed, were compared.

NAG ase activity was found  $33.08 \pm 4.62$  U/L and  $90.70 \pm 11.98$  in healthy and mastitic milk samples respectively and differences were found statistically significant ( $P < 0.05$ ).

The PMN values were determined average  $282655 \pm 57035$  in healthy milk and  $1236396 \pm 216308$  in mastitic milk samples.

*Staphylococcus*, *Klebsiella pneumonia*, *Corynebacterium ssp* agents were identified in milk samples.

As a result, it was useful to determine NAG ase activity, PMN and CMT test in milk samples for the early diagnosis of subclinical mastitis.

**Özet :** Bu çalışmada, subklinik mastitislerin erken tanısı amacıyla süt örneklerinde N-asetil  $\beta$ -D-glukozaminidaze (NAG ase) enzim aktivitesi tayini ile mikrobiyolojik yönden araştırmalar yapıldı.

Materyal olarak, 4-5 yaşlarında toplam 40 baş Holstein ırkı inek kullanıldı.

CMT uygulanarak toplanan süt örneklerinde, NAG ase enzim aktivitesi ile, PMN lökosit hücre sayısı ve mikrobiyolojik bulgular arasında mukayese yapıldı.

NAG ase aktivitesi sağlam sütlerde  $33.08 \pm 4.62$  U/L, mastitisli sütlerde ise  $90.70 \pm 11.98$  olarak ölçüldü ve farklılıklar istatistiki yönden önemli ( $P < 0.05$ ) bulundu.

Hücre sayıları sağlıklı sütlerde, ortalama  $282655 \pm 57035$ , mastitisli sütlerde ise, ortalama  $1236396 \pm 216308$  olarak

tesbit edildi.

Süt örneklerinde *Staphylococcus*, *Klebsiella pneumonia*, *Corynebacterium ssp*. etkenleri identifiye edildi.

Sonuç olarak, subklinik mastitislerin erken teşhisi amacıyla süte, PMN lökosit sayıları ve CMT değerlerinin tesbit edilmesi yanında, NAG ase aktivitesinin de tayin edilmesiyle teşhise önemli derecede yardımcı olunacağı kanısına varıldı.

### Giriş

Mastitis (meme yangısı), sütçü ineklerde görülen en önemli hastalıklardan birisidir. Süt sığırcılığı yetiştirmelerinde sık rastlanan mastitis, ülkemiz hayvancılığında büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Memede meydana gelen yangı ile karakterize olan mastitisin değişik formları vardır. Bunlar memeyi irrite eden etkenlere ve memenin gösterdiği reaksiyonlara göre sınıflandırılabilir. Subklinik mastitislerin erken teşhis edilerek tedavi edilmesiyle, hastalığın ilerlemesi ve diğer hayvanlara bulaşması önlenmiş olur.

Subklinik mastitislerde, sistemik veya lokal olarak herhangi bir belirtiyeye rastlanmaz, ancak, süte lökosit sayısının artışı, patojen etkenlerin izolasyonu, süte ve kanda biyokimyasal değerlerde meydana gelen değişmelerle tesbit edilir (17,19). Parantainen ve ark. (23) meme bölmelerinin bir ya da birden fazlasında patojen bakterinin görülmesi ve somatik hücre sayısının  $500 \times 10^3$  hücre/ml den fazla olması halinde mastitister söz edilebileceğini belirtmektedirler. Süt inekçiliğinde, büyük ekonomik kayıplara sebep olan subklinik mastitislerin klinik mastitislere göre 40-50 defa daha fazla görüldüğü ve değişik etiyolojik faktörlerin etkili olduğu bildirilmektedir (2,20).

Subklinik mastitiste süten komponentlerinde önemi

\* Bu araştırma S. Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

1. Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

2. Prof. Dr., S. Ü. Vet. Fak., Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

3. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak., Doğum ve Reprodüksiyon hastalıkları Anabilim Dalı, Konya.

4. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

5. Arş. Gör., S. Ü. Vet. Fak., Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

değişiklikler olmaktadır. Somatik hücreler, sütte serum albumini, laktoz, Na, K, Cl ve bazı enzimlerin tayini ile mastitislerin tanısı mümkün olmaktadır (2,12,19,21).

Subklinik mastitislerin tanısı amacıyla sütte hücre sayısının tesbit edilmesinin güvenilir yollardan biri olduğu bildirilmektedir (17,14,24). Sütte bulunan somatik hücrelerin sayımı için direkt filtre yöntemi, Coulter counter, Fossomatic ve CMT gibi testleri ihtiva eden değişik metotlar uygulanmaktadır. Ancak bu testlerden farklı sonuçlar da alınabilmektedir (29,30).

Bazı araştırmacılar (26,28), subklinik mastitislerin erken teşhisinde en güvenilir yollardan birinin sütteki polimorf çekirdekli lökositlerin (PMN) direkt ve indirekt yollarla belirlenerek sonuca gidilmesi olacağını bildirmişlerdir.

Mastitisli sütlerde, polimorf nükleer çekirdekli lökosit (PMN) sayısının artışı tesbit eden testlerden Kalifornia Mastitis Testi (CMT), her türlü saha şartlarında uygulanabilme açısından oldukça sık kullanılan bir testtir. CMT dolaylı olarak lökosit artışı gösteren ve lökositlerin miktarına göre hafif bir presipitasyondan yoğun bir jel şekillenmesine kadar değişik reaksiyonlar verir. Testin muhteviyatını oluşturan BCP (Brom Creosol Purple), BTP (Brom Tymol Blue) eriyikleri ile süütün pH sındaki değişimler izlenebilir. Bu testlerin dışında lökosit sayılarındaki artışları tesbit eden ve % 5 lik sodyum hidroksit ile yapılan White Side Testi, CMT nin çok sayıda örneğe uygulamasını sağlayan Barabant Mastitis Testi gibi testler uygulama sahası bulan testlerdendir (3,25).

Subklinik mastitislerin teşhisinde süütün yapısında meydana gelen biyokimyasal değişimlerin incelenmesi erken teşhis açısından önemli olmaktadır (10).

Mastitis olgularında erken ve çabuk yapılan teşhis arzulanan bir olaydır. Bu amaçla subklinik mastitislerin teşhisinde, hücre sayısının belirlenmesi, bakteriyolojik muayeneler ve biyokimyasal testlerden N-asetil β-D-Glukozaminidaz (NAG ase) enziminin de tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır. (13,27). Çünkü bu enzim aktivitesi, lökosit anomalileri ve metabolik bozuklukların olduğu durumlarda önemli ölçüde artar (23).

Mastitisli ineklerin memelerinde meydana gelen yangı neticesinde, hücre zarlarında bozulmalar meydana gelerek hücre içi enzimlerin süte geçmesi söz konusudur. Mastitisli sütlerin serumlarında Laktat

Dehidrogenaz (LDH), Aspartat Amino Transferaz (AST) ve N-Asetil β-D-Glukozaminidaz gibi enzimlerin önemli ölçüde arttığı ve subklinik mastitislerin teşhisinde bu enzimlerin aktivitelerinin tayin edilmesiyle teşhise yardımcı olunacağı çeşitli araştırmacılar (2, 4, 7, 8, 9, 15, 21, 32, 33) tarafından belirtilmektedir.

Subklinik mastitisli sütlerde, hücre sayısının 400.000 hücre/ml'yi geçmesiyle birlikte NAG ase aktivitesinin arttığı (4), CMT ile NAG-ase arasında önemli bir ilişkinin varlığı (18) ve memede meydana gelen yangılar ya da ilaç uygulamaları esnasında NAG-ase aktivitesinde önemli değişmelerin olduğu (22) tesbit edilmiştir.

NAG-ase aktivitesi ile mastitisin prognozu arasında da iyi bir ilişkinin varlığı uygulanan tedavi ile birlikte enzim aktivitesi değiştiğinden akut veya kronik mastitislerin geleceği hakkında bilgi edinilebileceği çeşitli araştırmacılar (33,34) tarafından açıklanmaktadır.

Kitchen ve ark. (15), subklinik mastitislerin teşhisinde enzimatik metotların daha güvenilir ve pratik olduğu ve bu metotların başarı ile uygulandığını bildirmişlerdir.

Sunulan bu çalışmanın amacı, süt sığırcılığında büyük ekonomik kayıplara sebep olan subklinik mastitisin erken teşhisinde ve prognozunda bazı biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizlerin etkinliğinin tesbit edilmesidir.

## Materyal ve Metot

### Materyal:

Bu çalışmada, Konya ve yakın yerleşim yerlerinde halk elinde bulunan 4-5 yaşlarında 40 baş Holstein ırkı inek materyal olarak kullanıldı.

Araştırmaya alınan hayvanların tümüne Kalifornia Mastitis Testi (CMT) uygulanarak süt örnekleri toplandı. CMT bulguları -, +1, +2 ve +3 olarak değerlendirildi.

Hayvanlardan alınan süt örneklerinin normal ve mastitisli olarak ayırımı, CMT skoru, hücre sayımı ve NAG ase enzim aktivitesine göre yapıldı ve sonuçta 40 süt numunesinden 16 tanesi normal, 24 tanesi ise mastitisli olarak kabul edildi.

### Metot :

**Süt örneklerinin alınması:** CMT uygulanmış (25) süt örnekleri, NAG ase enzimi tayini için ayrı tüplere, bakteriyolojik yoklamalar için ise aseptik şartlarda ayrı steril tüplere alındı.

**Süt serumunda NAG ase Tayini:** Alınan süt örnekleri laboratuara getirilerek yüksek devirde 20 dakika santrifüj edildi ve süt serumları çıkartıldı. Süt serumunda NAG ase enzim aktivitesi, Boehringer enzim test kitleri\* kullanılarak Shimadzu UV 2100 Spektrofotometre cihazı ile ölçüldü.

#### Mikrobiyolojik Testler:

CMT testi uygulanarak aseptik şartlarda toplanan süt örneklerinde mikrobiyolojik muayeneler yapıldı.

**Sütteki somatik hücrelerin sayımı:** Alınan süt örneklerindeki somatik hücrelerin sayımı IDF (11)'nin tarif ettiği şekilde yapıldı. Hücre sayımı için, 0.1 ml süt lam üzerindeki 100 mm<sup>2</sup> lik alana yayıldı, havada kurutulduktan sonra boya solusyonu (Metilen mavisi 0.6 gr, % 95 lik etil alkol 54 ml, glasiyal asetik asit 6 ml, tetraklor etan 40 ml) ile boyanarak ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile (900x) sayıldı.

#### Sütün mikrobiyolojik muayenesi:

Aseptik şartlarda toplanan süt örnekleri, vakit kaybetmeden laboratuara getirildi ve homojenize edildikten sonra % 7 koyun kanlı agar ve MacConkey agarlara ekilerek aerobik, anaerobik ve mikroaerofilik ortamlarda 37 °C de 27-72 saat inkube edildi. Mantar izolasyonu için Saborround Dekstrose agara ekim yapılarak oda ısısında bir hafta tutuldu. Üreyen mikroorganizmalar klasik yöntemlere göre (5,11,16) idantifiye edildi.

#### Bulgular

Çalışmada elde edilen bulgular, tablo 1,2 ve 3 de özetlenmiştir. Tablo 1 de, sağlıklı ve mastitisli süt serumlarında NAG ase aktivitesi ile istatistiki karşılaştırılması, Tablo 2 de, PMN lökosit sayıları ve istatistiki karşılaştırılması verilmiştir.

Tablo 3 de ise, sağlıklı ve mastitisli süt örneklerinden izole edilen bakteriler verilmiştir.

**Tablo-1 Sağlıklı ve subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında NAG ase aktivitesi ve istatistiki karşılaştırılması**

Sağlıklı sütlerde (U/L)	Subklinik mastitisli sütlerde (U/L)	T
33.08±4.62	90.70±11.98	3.79 *

\* P <0.05

**Tablo-2 Sağlıklı ve mastitisli hayvanların süt örneklerinde somatik hücre sayıları (PMN lökosit/ml süt)**

Sağlıklı hayvan sütlerinde	Mastitisli hayvan sütlerinde	T
282655±57035	1236396±216308	3.53 *

\* P <0.05

**Tablo-3 Sağlıklı ve mastitisli hayvanların süt örneklerinde izole edilen bakteriler**

Sağlıklı süt örneklerinde	Mastitisli süt örneklerinde
Staphylococcus 4	Staphylococcus 12
Klebsiella pneumonia 1	
Corynebacterium ssp 1	

#### Tartışma ve Sonuç

Sütçü İneklerde subklinik mastitislerin erken tanısı amacıyla yapılan bu çalışmada, halk elinde bulunan hayvanlardan alınan süt örneklerinde N-asetil β-D glukozaminidaz enzimi ile somatik hücre sayıları ve bakteriyolojik muayeneler yapıldı.

Schalm ve ark. (25), subklinik mastitisli sütlerin ayırt edilmesinde maksimum ve minimum hücre sayılarını değerlendirirken, somatik hücre sayısı 500.000 hücre/ml den az olanları sağlıklı, somatik hücre sayısı 500.000 hücre/ml den fazla olan süt numunelerini ise subklinik mastitisli olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada da elde edilen hücre sayılarının, CMT testi ve biyokimyasal bulgu ile karşılaştırılması neticesinde sağlıklı ve subklinik mastitisli diye ayrılan süt örneklerinde 500.000 hücre/ml den az olanlar sağlıklı (282655±57.35 hücre/ml), fazla olanlar ise (1236396±216308 hücre/ml) subklinik mastitisli olarak değerlendirildi ve değerlerin istatistiki yönden önemli (P<0.05) olduğu görüldü.

Subklinik mastitislerin teşhisinde sadece CMT den faydalanmanın yeterli olmayacağı, bunun yanında süt ve kanda bazı enzim ve mineral maddelerin de tayin edilmesiyle teşhise önemli ölçüde katkı sağlanacağı bazı araştırmacılar (20,27) tarafından bildirilmektedir. Son zamanlarda sütte N-asetil β-D glukozaminidaz enzimi aktivitesinin tayininin, mastitislerin teşhisinde başarı ile kullanıldığı yapılan çalışmalarla (7, 8, 9, 13, 15, 27, 33, 34) tesbit edilmiştir. Sunulan bu çalışmada da, NAG ase aktivitesinin diğer bulgularla karşılaştırılarak sağlıklı olarak ayrılan sütlerde 33.08±4.62 U/L, mastitisli diye ayrılan sütlerde ise 90.70±11.98 U/L olduğu ve istatistiki yönden önemli (P<0.05) farklılıkların görüldüğü tesbit edildi.

Bu çalışmada, NAG ase aktivitesi ile hücre sayısı ve CMT değerleri arasında önemli ilişkilerin olduğu görülmüştür. Polimorf nükleer lökositlerin yüksek ve CMT değerlerinin pozitif olduğu mastitisli sütlerde NAG ase aktivitesinin arttığı, normal sütlerde ise enzim aktivitesinin normal değerlerde olduğu gözlenmiştir. Bu durumun çeşitli araştırmacılar (4, 18, 32)'in yaptığı çalışmalarla da uyum içinde olduğu gözlenmiştir.

Alınan süt örneklerinin mikrobiyolojik yoklamaları sonucunda çeşitli bakteriler idantifiye edildi. Sağlıklı olarak ayrılan süt örneklerinin 4'ünde staphylococcus, 1'inde Cornebacterium ssp, bulundu. Fakat bu süt numunelerinde diğer mikrobiyolojik testler ve bi-

yokimyasal değer normal çıktı. Bunun sütün memeden çıkışı esnasında etkenin bulaşabileceği ve etkenin azlığından dolayı olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli araştırmacılar (1,6,32,34) da, sağlam sütlerde bakteri izole edilmesinin, sütün memeden alınması esnasında bulaşabileceğini tesbit etmişlerdir. Mastitisli süt örneklerinin 12 tanesinde Staphylococcus identifiye edildi. Mastitisli ve sağlıklı olarak ayrılan diğer süt numunelerinde ise bakteri izole edilemedi. Shultze (27), CMT nin negatif çıktığı süt örneklerinde bakteti izole edildiğini belirtmiştir. Mastitisli sütlerde bakteri identifiye ve izole edilmesi mastitisin tanınması ve tedavisi bakımından önemli olmaktadır (31).

Sonuç olarak, ineklerde subklinik mastitislerin erken teşhisi ve tedavinin etkinliği amacıyla, sütte CMT ve PMN sayıları ile süt serumlarında NAG ase aktivitesi tayininin ve tedaviye yardımcı olmak amacıyla mikrobiyolojik teşhisin yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

#### Kaynaklar

- 1-Ahmad, R., Javaid, S. and Lateef, M. (1991) Studies on prevalence, aetiology and diagnosis of subclinical mastitis in dairy animals Pakistan Vet. J., 11, 3, 138-140.
- 2-Alaçam, E., Nizamlioğlu, M., Erganiş, O. ve Sezer, N. A. (1988) Ineklerde subklinik mastitislerin tanısı amacıyla süt ve kanda prostaglandin F2a ile bazı mikrobiyolojik, hücre sel ve biyokimyasal değerlerin araştırılması Doğa Tu Vet. ve Hay. D. 12-1-11-18.
- 3-Aytuğ, C., Alaçam, E ve Görgül, S. (1989) Sığır hastalıkları, Tekno Grafik, İstanbul.
- 4-Ball, H. J. and Greer, D. (1991) N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase test for screening milk samples for subclinical mastitis Veterinary Record, 129, 507-509.
- 5-Beşe, M. (1974) Mikrobiyolojide kullanılan biyokimyasal testler ve Besiyerleri A. Ü. Vet. Fak. Yay. 298, A. Ü. Basımevi Ankara.
- 6-Blowey, R. W. and Collis, K. (1992) Effect of premilking tead disinfection on mastitis incidence total bacterial count, cell count and milk yield in three dairy herds. Vet. Rec. 130, 175-178.
- 7-Bogin, E. and Ziv, G. (1972) Enzymes and minerals in normal and mastitic milk. Cornell Vet., 63, 666-676.
- 8-Bogin, E., Ziv, G. (1973) Enzymes and minerals in normal and mastitic cows milk. Br. Ve. J., 121,154.
- 9-Bogin, E., Ziv, G. and Avidar, J. (1976) Enzyme Activities in normal and inflamed Bovine Udder Tissue Zbl. Vet. Med. A. 23, 460-466.
- 10-Hernandez, G. T. and Hohenboken, W. (1979) Genetic and environmental effects on milk production, milk komposition and mastitis incidence in crossbred ewes. J. Anim. Science. 49, 410-417.
- 11-International Dairy Federation (1981) Laboratory Methods for use in Bovine Milk. J. Vet. Med. A, 34, 721-727.
- 12-Kalaycıoğlu, L. ve Ergun, H. (1980) Atatürk orman çiftliği süt ineklerinde, subklinik mastitisde biyokimyasal yünden araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg. XXII, 1-2, 190-200.
- 13-Kaneko, J. (1989) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press Limitd 24-28 Oval Read, London NW1 7 DX.
- 14-Kirk, J. H. (1984) Somatic Cell in Milk Continuing Education Article. 6,4., 237-246.
- 15-Kitchen, B. J., Middleton, G. and Salmon, M. (1978) Bovine milk N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase and its significance in the detection of abnormal udder secretions. J. Dairy Res. 45, 15-20.
- 16-Koneman, e. W., Allen, S. D., Dowell, W. R. and Sommers, H. M. (1983) Color atlas and textbook of diagnostik 2 nd ed., J. D. Lippin cott, Philadelphia.
- 17-Leslie, K. E., Dohoo, I. and Meek, A. H. (1983) Somatic Cell Counts in Bowine Milk. Continuing Education Article. 5,11, 601-612.
- 18-Maisi, P., Junntila, J. and Seppanen J. (1987) Detection of subclinical mastitis in ewes. Br. Vet. J. 143, 402-409.
- 19-Marchke, R. J. and Mitchen, B. J. (1989) Glucose levels in normal and mastitic milk. J. Dairy Res., 51, 233-237.
- 20-Mijnen, E., Jaartsveld, F. H. J., Albers, G. A. A., Verstegen, M. W. A. and Tielen, M. J. M. (1982) The value of cell count lactose content. pH and conductivity of milk for mastitis detection in individual cows. Neth. Milk Dairy J. 36, 1. 65-77.
- 21-Nizamlioğlu, M., Tekeli, T., Erganiş, O. ve Başpınar, N. (1989) Ineklerde subklinik mastitislerin biyokimyasal ve mikrobiyolojik yünden incelenmesi. S. Ü. Vet. Fak. Derg. 5, 1, 135-143.
- 22-Pape, M. J., Nickerson, S. C. and Ziv. G. (1990) In vivo effects of chloramphenicol tetracycline and gentamicin on bovine neutrophil function and morphologic features. Am. J. Vet. Res. 51, 7, 1055-1051.
- 23-Parantainen, J., Tenhunen, E., Kangasniemi, R., Sankari, S. and Atroshi, F. (1987) Milk and blood levels of silicon and selenium status in bovine mastitis, Veterinary Research Communications, 11, 467-477.
- 24-Pearson, J. K. L., Greer, D. O. and Spence, B. K. (1971) The relationship between bulk milk cell counts and cow and quarter mastitis incidence. Vet. Rec., 88, 488-494.
- 25-Schalm, O. W., Carrols, E. J. and Jain, N. C. (1971) Bovine mastitis, Lea and Febriger Philadelphia.
- 26-Schucken, Y. H., Grommers, F. J., Van de Geer, D. and Brand, A. (1989) Incidence of clinical mastitis on farms with low somatic cell counts in bulk milk. Vet. Rec., 125, 60-63.
- 27-Schultze, W. D. (1985) Developments in the identification of diseased udder quarters cows. IDF seminar "Progress in the control of Bovine mastitis", kiel, F. R. Germany, 319-328.
- 28-Schultze, W. D. Smith, J. W., Jasper, D. E., Klastrup, O., Newbould, F. H. S., Pastle, D. S. and Ullman, W. W. (1971) Performance in microscopic counting of somatic cell in milk. J. Milk, Food Tech., 34, 9, 453-457.
- 29-Sedinova, V., Skarda, J., Skardova, O., Urbanova, E. and Bilek, J. (1984) Direct Enumeration of milk Somatic Cells Collected on membrane Filtres. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig. 38,6, 884-893.
- 30-Skarda, J., Hemrova, S. V., Mikulas, I., Urbanova, O. (1989) Methods of determining the number of somatic cell in cow's milk. Zivoc. Vyr., 34, 323-332.
- 31-Storper, M., Ziv, G. and Saran, A. (1981) Evaluation of several milk sampling methods for the diagnosis of staphylococcus aureus and streptococcus agalactia mastitis. Refuah Vet., 38,4, 149-153.
- 32-Williams. D. J., Marschke, R. J. and Nottingham, S. M. (1991) Effect of stage of lactation, number of lactations and dry period on N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase levels and somatic cell count in bovine milk. The Australian Journal of Dairy Technology, 43-45.
- 33-Wilson, D. J., Bartlett, P. C., Kirk, J. H., Mellenberger, R. W. and Mather, E. C. (1991) N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase as a predictor of milk loss and recovery after clinical mastitis. Am. J. Vet. Res., 52, 7, 1110-1116.
- 34-Wilson, D. J., Herer, P. S. and Sears, P. M. (1990) N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase, Etiologic Agent and duration of clinical sings for sequential Episodes of chronic clinical mastitis in dairy cows, J. Dairy Sci. 74, 1539-1543.