

HOLSTEIN DÜVELERDE SUBKLİNİK MASTİTİS OLGULARI I. PERİPARTUM DÖNEMDE MEME İÇİ ENFEKSİYONLAR¹

Rıfat VURAL²

Ömer ESENDAL³

Hakkı İZGÜR⁴

Selim ASLAN²

Çetin KILIÇOĞLU⁴

Subclinical mastitis cases in Holstein heifers

Part I. Intramammary infection during peripartum period

Summary: *To compare the pathogen bacterial contents of mammary gland in imported and native Holstein dairy heifers during peripartum period and to detect the in vitro antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from infected quarter samples, mammary quarter secretion and foremilk were collected from 60 heifers (n= 238 quarters) at their 8th month of pregnancy, 14 days before expected parturition and 14 days after parturition. Those sixty heifers in 3 different farms also were divided into two groups as imported heifers (n= 120 mammary quarters) and native heifers (n= 118 mammary quarters). Additionally, S. aureus isolated from quarter samples during peripartum period in both groups were tested for antibiotic susceptibility to 10 antimicrobial agents commonly used to treat the intra mammary infection - IMI in Turkey.*

Of 118 quarter samples in native heifers, 11.86 %, 19.49% and 22.88% were infected at 8th month of pregnancy, 14 days before expected parturition and 14 days after parturition, respectively. In imported heifers, within the same periods, the infection rate of 120 quarters were detected as 15 %, 25% and 28.33%, respectively. When the association between native and imported heifers for quarter infection was calculated, a statistical difference was not found between both groups (p > 0.05). The majority of bacteriologically positive quarters in native heifers at prepartum and postpartum periods were infected with Staphylococcus aureus (42.85% on the 8th month of pregnancy, 43.47% at prepartum, 37.03% at postpartum), whereas, in imported heifers, were infected with coagulase -negative staphylococcus (44.44%, 40.0% and 41.37%, respectively). In native heifers, Streptococcus agalactiae was isolated at 14 days prepartum but disappeared at postpartum period, in addition, Streptococcus dysgalactiae was rarely isolated at 8th month of pregnancy and 14 days prepartum (7.14% and 4.34%), however, was rapidly increased at postpartum period (14.81%). In imported heifers, S. dysgalactiae was first isolated at 8th month of pregnancy (16.66%), increased at 14 days prepartum (20.0%) and then remained constant at 14 days postpartum (20.58%). S. aureus isolated from quarter samples was strongly sensitive to

1. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından Desteklenmiştir (proje no. 96-10-00-20)
2. Doç.Dr., Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110-Ankara
3. Doç.Dr., Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, 06110-Ankara
4. Prof.Dr., Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110-Ankara

norfloxacillin and lincocin ($p < 0.01$) but resistance against ampicillin and cephalosporin.

In this study, findings indicated that the most commonly isolated bacterial species during peripartum period were *S. aureus* and CNS, IMI rates were not reduced together with parturition and remained constant in both groups and the suitable treatment of quarters infected with *S. aureus* in primigravid heifers, by means of the antibiotic sensitivity test, should not be neglected to prevent the possible persistent infection during further lactation period

Key words : heifer, intramammary infection, peripartum

Özet : Türkiyede yetiştirilen (yerli düve) ve ithal edilen Holstein düvelerde (ithal düve) peripartum dönemde meme dokusundaki patojen bakterileri karşılaştırmak ve bu dönemde izole edilen *S. aureus* suşlarının in vitro duyarlı olduğu antibiyotik grubunun belirlenmesi amacı ile çalışmaya alınan 60 baş düve, ithal düveler ($n = 120$ meme lobu) ve yerli düveler ($n = 118$ meme lobu) olarak ikiye ayrıldı.

Toplam 238 meme lobundan gebeliklerinin 8. ayı, beklenen doğumdan 14 gün önce ve postpartum 14. gün meme sekresyonu ve süt örneği toplandı. Bununla birlikte, her iki grupta peripartum dönemde meme loblarından izole edilen *S. aureus* suşlarına Türkiye'de son yıllarda meme içi enfeksiyonlarda sıklıkla kullanılan 10 antibakteriyel ajanı içeren diskler ile duyarlılık testi uygulandı.

Yerli düvelerde gebeliklerinin 8. ayı, prepartum ve postpartum 14. gün süt örneği alınan meme loblarının sırası ile %11.86, %19.49 ve %22.88'nin enfekte olduğu belirlenirken; ithal düvelerde bu oranlar sırası ile %15, %25 ve %28.33 olarak gözlemlendi. İstatistiki olarak her iki grup arasında enfekte meme lobları yönünden belirgin bir farklılık gözlenemedi ($p > 0.05$). Yerli düvelerde prepartum ve postpartum dönemde enfekte meme loblarının büyük bir çoğunluğundan *S. aureus* izole edilirken (gebeliğin 8. ayında %42.85, prepartum 14. gün %43.47 ve postpartum 14. gün %37.03) ithal düvelerde bakteri pozitif meme loblarının büyük çoğunluğunu koagülaz -negatif staphylococ'lar oluşturdu (%44.44, %40.0 and %41.37). Yerli düvelerde bakteri pozitif meme loblarında bunların yanı sıra *S. agalactiae* etkenleri prepartum 14. gün izole edilmesine rağmen postpartum 14. gün bu etken izole edilemedi. Bu grupta gebeliğin 8. ayı ve prepartum 14. gün düşük oranda (sırası ile %7.14 and %4.34) izole edilen *S. dysgalactiae* etkenlerinin postpartum 14. gün yükseldiği belirlendi (%14.81). İthal düvelerde, gebeliğin 8. ayında %16.66 oranında izole edilen *S. dysgalactiae* etkenlerinin, prepartum 14. gün arttığı (%20) ve postpartum 14. gün sabit kaldığı gözlemlendi (%20.58). Çalışma süresince izole edilen *S. aureus* suşlarının in vitro koşullarda norfloxacillin ve lincocin'e oldukça duyarlı ($p < 0.01$) ve ampicillin ve cephalosporine dirençli oldukları belirlendi.

Sunulan çalışmada elde edilen bulgular ile , her iki grupta peripartum dönem süresince sıklıkla izole edilen bakterilerin *S. aureus* ve koagülaz negatif staphylococcus türleri olduğu; meme içi enfeksiyon oranının doğum ile birlikte azalmayıp sabit kaldığı ve bir sonraki laktasyonda kalıcı meme içi enfeksiyonları önlemek için *S. aureus* izole edilen meme loblarının anında duyarlı bir antibiyotik ile tedavisinin ihmal edilmemesi gerektiği işaret edilmiştir.

Anahtar kelimeler : düve, meme içi enfeksiyon, peripartum

Giriş

Birçok işletmede gebe düvelerde meme sağlığı ve hijyeni, bu hayvanların sağım aşamasında olmamaları nedeni ile ve akut bir tablo ortaya çıkmadığı sürece ihmal edilmektedir. Dolayısı ile doğum ile birlikte laktasyona giren düveler meme içi enfeksiyonlardan arı olarak kabul edilmektedir. Bu hatalı düşüncenin etkisi ile birçok işletmede daha ilk laktasyonda beklenen süt veriminin elde edilememesi, bir veya daha fazla meme lobunun kuruya çıkartılması olguları ile karşı karşıya kalınmaktadır (29). İneklerde meme alveoler dokusunun büyük bir kısmının ilk gebeliklerinin son 3 aylık döneminde şekillendiği gözönüne alınırsa yetiştirme açısından düve mastitilerinin ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır.

İneklerde patojen mastitis etkenleri epidemiyolojik olarak; öncelikle major ve minor patojenler olarak ikiye; major patojenler de bulaşıcı mastitis etkenleri (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Mycoplasma spp.*) ve çevresel mastitis etkenleri (Gram negatif bakteriler- *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.* ve *Proteus spp.*; çevresel streptokoklar- *S. agalactiae* haricindeki diğer streptokoklar ve *Enterococcus faecalis*) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (8, 9, 30). Bulaşıcı mikroorganizmaların primer odağı olarak enfekte meme lobu (8); çevresel etkenlerin primer odağı olarak da altlık ve hayvanların buldukları ortam gösterilmektedir (30). Koagülaz negatif stafilkoklar (CNS- *S. hyicus*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. hominis* ve *S. haemolyticus*) ve *Corynebacterium bovis* minor patojenler grubunu oluşturmaktadır (9). Özellikle gebe düvelerde belirli oranda meme sekresyonundan izole edilen CNS etkenleri; meme dokusunun iyi huylu mikroorganizmaları olarak kabul edilmektedirler. Bu etkenlerin meme sağlığı üzerindeki etkileri tam olarak açıklanamamış ve CNS ile enfekte hayvanlarda süt veriminin düşüğü belirlenmiştir (9, 29).

S. agalactiae'nin eradike edildiği ülkelerde gebe düvelerde sıklıkla *S. aureus*, CNS, "Yaz Mastitis" lerinin nedeni olan bakteriler (özel-

likle *Actinomyces pyogenes*), *Coliform* mikroorganizmalar ve *Mycoplasma bovis* enfeksiyonları sorun oluşturmaktadır (29). Gebe düvelerde patojen mastitis etkenlerinin bulaşma kaynağı tam olarak anlaşılammakla birlikte ; buzağuların birbirlerini emmesi, buzağuların enfekte süt ile beslenmeleri, travmalar, enfekte vagina ve burun akıntıları, enfekte çevre - altlık ve sineklerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (28, 29). Düve mastitilerinin kontrolünde, doğum öncesi 7-14. günde meme içi antibiyotik uygulamalarının, sinekle mücadelenin, kuru ve temiz bir barınma ortamının etkili olduğu vurgulanmaktadır (18, 29, 34).

S. aureus enfeksiyonlarının meme dokusunda mikro apse odakları oluşturma özellikleri bu etkene bağlı meme içi enfeksiyonların tedavisinde ilacın etkinliğini azaltan en önemli faktördür. Özellikle ilk laktasyondaki hayvanlarda olgu erken dönemde teşhis edilip etkili antimikrobiyel bir ilaç uygulanırsa tedavi başarısı ve laktasyonun ilerleyen dönemlerinde oluşturacağı kronik tablo ortadan kaldırılmakta veya risk en aza indirilebilmektedir (16).

Sunulan çalışma ile; Türkiye'de yetiştirilen ve ithal edilen Holstein düvelerde gebeliklerinin 8. ayı, prepartum 14. gün ve postpartum 14. gün meme dokularındaki olası patojen bakterileri karşılaştırmak ve bu dönemde izole edilen *S. aureus* suşlarının *in vitro* duyarlı olduğu antibiyotik grubunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Düvelerin seçimi

Çalışmada 30 baş, gebeliklerinin 5-6. ayı civarında, yurt dışından ithal edilen ve 30 baş Türkiye koşullarında yetiştirilmiş toplam 60 baş Holstein düve kullanıldı. Türkiye koşullarında yetişen siyah beyaz alaca düveler (Holstein), yaş gruplarına göre toplu yetiştirilmenin gerçekleştirildiği; sert kış koşullarında bağlı sistem, bahar ve yaz aylarında açık padok sisteminin uygulandığı, altlık olarak balya saman kullanılan ve sağım hijyeni ön planda tutularak günde iki kez, makinalı sağım yapılan Bala Tarım İşletmesinden temin edildi. Bu düveler ilk tohumlama yaşı olarak 300 kg ve 17 aylık

yaş sınırı kriter olarak alınmıştır. İthal düveler, Ankara Bölgesinde bünyesinde sadece gebe veya birinci laktasyonda olan ithal düve bulduran iki işletmeden temin edilmiştir. Bu işletmelerde düveler, Tarım İşletmesinde olduğu gibi sert kış koşullarında bağlı sistem, bahar ve yaz aylarında açık padok sistemi uygulanan, altlık olarak balya saman kullanılan, günde iki kez makinalı sağım yapılan bir yetiştirme ortamında tutulmaktaydı. Bu düvelerin yurt dışındaki büyüme ve yetiştirme koşulları hakkında bilgi alınmadı. Çalışmaya alınan işletmelerde rutin aşılama programları tamamlanmış olup işletmelerin özellikle tuberkuloz ve bruselloz yönünden negatif oldukları belgelenmiştir.

Gruplandırma ve Yöntem

Çalışmaya alınan hayvanlar yurt dışından ithal edilen (n= 120 meme lobu-30 baş) ve Türkiye koşullarında yetiştirilen Holstein düveler (n= 118 meme lobu-30 baş) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Çalışmaya alınan Türkiye koşullarında yetişmiş Holstein düvelerin yapılan ilk muayenelerinde 2 meme lobunun fonksiyonel olmadığı belirlendi.

Her iki gruptaki düvelere benzer yöntem uygulanarak; kayıt sistemi ve son tohumlama tarihleri baz alınarak; gebeliklerinin 8. ayında, parturum yaklaşık 14. günde meme sekresyonu ve postpartum 14. günde de bakteriyolojik muayene amacı ile süt örnekleri alındı. Çalışmada meme enfeksiyonları subklinik yönüyle incelendi.

Meme Sekresyonu ve Süt Örneklerinin Toplanması

Gebeliğin 8. ayında ve parturum 14. günde meme başları, %1' lik iodophor solusyonu ve sonrasında %70'lik isopropyl alkol emdirilmiş pamuk ile temizlenerek ortalama 5 ml miktarında meme sekresyonu steril tüplere alındı. Postpartum 14. gün süt örneklerinin toplanması amacıyla sabah sağımını izleyen 2-3 saat içinde meme başları ve ostium papillaris %1'lik iodophor'lu solusyon ile temizlendi ve ilk üç sıklık süt strip kaba sağıldı. Meme başları ve ostium papillare %70'lik isopropyl alkol emdirilmiş pamuk ile temizlenerek yaklaşık 10 ml süt steril tüplere alındı. Tüm düvelerde

örnek alımları sonrası meme başları %1' lik iodophor içeren solusyon ile daldırma işlemine tabi tutuldu (10)

Alınan meme sekresyonu ve süt örnekleri buz kalıpları arasında en geç 3 saat içinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldı.

Bakteriyolojik Değerlendirme

Bakteriyoskopi

Laboratuvara getirilen meme sekresyonu ve süt örneklerinden, örneklerde bulunabilecek mikroorganizmalar hakkında ön bilgi elde etmek amacı ile, preparatlar hazırlanarak Gram, Gimsa ve Ziehl-Neelsen yöntemleri ile boyandı.

Kültür

Meme sekresyonu ve süt örneklerinden %7 koyun kanlı agar, MacConkey agar ve PPLO agar ayrı ayrı ekimler yapılarak kültürler aerobik ve %10 CO₂'li ortamlarda, 37°C'de uygun sürelerde inkübe edildi. Koyun kanlı agar ve MacConkey agarlar 37°C'de en az 24 saat süreyle inkübe edildi ve şekillenen koloniler morfolojik, kültürel, biyokimyasal, antijenik ve fizyolojik özelliklerine göre tanımlandı. Mycoplasma türlerinin izolasyonu amacı ile ekim yapılan PPLO agarlar da 37°C'de en az bir hafta süreyle inkübe edildi.

İdentifikasyon

Besiyerlerinde üreyen mikroorganizmaların identifikasyonu amacı ile Staphylococcus türleri için clumping factor (11, 12), koagülaz (22, 32), TNase (13), DNase (38) ve Protein-A (23) testleri; Streptococcus türleri için koagülasyon (6), CAMP (36), eskülin hidrolizasyonu (36) ve sodyum hippurat hidrolizasyonu (31) testleri; Coliform ve diğer bakteri türleri için de konvansiyonel identifikasyon teknikleri (24) kullanıldı.

Antibiyotik duyarlılık testi

Çalışmada antibiyotik duyarlılık testleri, düvelerde, gebeliğin 8. ayı, parturum 14. gün

ve postpartum 14. gün izole edilen *S. aureus* suşlarına uygulandı. İzole ve identifiye edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlendi (2).

İstatistiki Değerlendirme

İthal ve yerli Holstein düvelerde enfekte meme lobu sayısının gebelik ve laktasyon dönemlerine göre farklılıkları **ki-kare** yöntemi ile araştırılmış, yerli ve ithal düvelerde izole edilen mastitis etkenlerinin gebelik ve laktasyon dönemlerine göre farklılıkları ve yerli ve ithal düvelerde gebeliğin 8. ayı, pre ve postpartum 14. gün izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları **parametrik olmayan istatistik analiz yöntemleri** kullanılarak incelenmiştir (Kruskal Wallis, Mann Whitney-U testi)

Bulgular

Yerli düvelerde gebeliğin 8. ayında çalışmaya alınan meme loblarının %11.86'sının enfekte olduğu gözlemlendi. Bu dönemde enfekte meme loblarının %42.85'ini *S. aureus*, %21.42'sini ise CNS enfeksiyonları oluşturmuştur. Prepartum 14. günde meme loblarının %19.49'unun enfekte olduğu ve bu enfekte meme loblarının %43.47'sinin *S. aureus*, %13.04'ünün CNS ve *S. agalactiae* etkenlerinin oluşturduğu belirlendi. Yerli düvelerde postpartum 14. gün alınan süt örneklerinde %22.88 oranında enfekte meme lobu belirlenirken; bu meme loblarından %37.03'ünde *S. aureus*, %29.62'sinde CNS ve %14.81'inde *S. dysgalactiae* etkenleri izole edilmiştir (tablo 1 ve 2).

Tablo 1. Yerli ve ithal Holstein düvelerde gebeliğin 8. ayı, prepartum ve postpartum 14. gün etken izole edilen meme lobu sayısı ve oranı

Table 1. Bacteriologically positive mammary quarter rates in native and imported heifers at 8th month of their pregnancy, 14 days prepartum and 14 days postpartum

	ENFEKTE MEME LOBU SAYISI (%)		
	Gebeliğin 8. Ayı	Prepartum 14. gün	Postpartum 14. Gün
YERLİ DÜVE (n= 118 meme lobu)	14 (11.86)	23 (19.49)	27 (22.88)
İTHAL DÜVE (n= 120 meme lobu)	18 (15.0)	30 (25.0)	34 (28.33)

Tablo 2. Yerli Holstein düvelerde enfekte meme loblarından izole edilen mastitis etkenlerinin dağılımları.

Table 2. Distribution of the bacteria isolated from infected mammary quarters in native heifers

İzole Edilen Etken	Gebeliğin 8. ayı (n=14)	Prepartum 14.gün (n=23)	Postpartum 14. gün (n=27)
<i>S. aureus</i> (%)	6 (42.85)	10 (43.47)	10 (37.03)
<i>S. intermedius</i> (%)		1 (4.34)	1 (3.70)
Koagülaz negatif Stafilokok-CNS (%)	3 (21.42)	3 (13.04)	8 (29.62)
<i>S. dysgalactiae</i> (%)	1 (7.14)	1 (4.34)	4 (14.81)
<i>S. agalactiae</i> (%)	1 (7.14)	3 (13.04)	
<i>C. bovis</i> (%)		1 (4.34)	1 (3.70)
<i>C. pyogenes</i> (%)		1 (4.34)	
Miks enfeksiyon (%)	3 (21.42)	2 (8.69)	2 (7.40)
Diğer (%) ^{1*}		1 (4.34)	1 (3.70)

* Acinetobacter spp.

Yerli düvelerde prepartum 14. gün %13.04 düzeyinde izole edilen *S. agalactiae* etkenleri postpartum 14. günde belirlenemezken; gebeliğin 8. ayı ve prepartum 14. gün oldukça düşük düzeyde bulunan *S. dysgalactiae* etkenlerinin postpartum 14. gün belirgin bir yükselme eğrisi çizdiği gözlemlendi. Yerli düvelerde ayrıca gebeliğin 8. ayı, prepartum ve postpartum 14. gün baskın mikroorganizma olarak *S. aureus* belirlenmesine rağmen laktasyonla birlikte CNS enfeksiyonlarında önemli bir yükselme eğrisi çizdiği belirlendi (tablo 2).

Çalışma süresince 120 meme lobunun incelendiği ithal Holstein düvelerde gebeliğin 8. ayında meme loblarının %15'inin enfekte olduğu belirlendi. Bu enfekte meme loblarının % 22.22'sinde *S. aureus*, % 44.44'ünde CNS ve %16.6'sında *S. dysgalactiae* izole edildi. Aynı düvelerde prepartum 14. gün muayene edilen meme loblarının % 25'inin enfekte olduğu ve bunların %26.60 'ından *S. aureus*, %40'ından CNS, %20'sinden *S. dysgalactiae* izole edildi. İthal Holstein düvelerde postpartum 14. gün %28.33 olarak belirlenen enfekte meme loblarının % 26.47'sinde *S. aureus*, % 41.17'sinde CNS ve % 20.58'inde *S. dysgalactiae* izole edildi (tablo 1 ve 3).

İthal Holstein düvelerde yerli düvelerin tamamen tersine; belirtilen gebelik ve laktasyon dönemlerinde baskın mikroorganizma olarak CNS etkenleri gözlemlendi. Çevresel bir mikroorganizma olan *S. dysgalactiae* doğuma yakın ve postpartum 14. gün bir yükselme eğrisi çizerken; bulaşıcı bir mikroorganizma olan

S. aureus prepartum ve postpartum 14. gün sabit bir düzey izledi (tablo 3).

İstatistiki olarak; gebeliğin 8. ayı, prepartum 14. gün ve postpartum 14. gün ithal ve yerli Holstein düvelerde enfekte meme lobu sayısı açısından önemli bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0.05$).

Yerli ve ithal Holstein düvelerde gebeliğin 8. ayı, prepartum 14. gün ve postpartum 14. gün izole edilen ve meme dokusunda önemli patolojilere ve kronik enfeksiyonlara neden olan *S. aureus* suşlarının yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde norfloxacin ve lincocin'e +4 ve +3 düzeyinde duyarlı ($p < 0.01$), cephalosporin ve ampicilin'e dirençli olduğu belirlendi (tablo 4).

Tartışma

Düve meme dokusu yetiştiriciler tarafından genellikle enfeksiyondan arı olarak kabul edilmekte ve buzağılamayı takiben klinik mastitis gözlenene kadar bu meme lobları mastitis kontrol programları çerçevesinde dikkate alınmamaktadır. Finlandiya'da düve mastitisleri üzerinde veri incelemeleri yapan Myllys ve Rautala (17), bu ülkede düve mastitislerinin 1/3'nün immun fonksiyonların zayıfladığı prepartum 7 ile postpartum 7. gün arasında şekillendiğini belirlemişler ve düvelerde ilk laktasyonda mastitislere bağlı kayıpların hayvan başına 70-80 kg arasında değiştiğini vurgulamışlardır. Bu da düvelerde mastitis etkenlerinin alveoler dokuda dönüşümü olmayan yıkımlanmalara neden olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. İthal Holstein düvelerde enfekte meme loblarından izole edilen mastitis etkenlerinin dağılımları.
Table 3. Distribution of the bacteria isolated from infected mammary quarters in imported heifers

İzole Edilen Etken	Gebeliğin 8. ayı (n=18)	Prepartum 14.gün (n=30)	Postpartum 14. gün (n=34)
<i>S. aureus</i> (%)	4 (22.22)	8 (26.60)	9 (26.47)
Koagülaz negatif Stafilokok-CNS (%)	8 (44.44)	12 (40.0)	14 (41.17)
<i>S. dysgalactiae</i> (%)	3 (16.66)	6 (20.0)	7 (20.58)
<i>Streptococcus grup G</i> (%)	1 (5.55)	2 (6.60)	2 (5.88)
Diğer (%) [*]	2 (11.11)	2 (6.60)	2 (5.88)

*E. coli, citrobacter

Tablo 4. Yerli ve ithal Holstein düvelerde gebeliğin 8. ayı, prepartum ve postpartum 14. gün izole edilen *S. aureus* susularının antibiyogram duyarlılık sonuçları (n= 47)Table 4. Antibiotic sensitivity test results of *S. aureus* isolated from infected quarters of native and imported heifers at 8th month of their pregnancy, 14 days prepartum and 14 days postpartum (n=47)

ANTİBİYOTİK	ETKENİN DUYARLILIK DERECESESİ				
	+4	+3	+2	+1	Dirençli
Norfloxacin	% 68.08 ^a	%31.91 ^c			
Lincocin	% 59.57 ^a	%40.42 ^a			
Neomycin	%31.91 ^b	%68.08 ^b			
Lincopectin	%27.65 ^b	%61.70 ^b	%10.63 ^b		
Tetramycin	%23.40 ^b	%48.93 ^a	%23.40 ^b		%4.25
Gentamycin	%10.63 ^c	%63.82 ^b	%31.91 ^a		
Streptomycin	%4.25	%63.82 ^b	%31.91 ^a		
Nitrofurantoin		%44.68 ^a	%55.32 ^c		
Ampicillin	%8.51 ^c	%17.02 ^c	%40.42 ^c	%4.25	%29.78 ^a
Cephalosporin			%8.51	%53.19	%38.29 ^a

a,b,c. birbirinden farklı (p <0.001)

Birçok çalışmada gözleendiği gibi gebe düvelerde prepartum dönemde meme içi enfeksiyon oranı %22.0-86.2 arasında değiştiği (4, 7, 15, 19, 27, 33); bu enfeksiyonların önemli bir kısmını *S. aureus* ve CNS enfeksiyonlarının oluşturduğu fakat CNS enfeksiyonlarının daha baskın olduğu (4, 15, 19, 27, 33); düvelerde gebeliğin son 1/3'lük döneminde meme enfeksiyonlarının daha fazla yoğunlaştığı ancak doğumla birlikte bu enfeksiyonların bir kısmının spontan iyileşme göstererek enfekte meme lobu sayısının azaldığı (1, 5, 19) ve düvelerde meme içi enfeksiyonların dağılımlarının mevsime, bölgeye ve bakım koşullarına göre değiştiği vurgulanmaktadır (1, 7, 17, 35). Sunulan çalışmada yerli düvelerde gebeliğin 8. ayında ve prepartum 14. gün alınan meme sekresyonu örneklerinde sırası ile %11.86 ve %19.49 oranında enfekte meme lobu belirlenirken bu oran postpartum 14. günde %22.88'e yükselmiştir. İthal düvelerde ise benzer dönemlerde enfekte meme lobu oranının %15, %25 ve %28.33 olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel olarak gerçek yerli gerekse ithal düvelerde gebeliğin ve laktasyonun belirtilen dönemlerinde enfekte meme lobu yönünden önemli bir farklılık elde edilememiştir (p >0.05). Gebeliğin son döneminde

enfekte meme lobu sayısının artması bir kısım araştırmacının belirttiği gibi (7, 17), meme alveoler doku sayısının artmasına, kanal sisteminin gelişmesi ve genişlemesinin, meme loblarında toplanan sekresyon miktarının artmasına bağlanabilir. Örnekleme azlığı nedeniyle istatistiki bir değerlendirme yapılamasa da yerli düvelerde gebeliğin 8. ayı ve prepartum 14. gün baskın mikroorganizma *S. aureus* (%42.85 ve %43.47) iken ithal düvelerde CNS (%44.44 ve %40) olarak belirlendi. Bu baskınlık ithal düvelerde postpartum 14. günde devam ederken (%41.17) yerli düvelerde belirtilen dönemde enfekte meme loblarında CNS ve *S. aureus* (sırası ile %29.62 ve %37.03) etkenleri yaklaşık oranlarda gözlenmiştir. *S.aureus* ile birlikte diğer bir bulaşıcı mastitis etkeni olan *S. agalactiae* yerli düvelerde prepartum 14. gün izole edilmesine rağmen laktasyonla birlikte etkenin spontan olarak eradike edildiği belirlendi. *S. agalactiae* ithal düvelerde gebeliğin ve laktasyonun belirtilen dönemlerinde izole edilemedi. Sunulan çalışmada bir kısım araştırmacıların açıkladığı gibi (1, 5, 19) postpartum dönemde enfekte meme lobu sayısında prepartum döneme göre bir azalma gözlenemedi.

White ve ark. (37), doğum yapmamış 12-24 aylık düvelerde meme başı derisi ve meme başı kanalındaki CNS türlerinin farklılıklarının hayvanın yaşadığı çevre koşullarına, türler arasındaki rekabete bağlı olduğunu ve bu mikroorganizmaların patojenik etkiye sahip olabileceklerini açıklarken; Lam ve ark. (14), ineklerde minor patojenlerin (CNS ve *C. bovis*), *S. aureus* enfeksiyonlarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu; *C. bovis*'in bulunduğu ortamlarda bu etkinin özellikle sonradan şekillenen *S. aureus* enfeksiyonlarında CNS göre daha yüksek olduğunu açıklarken minor patojenlerin *E. coli* ve bazı çevresel mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadıklarını da belirlemişlerdir. Minor patojenlerin *S. aureus*'a karşı bu koruyucu etkilerinin mekanizmasını mikroorganizmalar arasındaki rekabete, antogonizime, leukositozisin uyarılmasına ve canlıda immunitenin artırılmasına bağlansa da (3); Lam ve ark. (14) bu durumu, meme başı kanalındaki mikroorganizmalar arasındaki antagonizma ile ifade etmektedirler.

Gebe düvelerde *S. aureus* etkenlerinin meme dokusuna nasıl ulaştıkları tam olarak açıklanamamakla birlikte; Roberson ve ark. (26), *S. aureus* enfeksiyonlarının en önemli kaynağı olarak işletmedeki diğer ineklerin sütleri ve düvelerin vücut yapısı olarak belirtmişler ve bunların düve meme dokusuna geçiş yolu olarak hayvanların sosyal ortam ve teması, ve etkenin meme başı derisinde oluşturduğu dirençli kolonizasyonların önemli rol oynadığı vurgulamışlardır. Roberson ve ark. (25), yaptıkları diğer bir çalışmada, doğum anında *S. aureus* enfeksiyonlarına sahip düvelerin önemli bir bulaşıcı enfeksiyon kaynağı oluşturabileceklerini savunmuşlardır. Sunulan çalışmada prepartum ve postpartum dönemde izole edilen *S. aureus* suşlarının genetik tanımlaması yapılmadığı için postpartum dönemde elde edilen *S. aureus* suşlarının yeni bir enfeksiyon mu yoksa prepartum dönemden devam eden bir enfeksiyon mu olduğu ayırt edilemedi.

Waage ve ark. (35), Norveç'te düvelerde prepartum dönemde toplanan meme sekresyonlarından yapılan bakteriyolojik ekim-

lerde birçok düvede patojen mastitis etkenlerine rastlanıldığını açıklamışlardır. Araştırmacılar düvelerde akut mastitis olgularının nedeni olarak ani yeni meme içi enfeksiyonlarını göstererek mevcut subklinik enfeksiyonların alevlenerek bunda rol oynayamayacaklarını bildirmişlerdir. Norveç'te, ülkenin sahil bölgelerinde diğer bir deyimle nemli ortamlarda düve mastitisleri ve özellikle *A. pyogenes*'in neden olduğu yaz mastitislerinin daha sık rastlanıldığını; yavaş süt akımına sahip düvelerde daha yüksek oranda mastitis olgularının gözlemlendiğini açıklamışlar ve doğuma yakın dönemde mastitis olgularına daha sık rastlamışlardır. Ayrıca doğumdan oldukça kısa bir dönem önce çiftlik değiştiren düvelerin (doğuma 20-30 gün kala) meme içi enfeksiyonlara oldukça duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Arestrup ve Jensen (1), düvelerde *S. dysgalactiae* enfeksiyonlarının doğuma 1 hafta kala ani bir yükselme gösterdiğini ve bu yükselişini doğumu izleyen ilk haftada devam ettirmesine rağmen laktasyonun 1. ayında bu etkenin izolasyon oranının belirgin bir düşüşle seyrettiğini açıklamışlardır. Sunulan çalışmada benzer şekilde, ithal düvelerde prepartum ve postpartum 14. gün belirgin bir yükselme eğrisi çizen ve çevresel bir mikroorganizma olan *S. dysgalactiae* etkenleri yerli düvelerde yüksek oranda postpartum 14. gün gözlenmiştir. Calvino ve Oliver (5), *S. dysgalactiae* etkenlerinin ökaryotik hücreleri yıkımlayarak ve canlılığını kaybetmeden uzun süre yaşama yeteneğine sahip olduğunu ve ayrıca etkenin subepitelyal dokuda kolonize olarak vücudun savunma sisteminden ve antibiyotiklerden korunduğunu ve bununla bağlantılı olarak dirençli enfeksiyonların oluşmasına neden olduğunu belirtmektedirler. Bir kısım araştırmacılar *A. pyogenes*'in neden olduğu yaz mastitislerinin *S. dysgalactiae* enfeksiyonları olarak başladığını diğer bir deyimle *S. dysgalactiae* etkenlerinin *A. pyogenes*'in meme dokusunda kolonize olabilmesi için ideal bir ortam hazırladığını belirtmesince rağmen (9) sunulan çalışmada *S. dysgalactiae* izole edilen düvelerde *A. pyogenes* etkenine rastlanılmamıştır.

McDonald ve Anderson (16), izole edilen *S. aureus* suşlarının %90'ının bacitracin, cep-

halothin, chloromycetin, cloxacillin, erythromycin, gentamycin, lincocin, neomycin, nitrofurazone, oleandomycin ve vancomycin duyarlı; ampicillin, penicillin ve polymyxin B'ye ise dirençli olduklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *S. aureus*'un CNS etkenlerine göre antibiyotiklere karşı dirençliliğinin yüksek olduğunu da gözlemişlerdir. Trinidad ve ark. (34) yaptıkları bir çalışmada, *S. aureus* etkenlerine sahip gebe düvelerde penicillin / streptomycin kombinasyonlarının oldukça etkili olduğunu ve *S. aureus* prevalansını doğum sonrası %17.1'den %2.9'a düşürdüğünü açıklamışlardır. Oliver ve ark. (20), gebe düvelerde enfekte meme lobları üzerinde etken ayırımı yapmaksızın, sodium cloxacillin ve cephalosporin'in etkisini araştırdıkları çalışmalarında enfekte meme lobu yüzdesini sodium cloxacillinin %50'den %8.6'a, cephalosporinin ise %70.1'den %2.1'e düşürdüğünü gözlemişlerdir. Kontrol grubunda ise bu oranlar, %62.2 ve %44.5 olarak belirlenmiştir. Owens ve ark. (21), deneysel olarak *S. aureus* etkeni ile meme içi enfeksiyon oluşturdukları gebe düvelerin 13 meme lobuna prepartum 7-8. hafta 300 mg cephalosporin benzathine uygulamışlardır. Bu uygulama sonrası ilaç verilen tüm meme loblarının doğum anında enfeksiyondan arı oldukları belirlenmiştir. Sunulan çalışmada prepartum ve postpartum 14. gün izole edilen *S. aureus* suşlarının *in vitro* koşullarda norfloxacin ve lincocin'e duyarlı, ampicillin ve cephalosporin'e dirençli oldukları belirlendi. Elde edilen bu sonuçlar kullanılan antibiyotik diskleri farklı olmakla birlikte McDonald ve Anderson (16)'un *in vitro* koşullarda elde ettiği sonuçlarla eşdeğer olduğu; her ne kadar sunulan çalışmada *in vivo* uygulama yapılsa da Trinidad ve ark. (34)'nin *in vivo* koşullarda streptomisin'den elde etmiş olduğu başarı oranı *in vitro* koşullarda gözlenemedi. Ancak; McDonald ve Anderson (16)'un belirttiği gibi farklı sürülerden elde edilen *S. aureus* etkenlerinin bir örnek antibiyotik duyarlılık reaksiyonu veremeyecekleri unutulmamalıdır.

Sonuç olarak; Türkiye'de inek mastitisi üzerinde bir çok çalışma yapılmış olmasına rağmen; düve mastitisi üzerinde ilk olan bu çalı-

şma ile yerli ve ithal düvelerde gebeliklerinin 8. ayı, prepartum ve postpartum 14. gün alınan meme sekresyonu ve süt örneklerinden elde edilen enfekte meme lobu açısından belirgin bir farklılığın olmadığı; her iki grupta da gebeliğin 8. ayı ve prepartum dönemde baskın mikroorganizmaların literatürlerle uyumlu olarak *S. aureus* ve CNS etkenleri olduğu fakat bir çok çalışmanın aksine bu baskın özelliklerini postpartum dönemde de korudukları belirlenmiştir. Her iki grupta ayrıca gebeliğin son dönemi ve laktasyon başında *S. dysgalactiae* etkenleri de yükselme eğilimi göstermiştir. İşletmedeki tüm düvelerden prepartum 14. gün alınacak meme sekresyonu ve süt örneklerinde *S. aureus* izole edilen düveler yakın takibe alınmalı ve sunulan çalışmada her ne kadar *in vivo* uygulama yapılsa da; elde edilen antibiyogram sonucuna göre bu düvelerin laktasyondan en az 10 gün önce meme içi antibiyotik uygulamalarının yapılmasının dirençli enfeksiyonların oluşmasını önlemek amacıyla oldukça etkili olacağı kamısına varıldı.

Kaynaklar

1. Aarestrup, F.M., Jensen, N.E. (1997) Prevalence and duration of intramammary infection in Danish heifers during the peripartum period. J Dairy Sci, 80, 307-312.
2. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Tenckhoff, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Path. 45, 493-496.
3. Black, R.T., Bourland, C.T., Marshall, R.T. (1972) California mastitis test and bacterial invasions in quarters infected with *Corynebacterium bovis*. J Dairy Sci, 55, 1016-1017.
4. Boddie, R.L., Nickerson, S.C., Owens, W.E., Watts, J. (1987) Udder microflora in nonlactating heifers. Agri-Pract, 8, 22-25.
5. Calvino, L.F., Oliver, S.P. (1998) Invasion and persistence of *Streptococcus dysgalactiae* within bovine mammary epithelial cells. J Dairy Sci, 81, 678-686.
6. Christensen, P., Kahlmeter, G., Johnson, S., Kronval, G. (1973) New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies adsorbed to protein-A containing staphylococci. Infect Immun, 7, 881-885.
7. Fox, L.K., Chester, S.T., Hallberg, J.W., Nickerson, S.C., Pankey, J.W., Weaver, L.D. (1995) Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. J Dairy Sci, 78, 1619-1628.
8. Fox, L.K., Jhon, G. (1993) Contagious mastitis. Vet Clin North Am: Food Animal Practice, 3, 475-487.

9. Honkanen, T., Seuna, E. (1995) *Isolation and identification of pathogens from milk*. 121-142. In : M. Sandholm, T. Honkanen, L. Kaartinen, S. Pyörälä (Ed.): *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki-ISBN 951-834-047-1.
10. International Dairy Federation (1987) *Bovine mastitis. Definition and guidelines for diagnosis*. IDF Bull. No. 211. Int Dairy Fed Brussels, Belgium
11. Jungkind, D.L., Torhan, N.J., Corman, K.F., Bondi, J.M. (1984) *Comparison of two commercially available test methods with conventional coagulase test for identification of Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, **19**, 191-193.
12. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Simmer, H.M. (1979). *Diagnostic Microbiology*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto.
13. Lachica, R.W.E., Hoerich, P.D., Gerigeorgis, C. (1971) *Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity*. Appl Microbiol, **21**, 585-587.
14. Lam, T.J.G.M., Schukken, Y.H., van Vliet, J.H., Grommers, F.J., Tielen, M.J.M., Brand, A. (1997) *Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland*. AJVR, **1**, 17-22.
15. Matthews, K.R., Harmon, R.J., Langlois, B.E. (1992) *Prevalence of Staphylococcus species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows*. J Dairy Sci, **75**, 1835-1840.
16. McDonald, J.S., Anderson, A.J. (1981) *Antibiotic sensitivity of Staphylococcus aureus and coagulase negative staphylococci isolated from infected bovine mammary glands*. Cornell Vet, **71**, 391-396.
17. Myllys, V., Rautala, H. (1995) *Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers*. J Dairy Sci, **78**, 538-545.
18. Nickerson, S.C., Owens, W.E., Boddie, R.L. (1994) *Mastitis in Heifers: prevalence and control of mastitis in breeding age heifers*. Agri- Pract. **5**, 14- 18.
19. Oliver, S.P. (1987) *Intramammary infections in heifers at parturition and during early lactation in a herd with a high prevalence of environmental mastitis*. Tenn Farm Home Sci Prog Rep, **143**, 18-21. Cited in : Shearer, Jan K. and Harmon, R.J. (1993) *Mastitis in heifers*. Vet Clin North Am : Food Animal Practice, **3**, 583-594.
20. Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E., Dowlen, H.H. (1992) *Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation*. J Dairy Sci, **75**, 406-414.
21. Owens, W.E., Nickerson, S.C., Wasburn, P.J., Ray, C.H. (1991) *Efficacy of a cephalosporin dry cow product for treatment of experimentally induced Staphylococcus aureus mastitis in heifers*. J Dairy Sci, **74**, 3376-3382.
22. Pennel, D.R., Rott-Petri, A.R., Kurzynski, T.A. (1984) *Evaluation of three commercial agglutination tests for the identification of Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, **20**, 614-617.
23. Poutrel, B., Lefort, B. (1980) *Mise au point et utilisation d'un reactif sensible pour la detection de la protein-A de Staphylococcus aureus*. Med Mal Inf, **10**, 38-41.
24. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. (1994) *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing, Spain. pp. 327-344.
25. Roberson, J.R., Fox, L.K., Hancock, D.D., Gay, C.C. (1994) *Coagulase-positive staphylococcus intramammary infections in primiparous dairy cows*. J Dairy Sci, **77**, 958-969.
26. Roberson, J.R., Fox, L.K., Hancock, D.D., Gay, J.M., Besser, T.E. (1998) *Sources of intramammary infections from Staphylococcus aureus in dairy heifers at first parturition*. J Dairy Sci, **81**, 687-693.
27. Schultze, W.D. (1985) *Control of new intramammary infection at calving by prepartum teat dipping*. J Dairy Sci, **68**, 2094-2099.
28. Sears, P.M., Wilson, D.J. (1994) *Heifer mastitis*. The Bovine Practitioner, **28**, 56-58.
29. Shearer, Jan K., Harmon, R.J. (1993) *Mastitis in heifers*. Vet Clin North Am : Food Animal Practice, **3**, 583-594.
30. Smith, K.L., Hogan, J.S. (1993) *Environmental mastitis*. Vet Clin North Am : Food Animal Practice, **3**, 489-498.
31. Swenson, G.D., Lallinger, A.J. (1976) *Identification of streptococci other than agalactia in milk from dairy cows at drying off and post calving*. J Dairy Sci, **59**, 26.
32. Terzola, H.R., Shimizu, A. (1979) *Biological characters and bacteriophage typing of Staphylococcus aureus from chicken food in Argentina*. Rev Arg Microbiol, **11**, 89.
33. Trinidad, P., Nickerson, S.C., Alley, T.K. (1990) *Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers*. J Dairy Sci, **73**, 107-112.
34. Trinidad, P., Nickerson, S.C., Alley, T.K., Adkinson, R.W. (1990) *Efficacy of intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers*. JAVMA, **4**, 465-470.
35. Waage, S., Sviland, S., Ødegaard, S.A. (1998) *Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers*. J Dairy Sci, **81**, 1275-1284.
36. Weisner, H.U. (1984) *Anleitung zur Milchuntersuchung und Milchbeurteilung sowie Biotechnik des Maschinellen Milchentzuges*. Inst Hyg Tech Milc. Tierarztl Hochschule Hannover.
37. White, D.G., Harmon, R.J., Matos, J.E.S., Langlois, B.E. (1989) *Isolation and identification of coagulase-negative staphylococcus species from bovine body sites and streak canals of nulliparous heifers*. J Dairy Sci, **72**, 1886-1892.
38. Zierdt, C.H., Golde, D.W. (1970) *Deoxyribonuclease-positive Staphylococcus epidermidis strains*. Appl Microbiol, **20**, 54-57.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. M. Rifat VURAL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

06110 - Dışkapı/ANKARA