

**T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIĞIR MASTİTİSLERİNDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARININ BETA-  
LAKTAMAZ AKTİVİTESİ VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE KARŞI  
DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI**

**Veteriner Hekim Durmuş Ali SEVİNTİ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç.Dr. Mitat ŞAHİN**

**2007 – KARS**

## İÇİNDEKİLER

|  | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Simge ve Kısaltmalar   | I               |
| Tablo Listesi  | II              |
| Şekil ve Çizelge Listesi   | III             |
| <b>ÖNSÖZ</b>   | IV              |
| <b>1.GİRİŞ</b>   | 1               |
| <b>2.GENEL BİLGİLER</b>  | 2               |
| 2.1. Stafilokoklar   | 2               |
| 2.1.1. Tarihçe   | 2               |
| 2.1.2. Sınıflandırma   | 2               |
| 2.1.3. Genel Özellikler  | 2               |
| 2.1.4. Önemli Stafilokok Türleri   | 3               |
| 2.1.5. Virülans Faktörler  | 7               |
| 2.1.5.1. Yapısal Özellikler  | 7               |
| 2.1.5.2. Ekzotoksinler   | 8               |
| 2.1.5.3. Enzimler  | 10              |
| 2.1.6. Stafilokok Enfeksiyonlarında Ekoloji ve Epidemiyoloji             | 11              |
| 2.1.7. Stafilokokların İnsanlarda ve Hayvanlarda Oluşturduğu Hastalıklar | 12              |
| 2.1.8. Stafilokokların Tanısı  | 13              |
| 2.1.8.1. Konvansiyonel Yöntemler   | 13              |
| 2.1.8.2. Metabolizmaya Dayalı Testler                                    | 15              |
| 2.1.8.2.1. İmpedans  | 15              |
| 2.1.8.3. Moleküler Teknikler   | 17              |
| 2.1.8.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu                                   | 17              |
| 2.1.8.3.2. Gaz Kromotografisi  | 18              |
| 2.1.8.4. Diğer Tanı Sistemleri   | 19              |
| 2.2. Mastitis  | 19              |
| 2.2.1. Klinik Seyirlerine Göre Mastitislerin Sınıflandırılması           | 20              |
| 2.2.1.1. Klinik Mastitis   | 20              |
| 2.2.1.1.1. Preakut Mastitis  | 20              |
| 2.2.1.1.2. Akut ve Subakut Mastitis                                      | 20              |
| 2.2.1.1.3. Kronik Mastitis   | 20              |
| 2.2.1.2. Subklinik Mastitis  | 20              |
| 2.2.2. Sığır Mastitlerinin Gelişiminde Rol Oynayan Faktörler             | 21              |
| 2.2.2.1. Hayvana Bağlı Faktörler   | 21              |
| 2.2.2.2. Çevresel Faktörler  | 21              |
| 2.2.2.3. Mikroorganizmalar   | 21              |
| 2.3. Stafilokok Mastitisleri   | 22              |
| 2.3.1. Stafilokok Mastitislerinin Patogenezi ve Kliniği                  | 25              |
| 2.3.2. Mastitislerin Tanısı  | 27              |
| 2.3.2.1. Memelerin Klinik Muayenesi                                      | 27              |
| 2.3.2.2. Sütün Fiziksel Muayenesi  | 27              |
| 2.3.2.3. Klinik Mastitislerin Tanısı                                     | 28              |
| 2.3.2.4. Subklinik Mastitislerin Tanısı                                  | 28              |
| 2.3.3. Stafilokok Mastitislerinin Tedavisi ve Korunma İlkeleri           | 30              |
| <b>3.MATERYAL VE YÖNTEM</b>  | 34              |
| 3.1. Materyal  | 34              |
| 3.1.1. Besiyerleri   | 34              |
| 3.1.2. Ticari Test Kitleri, Ayıraçlar ve Biyokimyasal Test Malzemeleri   | 36              |
| 3.1.3. Antibiyotik Diskleri  | 36              |

|   | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|---|------------------------|
| 3.2. Yöntem   | 36                     |
| 3.2.1. Klinik Muayene                                   | 36                     |
| 3.2.1.1.Klinik Mastitislerin Belirlenmesi               | 36                     |
| 3.2.1.2.Subklinik Mastitislerin Belirlenmesi            | 37                     |
| 3.2.2. Kültür İçin Süt Örneklerinin Toplanması          | 37                     |
| 3.2.3. İzolasyon, İdentifikasyon ve Patojenite Testleri | 37                     |
| 3.2.3.1.Kültür  | 37                     |
| 3.2.3.2. <i>E.coli</i> İzolasyonu                       | 38                     |
| 3.2.3.3.Streptokokların İzolasyonu                      | 38                     |
| 3.2.3.4.Stafilokokların İzolasyonu                      | 38                     |
| 3.2.3.4.1. Katalaz Deneyi                               | 38                     |
| 3.2.3.4.2. Basitrasine Duyarlılık Deneyi                | 39                     |
| 3.2.3.4.3. Koagülaz Deneyi                              | 39                     |
| 3.2.3.6.β-Laktamaz Varlığının Belirlenmesi              | 39                     |
| 3.2.3.7.Antibiyogram Duyarlılık Testi                   | 40                     |
| <b>4.BULGULAR</b>                                       | 41                     |
| <b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ</b>                              | 44                     |
| <b>6.ÖZET</b>   | 52                     |
| <b>7.SUMMARY</b>  | 53                     |
| <b>8.KAYNAKLAR</b>                                      | 54                     |
| <b>9.ÖZGEÇMİŞ</b>                                       | 61                     |

**SİMGE VE KISALTMALAR**

|                   |                                    |
|-------------------|------------------------------------|
| $\beta$ -laktamaz | : Beta laktamaz                    |
| BCP               | : Brom Creosol Purple              |
| CMT               | : California Mastitis Test         |
| EMS               | : En muhtemel sayı                 |
| KNS               | : Koagülaz negatif stafilokok      |
| MİS               | : Mikrobiyal İdentifikasyon Sistem |
| PAGE              | : Poliakrilamid Gel Elektroforez   |
| PBP               | : Penisilin bağlayan protein       |
| PCR               | : Zincirleme Polimeraz Reaksiyonu  |
| PMN               | : Polymorpnuclear leucocyte        |
| SHS               | : Somatik hücre sayısı             |
| TSST-1            | : Toksik şok sendromu toksin-1     |

## TABLO LİSTESİ

|  | <b><u>Sayfa No:</u></b> |
|--|-------------------------|
| Tablo-1 : Stafilokok tür ve alt türleri ile tanımlandıkları konaklar   | 5                       |
| Tablo-2 : Stafilokok türlerinin biyokimyasal özellikleri   | 6                       |
| Tablo-3 : Sağlıklı inek memelerinde hücre kompozisyonunun yüzdeleri  | 29                      |
| Tablo-4 : CMT pozitif bulguların değerlendirilmesi   | 29                      |
| Tablo-5 : Kullanılan antibiyotik disklerinin inhibisyon zon çaplarının değerlendirilmesi                                       | 40                      |
| Tablo-6 : Mastitisli ineklerden alınan süt örneği ile hastalıklı meme lobu sayıları  | 41                      |
| Tablo-7 : Subklinik ve klinik mastitis bulguları   | 41                      |
| Tablo-8 : Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların sayısı ve dağılımı                                      | 42                      |
| Tablo-9 : İzole ve tanımlanmış <i>S.aureus</i> ve KNS suşlarının $\beta$ -laktamaz aktiviteleri ve biyokimyasal test sonuçları | 42                      |
| Tablo-10 : İzole edilen <i>S.aureus</i> ve K-negatif stafilokokların antibiyotik duyarlılık sonuçları                          | 43                      |
| Tablo-11 : İncelenen suşların $\beta$ -laktamaz özelliklerine göre antibiyotik dirençlilikleri                                 | 43                      |
| Tablo-12 : Türkiye’de subklinik mastitisli ineklerden izole edilen stafilokokların oranları                                    | 44                      |

**ŞEKİL VE ÇİZELGE LİSTESİ****Sayfa No:**

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Şekil-1   | : Stafilokoklarda slime faktörünün kimyasal yapısı                   | 8  |
| Şekil-2   | : <i>S.aureus</i> mastitislerinin klinik seyri                       | 26 |
| Çizelge-1 | : <i>S.aureus</i> fajları ve başlıca faj tipleri                     | 14 |
| Çizelge-2 | : <i>S. aureus</i> dışındaki K-pozitif olan diğer stafilokok türleri | 14 |

## ÖNSÖZ

Hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir kaynak olan süt, kompozisyonuna giren maddelerinin farklılığı ile organizmanın besin ihtiyacını büyük ölçüde karşılayabilme özelliğine sahiptir. Özellikle yeni doğan yavruların beslenmesinde temel teşkil etmesinin yanında, son yıllarda gıda endüstrisinin en önemli hammaddesi haline gelmiştir. Kaliteli süt ürünleri özellikle yüksek değerli çiğ süttten imal edildiği için, sütün hayvandan sağlıklı ve yüksek değerli olarak elde edilmesi önem taşımaktadır.

Penisilinlerin klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlaması ile stafilocoklar  $\beta$ -laktamaz üreterek bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirmişler, özellikle subklinik mastitis olgularda penisilinlerle yapılan tedavilerde başarısız sonuçlar alınmasına neden olmuşlardır.  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı gelişen bu direnç nedeni ile mastitise neden olan mikroorganizmaların  $\beta$ -laktamaz aktivitesi ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması sağaltımda kullanılacak etkili antibiyotik seçiminde önem kazanmıştır.

Bu çalışma ile, Sarıkamış ilçesindeki ineklerde mastitise neden olan stafilocokları araştırmak, izole edilen stafilocokların  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri ile bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını incelemek amaçlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bilgisi ve deneyimleri ile bana her türlü desteği sağlayan başta danışman hocam Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr.Mitat ŞAHİN olmak üzere, Mikrobiyoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üye ve elemanlarından Doç.Dr.Salih OTLU'ya, Doç.Dr.H.İbrahim ATABAY'a, Yrd.Doç.Dr.Ahmet ÜNVER'e, Dr.Atilla T. KALAYCIOĞLU'na, Arş.Gör.Özgür ÇELEBİ'ye, ayrıca yardımlarını esirgemeyen B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı (SARIKAMIŞ) personeline sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında eşim Handan SEVİNTİ ile çocuklarım Kağan SEVİNTİ ve Ceren SEVİNTİ'den görmüş olduğum destek ve teşvikten dolayı kendilerine teşekkür ederim.

## 1. GİRİŞ

Doğu Anadolu Bölgesi, ülkemizde hayvancılık bakımından önemli bir yere sahiptir. Sarıkamış ilçesinde de 70.200 büyükbaş hayvan sayısı ile (2006 yılı sonu Tarım İlçe Müdürlüğü'nün verileri) sığır yetiştiriciliği, ilçenin en önemli geçim kaynağını oluşturmaktadır. Süt inekçiliğinin, ilaç ve tedavi giderleri ile sütün kalitesindeki değer kaybı gibi nedenlerle en masraflı sorunlarından birisi mastitis hastalığıdır. Türkiye'de inek başına yıllık ekonomik kayıp 150-300 dolar arasındadır (20). Amerika'da, mastitis nedeniyle yılda 1,7-2 milyar dolar, Almanya'da ise 450 milyon marklık ekonomik kayıp olduğu bildirilmektedir (20).

Mastitis hastalığı nedeniyle süt verimindeki azalma, sütün kesilmesi ve kalitesinin bozulması, fazla işgücü ve tedavi giderleri bu maliyetin en önemli nedenlerindedir. Hastalığın, meme ve süte etkilerinin yanında, inek, buzağı ve halk sağlığına olan etkileri göz önüne alındığında ekonomik kayıp daha da artmaktadır. Klinik ve subklinik şekilde gelişen mastitislerin tedavisinde antibiyotikler çoğu zaman bilinçsizce kullanılmaktadır. Bu uygulamalar, bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirmelerine neden olmaları yanı sıra, sütte bıraktıkları antibiyotik kalıntıları ile de halk sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (73,77).

İneklerde mastitis, süt üretiminde ekonomik açıdan en önemli hastalıktır ve bir çok patojen mikroorganizma tarafından oluşturulur. Mastitis vakalarından stafilokok, streptokok ve koliform grubu bakteriler sıklıkla izole edilmektedir. Bakteriyel etkenler arasında ise, *S. aureus* ve diğer stafilokok türleri en sık izole edilen mikroorganizmalardır (3).

Mastitislerden izole edilen stafilokok suşlarının patojenik özelliklerinin,  $\beta$ -laktamaz aktivitelerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının tespit edilmesi başarılı tedavi ve hastalıkla mücadele açısından son derece önem taşımaktadır. Mastitislerin en önemli bakteriyel etkeni olan stafilokoklarda özellikle  $\beta$ -laktam grubu antibiyotik direncinin yaygın olarak görülmesi ve tedavinin güç olması, hastalığın tedavisinden önce  $\beta$ -laktamaz aktivite tayini ve antibiyogram testi yapılmasını da zorunlu kılmaktadır (12,20).

Türkiye'nin farklı bölgelerinde mastitise neden olan etkenlerin araştırılması ve duyarlı oldukları antibiyotiklerin saptanmasına yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Sarıkamış ilçesinde mastitis etkeni olan stafilokokları bütün parametreler yönünden inceleyerek yörenin durumunu belirleyecek bir çalışma henüz yapılmamıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Stafilokoklar

#### 2.1.1. Tarihçe

Stafilokok adı ilk kez 1880'de Ogston tarafından kullanılmıştır. Üremeleri esnasında birbirinden ayrılmayarak üzüm salkımına benzeyen, düzensiz kümeler oluşturmalarına bakılarak stafilokok sözcüğü üretilmiştir. Stafilokoklar ilk kez 1884'de Rosenbach tarafından hastalık örneklerinden izole edilmiştir. 1965'de "Subcommittee on the Taxonomy of Staphylococci and Micrococci" tarafından *Micrococcus saprophyticus*, daha sonra 1971'de yine aynı komite tarafından DNA ve hücre duvarı içeriğindeki farklılık ve anaerobik koşullarda daha yavaş üremesi gibi ayrıcalıklar nedeniyle *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. Baird ve Parker 1974 yılında stafilokokları, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* olmak üzere üç türe ayırmıştır (12,33).

#### 2.1.2. Sınıflandırma

Daha önceki yıllarda *Micrococcaceae* familyasında yer alan stafilokok cinsi, son Bergey's Manuel'e göre *Bacilli* sınıfında (Class III) *Bacillales* takımında, *Staphylococcaceae* ailesinin *Staphylococcus* genusu içinde yer alır. Stafilokok türleri, insan ve hayvanların derisinde, üst solunum yolu, alt sindirim ve ürogenital sistem mukoz membranları ile ilişkili mikroorganizmalardır. Stafilokok türleri insan ve hayvanlarda fırsatçı patojen olarak tanımlanmalarının yanında, hayvanlarda mastitis, kuzu piyemisi, atlarda botriyomikozis olmak üzere lokal ve genel irinli enfeksiyonlara neden olurlar. Günümüzde genotipik ve fenotipik özelliklerine göre stafilokok tür ve alt türleri tanımlanmıştır (Tablo-1) (8,16,43,46).

#### 2.1.3. Genel Özellikler

Stafilokoklar doğa koşullarına oldukça dayanıklıdır. İnsan ve hayvanlarda değişik klinik tablo ile seyreden birçok hastalığın etkeni olarak önem taşımaktadırlar. Kurumuş klinik materyalden aylar sonra bile izole edilebilir, ısıya dayanıklıdır ve yüksek oranda tuz içeren ortamlarda yaşamlarını sürdürebilirler. Bu nedenle günümüzde kullanılan güçlü antibakteriyel ajanlara ve enfeksiyon kontrol önlemlerine rağmen bu mikroorganizmalar kliniklerde sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak görülmektedir. Dirençli suşlar ile oluşan enfeksiyonlar tedavi

başarısızlıklarına neden olmaktadır. Stafilocok cinsi içinde yer alan en önemli patojen tür *S.aureus*'tur. *S. aureus* koagülaz pozitif olup diğer türler genel olarak koagülaz negatif stafilocoklar (KNS) olarak adlandırılır (12,33,43,67).

Stafilocokların morfolojik görünimleri yuvarlak veya oval şekilde olup, kümeler tarzında biraraya gelmiş 0.5-1.5µm çaplı koklardan oluşmuşlardır. Stafilocoklar flagellasız oldukları için hareketsizdirler. Anilin boyalarla iyi boyanırlar ve Gram pozitifler. Katı ve sıvı besiyerlerinde aerobik ve fakültatif anaerobik koşullarda kolayca ürerler. Optimum üreme sıcaklığı 37°C olup, 6.5°C ile 45°C aralığında da üreme yeteneğine sahiptirler. Üreme ortamlarındaki optimum pH 7.0-7.5 olmakla birlikte pH' nın 4.3'e düşmesinde bile üreme görülebilir. Stafilocokları üretmek için genellikle laboratuvarlarda rutin amaçlar için kullanılan besiyerlerinden yararlanılmaktadır. Stafilocoklar katı besi yerlerinde 37°C'de 24-48 saatte 2-6 mm çapında, yuvarlak, düzgün ve S tipi koloni oluştururlar. Stafilocok suşları, gliserol monoasetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerinde 37°C'de üretildiklerinde, karotenoidlerden dolayı pigment oluştururlar. *S.aureus* altın sarısı, *S.epidermidis* ise porselen beyazı-grimsi renkte koloni oluşturur. Kanlı agarda üretildiklerinde birçok patojen tür hemoliz oluşturur ve karbondioksit hemolizin oluşumunu artırır. MacConkey agarda üreme yeteneğine sahiptirler. Sıvı ortamlarda ise, homojen bulanıklık yaparak ürerler ve üreme süresi arttıkça bulanıklık düzeyi artar ve dipte tortu oluşur. Stafilocoklar, pigmentlerinin suda erimemesi nedeniyle katı ortamda pigmentli olan kolonilerin buyyonda üretilmesi sonrasında pigment oluşumu görülmez. Mikroskopta katı kültürlerden hazırlanan preparatlarda üzüm salkımı şeklinde kok kümeleri görülürken, çalkalanmış sıvı ortamlarda alınan örneklerle hazırlanan preparatlarda tek tek koklar görülebilmektedir (8,10,12,16,17,33,37,43).

Stafilocoklar %40 safra ve %15 NaCl içeren ortamlarda üreyebilmelerinden dolayı halofilik bakteriler grubunda yer alırlar. Sporsuz bakteriler içinde çevre şartlarına en dirençli olan bakteriler olarak bilinmektedirler. Bu bakteriler 60°C'de 30 dakika dayanabildikleri gibi γ-radyasyonuna da oldukça dirençlidirler. Stafilocokların biyokimyasal özellikleri Tablo-2'de özetlenmiştir (17,49,67,68).

#### **2.1.4. Önemli Stafilocok Türleri**

*S. aureus*; pigmentli, fakültatif anaerop ve çoğunlukla aerop üreyen, koagülaz ve hemoliz pozitif, mannitol, sükroz, maltoz ve trehalozdan asit üretebilen, % 10 NaCl içeren besiyerlerinde üreyebilen, çoğu alfa toksin yapan, novobiocine duyarlı, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdür. Lizozim etkisiyle yıkılmaz. İnsan ve sıcak kanlı hayvanlarda gıda

zehirlenmesi ve piyojenik enfeksiyonları yapabilen bir bakteridir. Doğada her yerde yaygın olarak bulunur. Önceleri gıda kaynaklı tüm stafilokokkal gıda zehirlenmelerinin nedeni olarak koagülaz pozitif *S. aureus* suşları sorumlu tutulurken ve buna bağlı olarak gıdalarda koagülaz ve termonukleaz üreten *S. aureus* suşlarının aranması ve sayılması üzerinde durulurken bugün pek çok *S. aureus* suşunun enterotoksin üretmediği, buna karşı bazı koagülaz negatif *S. aureus* suşlarının enterotoksin oluşturabildiği belirlenmiştir (9,12,43). Buna ilaveten *S. intermedius*, *S. delphini* ve *S. hyicus* olmak üzere üç stafilokok türünün koagülaz pozitif olduğu saptanmıştır (9).

*S. aureus* kolonileri Baird–Parker Agar besiyerinde tipik etrafı berrak zonlu siyah renkli koloniler oluşturur. *S. aureus* koagülaz ve termonukleaz pozitif olan ve telluriti telluriuma indirgeyen tek stafilokok türüdür. Bu indirgenme sıvı besiyerinde besiyerinin siyahlaşması, katı besiyerinde ise siyah koloni oluşması ile belirlenir (9).

*S. epidermidis*, deri ve üst solunum yolları mukozasında bulunur. Kültürlerinde ve enfeksiyon materyalinden yapılan direkt preparatlarda dörtlü, ikili ve düzensiz gruplar halinde veya tek tek koklar olarak görülür. Kanlı agarda kirli beyaz renkte ve *S. aureus* 'a göre daha küçük, konveks, düz ya da granüllü yüzeyli koloniler yaparak ürer. Bazıları sarı ya da turuncu pigmentli olabilir. % 7.5 NaCl içeren besiyerinde iyi üremekle beraber, %10 NaCl'de üremesi güçleşir. Novobiocine duyarlıdır. *S. aureus*'tan mannitole etki etmemesi ve alfatoksin yapmaması özellikleri ile ayrılır. *S. saprophyticus*, anaerob koşullarda üremeyi seven, koagülaz negatif ve novobiocine dirençli bir mikroorganizmadır. Değişik enfeksiyonlardan izole edilen diğer stafilokok türleri; *S. intermedius*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. cohnii*, *S. hyicus*, *S. simulans* olarak bildirilmiştir (10).

**Tablo-1.** Stafilokok tür ve alt türleri ile tanımlandıkları konaklar (25).

| TÜRLER                                | ALT TÜRLER                                    | KONAK                                  |
|---------------------------------------|---|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i>          |   | İnsan, memeli türleri, kuş             |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>     |   | İnsan, evcil hayvanlar                 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i>   |   | İnsan, memeli türleri                  |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i>    |   | İnsan, evcil hayvanlar, maymun türleri |
| <i>Staphylococcus warneri</i>         |   | İnsan, evcil hayvanlar, maymun türleri |
| <i>Staphylococcus hominis</i>         |   | İnsan                                  |
| <i>Staphylococcus simulans</i>        |   | İnsan, memeli türleri                  |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i>     |   | İnsan                                  |
| <i>Staphylococcus capitis</i>         | <i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>       | İnsan                                  |
|                                       | <i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>   | İnsan, maymun türleri                  |
| <i>Staphylococcus schleiferi</i>      | <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i> | İnsan                                  |
|                                       | <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>  | Köpek                                  |
| <i>Staphylococcus pasteurii</i>       |   | İnsan, memeli türleri                  |
| <i>Staphylococcus auricularis</i>     |   | İnsan, maymun türleri                  |
| <i>Staphylococcus cohnii</i>          | <i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>         | İnsan                                  |
|                                       | <i>S. cohnii</i> subsp. <i>ureolyticum</i>    | İnsan, maymun türleri                  |
| <i>Staphylococcus xylosum</i>         |   | İnsan, memeli türleri, kuş             |
| <i>Staphylococcus saccharolyticus</i> |   | İnsan                                  |
| <i>Staphylococcus caprae</i>          |   | İnsan, keçi                            |
| <i>Staphylococcus pulvereri</i>       |   | İnsan, tavuk                           |
| <i>Staphylococcus intermedius</i>     |   | Memeli türleri, kuş                    |
| <i>Staphylococcus hyicus</i>          |   | Domuz, keçi, sığır                     |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i>     |   | Sığır, at, keçi                        |
| <i>Staphylococcus sciuri</i>          |   | Memeli türleri, kuş                    |
| <i>Staphylococcus gallinarum</i>      |   | Kümes hayvanları, kuş                  |
| <i>Staphylococcus lentus</i>          |   | Evcil hayvanlar, yunus                 |
| <i>Staphylococcus felis</i>           |   | Kedi                                   |
| <i>Staphylococcus muscae</i>          |   | Evcil hayvanlar                        |
| <i>Staphylococcus piscifermentus</i>  |   | Balıklar                               |
| <i>Staphylococcus vitilis</i>         |   | Memeli türleri, balina, et ürünleri    |
| <i>Staphylococcus equorum</i>         |   | At                                     |
| <i>Staphylococcus dephini</i>         |   | Balık                                  |
| <i>Staphylococcus carnosus</i>        |   | Et ve balık ürünleri                   |
| <i>Staphylococcus caseolyticus</i>    |   | Süt ve süt ürünleri, sığır, balina     |
| <i>Staphylococcus kloosii</i>         |   | Memeli türleri                         |
| <i>Staphylococcus arlettae</i>        |   | Memeli türleri, kuş                    |

Tablo-2. Stafilokok türlerinin biyokimyasal özellikleri (25).

| Özellikler         | <i>S.aureus</i> | <i>S.epidermidis</i> | <i>S.capitis</i> | <i>S.warneri</i> | <i>S.haemolyticus</i> | <i>S.hominis</i> | <i>S.auricularis</i> | <i>S.saprophyticus</i> | <i>S.hyicus subsp. hyicus</i> | <i>S.simulans</i> | <i>S.intermedius</i> |
|--------------------|-----------------|----------------------|------------------|------------------|-----------------------|------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------|----------------------|
| Pigment            | +/w             | -                    | -                | d                | d                     | ND               | -                    | ND                     | -                             | -                 | -                    |
| Aerop üreme        | +               | +                    | +                | +                | +                     | +                | +                    | +                      | +                             | +                 | +                    |
| Anaerop üreme      | +               | +                    | +                | +                | -/w                   | -/w              | +                    | +                      | +                             | +                 | +                    |
| %10 NaCl'de üreme  | +               | +/w                  | +                | +                | +                     | +/w              | +                    | +                      | +                             | +                 | +                    |
| %15 NaCl'de üreme  | +/w             | -                    | -/w              | +/w              | d                     | -                | +/w                  | d                      | -/w                           | +/w               | ND                   |
| Aseton oluşturma   | +               | +                    | d                | +                | d                     | ND               | ND                   | +                      | -                             | +/w               | -                    |
| Sukroz             | +               | +                    | +                | +                | +                     | +                | ND                   | +                      | +                             | +                 | +                    |
| Maltoz             | +               | +                    | -                | +                | +                     | +                | +                    | +                      | -                             | +/w               | +/w                  |
| D-Mannitol         | +               | -                    | +                | d                | d                     | -                | -                    | d                      | -                             | +                 | ND                   |
| D-Mannoz           | +               | +                    | +                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | +                             | d                 | +                    |
| D-Trehaloz         | +               | -                    | -                | +                | +                     | ND               | +                    | +                      | +                             | d                 | +                    |
| Laktoz             | +               | ND                   | -                | d                | d                     | ND               | -                    | d                      | +                             | +                 | d                    |
| Hyaluronidaz       | +               | ND                   | ND               | ND               | ND                    | ND               | ND                   | ND                     | +                             | ND                | ND                   |
| Üreaz              | +/w             | +                    | -                | +                | -                     | +                | -                    | +                      | d                             | +                 | +                    |
| Koagülaz           | +               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | d                             | -                 | +                    |
| Hemoliz            | +               | -/w                  | -/w              | d                | +                     | -/w              | -                    | -                      | -                             | -/w               | ND                   |
| Dnase              | +               | -/w                  | +/w              | d                | d                     | -/w              | -/w                  | -                      | +                             | +/w               | +                    |
| Termonükleaz       | +               | -/w                  | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | +                             | -/w               | +                    |
| Novobiocine direnç | -               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | +                      | -                             | -                 | -                    |
| 15°C'de üreme      | +               | -/w                  | -                | d                | -/w                   | -/w              | -                    | +                      | +                             | +                 | +                    |
| 45°C'de üreme      | +               | +                    | +                | +                | +                     | -                | -                    | d                      | -/w                           | +                 | +                    |
| L-Arabinoz         | -               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | -                             | -                 | -                    |
| D-Cellobiose       | -               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | -                             | -                 | -                    |
| Raffinoz           | -               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | -                             | -                 | -                    |
| Salicine           | -               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | -                             | -                 | -                    |
| D-Galaktoz         | +               | ND                   | -                | d                | d                     | d                | -                    | -                      | +                             | -/w               | +                    |
| D-Fruktoz          | +               | +                    | +                | +                | d                     | +                | +                    | +                      | +                             | +                 | +                    |
| D-Riboz            | +               | ND                   | -                | d                | ND                    | -                | -                    | -                      | +                             | ND                | ND                   |
| Nitrat redüksiyon  | +               | +/w                  | d                | -/w              | ND                    | d                | ND                   | -                      | +                             | +/w               | +                    |
| Alkalın fosfataz   | +               | +                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | +                             | +/w               | +                    |
| Arjinin dehidrolaz | +/w             | +/w                  | d                | d                | +                     | d                | ND                   | -/w                    | +                             | +                 | -                    |
| Clumping faktör    | +               | -                    | -                | -                | -                     | -                | -                    | -                      | -                             | -                 | ND                   |
| Fibrinolizin       | D               | ND                   | ND               | ND               | ND                    | ND               | ND                   | ND                     | D                             | ND                | -                    |

+: %90 Pozitif

d: %11-89 Pozitif

-: % 90 Negatif

ND:Hakkında bilgiler net değil

+/w: Haftalık reaksiyonda pozitif

-/w: Haftalık reaksiyonda negatif

## 2.1.5. Virülans Faktörler

### 2.1.5.1. Yapısal Özellikler

Peptidoglikan; stafilokokların hücre duvarının önemli bir bölümünü kalın bir peptidoglikan tabakası oluşturur. Bu tabaka, mikroorganizmaya şeklini verir ve dayanıklılığını sağlar. Konakta endojen pirojenlerin yapımını stimüle eder, lökosit kemotaksisine ve apse oluşumuna neden olur (68).

Protein-A; *S. aureus* hücre duvarında bulunan özel bir antijen olan protein-A (SpA), Werve tarafından 1940'da tanımlanmıştır. Protein-A'nın mol ağırlığı 13.000 daldondur. Stafilokoklarda ortama salınan serbest, hücreye bağlı ve hücre dışı olmak üzere üç tip SpA bulunmuştur. Üreme sırasında besiyerine salgılanan SpA, bakterinin fagositozunu önlemektedir. SpA'nın koagülaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon göstermesi, antifagositik etki yapması ve antibiyotik duyarlılığını azaltması gibi özellikleri patojenite kriteri olacağına işaret etmektedir (29).

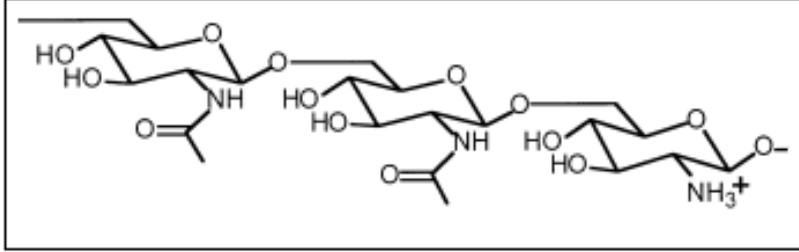
Teikoik asit; peptidoglikan tabakaya kovalent, sitoplazmik membrana ise lipidler aracılığı ile bağlı bulunan fosfat içeren polimerdir. Fibronektine bağlanma özelliği vardır ve bu yolla stafilokokların mukozal yüzeylere tutunmalarına aracılık etmektedir. *S.aureus* suşlarında N-asetilglikozamin ve ribitol komponentlerinin immunolojik determinantlar olduğu ve glikozamin atomlarının yerleşimine bağlı olarak spesifite gösterdiği bilinmektedir. Stafilokokal teikoik asitler, hücrede buldukları yere göre, membran teikoik asitleri ve duvar teikoik asitleri olmak üzere iki formdadır. Membran ve duvar teikoik asitlerinin biosentezinde lipoteikoik asit taşıyıcı olarak görev yapmaktadır. Membranda lokalize olmuş lipoteikoik asitler, hücre duvarındaki otolitik enzimler ile temas halindedir ve eksternal litik enzimlere karşı bakteriyi korumaktadır (33,67).

Stafilokokların hücre duvarı lipoteikoik asitlerinde, temel yapıyı poliribitol fosfat (*S.aureus*) veya poligliserol fosfat (*S.epidermidis*) oluşturur.*S.aureus*'un hücre duvarındaki teikoik asitlerin antijenik özelliklerini göstermek amacıyla, aglütinasyon, hemaglütinasyon ve ELISA gibi tekniklerden yararlanılmaktadır (33).

Ekstraselüler polisakkarid (slime) üretimi; stafilokok suşlarının bazıları amorf kapsül yapısında, %40 karbonhidrat ve %27 protein içeren glikokaliks materyali oluştururlar ki buna slime faktör adı verilmektedir. İlk kez Christensen ve ark. tarafından gösterilen slime

maddesi, çok kuvvetli antijenik olup, etkenin doku ve cam yüzeylerine tutunarak enfeksiyonuna yol açmaktadır (34).

Stafilokoklarda slime faktörünün kimyasal yapısı Şekil-1'de görülmektedir.



**Şekil-1.** Stafilokoklarda slime faktörünün kimyasal yapısı (47).

Son yapılan çalışmalarda, stafilokokların neden olduğu inek mastitislerinde slime üretiminin önemli bir patojenite ve virülans faktörü olduğu ortaya konulmuştur. Slime tabakasını oluşturan *S.aureus*'larda, slime oluşturmeyen stafilokok türlerine göre memebezi epiteline kolonizasyon yüksek oranda bulunmuştur. Slime tabakası ile *S.aureus*'un meme epiteline adhezyonu, mastitisin patogenezinde ilk kritik aşama olarak değerlendirilmektedir. Slime tabakasının formasyonu iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk önce kapsüler polisakkarit (PS/A), ikinci aşamada ise polisakkarit intersellüler adhezin (PIA) üretilmektedir. Slime oluşumunu sağlayan proteinlerin kodlandığı intersellüler adhezin (*ica*) locusunun *icaA* ve *icaD* genlerini içerdiği tespit edilmiştir. Son yapılan araştırmalarda, gerek insan prostetik enfeksiyonlarından soyutlanan stafilokoklarda gerekse de sığır mastitis izolatı olan stafilokoklarda slime üretiminin aynı genler (*icaA* ve *icaD*) tarafından kodlandığı ortaya konulmuştur. Slime oluşumu, bakterilerin antibiyotik etkisinden korunmasını sağlayarak stafilokok mastitislerinde sağaltımı zorlaştırmaktadır (1,18,78,81,94).

#### 2.1.5.2. Ekzotoksinler

Sitolitik toksinler; stafilokoklar salgıladıkları ekzotoksin niteliğindeki maddeler ile lökosit, eritrosit, trombosit, makrofaj ve fibroblast gibi çeşitli hücrelere sitolitik etki yapmaktadır. Bu toksinler; alfa, beta, gama ve delta olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Koagülaz pozitif stafilokokların %95'inde bunlardan sadece bir tanesi bulunurken, %82'sinde her ikisi birlikte bulunabilmektedir (33,68).

Alfa toksin; Alfa hemolizin de denilen bu toksinin, hemolitik ve dermonekrotik etkinliği vardır. Tavşan eritrositleri için hemolitik aktivitesi en fazla olmasına karşın, insan eritrositlerine fazla bir etkisi yoktur. İnsan trombosit ve makrofajları ile doku kültürleri üzerine hemolitik etkisi bulunmaktadır. Bu toksin antijenik olup antitoksini ile nötralize olmaktadır (12,27,29).

Beta toksin; Glenn ve Stevens tarafından 1935'de tanımlanmış olan bir stafilokokal sfingomyelinaz'dır. Antijenik olup antitoksini ile nötralize olmaktadır. Bu toksinin, koyun, insan ve tavşan eritrositlerine hemolitik etkisi bulunmaktadır (12,33).

Gama toksin; Gama toksini ilk olarak 1938'de Smith ve Price tanımlamış, Mølby Wadström ise elde etmiştir. Toksine, insan, tavşan ve koyun eritrositleri duyarlı, at ve kuş eritrositleri ise dirençlidir (12,27,33).

Delta toksin; bu toksini 1947'de Williams ve Harper bildirmiştir. Antijenik karakterde olmayıp immunolojik olarak alfa ve beta toksinden ayrılır. Delta toksinin spektrumu oldukça geniş olup eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratmaktadır (27,29,33).

Eksfoliatif toksin; epidermolitik toksin ya da eksfoliyatinler olarak da adlandırılır. Stafilotoksik soyulmuş deri sendromunda dermatolojik belirtilerden sorumludur. Toksin ile karşılaşıldığında epiderminis stratum granulosum tabakasında hücreler arasındaki köprülerde (desmozom) ayrılmalar görülür. Toksinler sitoliz ya da inflamasyon ile ilişkili değildir. Vücutta toksine karşı nötralizan antikorlar oluşmaktadır (27,94).

Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1); bu toksin insanlarda hipotansiyon, ateş, döküntü ve multiple organ yetmezliği ile seyreden toksik şok sendromundan sorumludur. *S.aureus*'un faj-1 grubundan 29 ve 52 tipleri bu toksini oluşturmaktadır (29).

Enterotoksinler; stafilokok besin zehirlenmelerine yol açan toksinler, sindirim sistemine etki etmeleri nedeniyle genellikle enterotoksin olarak adlandırılırlar. *S.aureus* tarafından oluşturulan, suda eriyen ve termostabil olan antijen yapısındaki maddelerdir. Özellikle yüksek CO<sub>2</sub>'li atmosfer ortamında karbonhidratlı ve proteinli besiyerlerinde üreyen stafilokoklar tarafından oluşturulurlar. Bunlar Enterotoksin-A (SEA), Enterotoksin-B (SEB), Enterotoksin-C1,11,111 (SEC), Enterotoksin-D (SED) ve Enterotoksin-E (SEE)'dir (12,33,86).



### 2.1.5.3. Enzimler

Koagülaz; *S. aureus*'un iki koagülaz enzimi vardır. Bağlı koagülaz (clumping factor) bakterinin hücre duvarında bulunur ve fibrinojene bağlanarak fibrine dönüştürür. Serbest koagülaz ise hücre dışına salınır ve globulin yapısındaki bir plazma faktörü ile birleşerek stafilotrombini oluşturur. Stafilotrombin de trombin benzeri aktivite ile fibrinojeni fibrine dönüştürür. Koagülaz, bakteri virülansının bir göstergesidir. Stafilokoklar bu enzimleri ile apse etrafında bir fibrin tabakası oluşturarak enfeksiyonu lokalize eder ve bakteriyi fagositozdan korur (12,33,67).

Katalaz; stafilokokların sentezlediği katalaz enzimi hidrojen peroksiti, su ve oksijene çevirir. Böylece stafilokoklar katalazları ile fagositik hücrelerdeki miyeloperoksidaz sistemi tarafından oluşturulan ve kendileri için toksik olan hidrojen peroksiti inaktive ederler (26).

Hyalüronidaz; *S.aureus* suşlarının %90'ı hyalüronidaz oluşturmaktadır. Bağ dokusundaki hyalüronik asiti hidrolize eder ve doku içinde bakterinin yayılmasını kolaylaştırır. Stafilokokal yayılma faktörü olarak da bilinen hyalüronidaz, etkenin patojenitesini artırmaktadır (12,68).

Stafilokinaz (Fibrinolizin); *S.aureus* türü tarafından salgılanmakta olup plazminojen aktivatörü olarak da bilinmektedir. Bu faktör fibrini lize eder. Enzimin bakteri tarafından sentezinin genetik kontrolü, lizojenik bir bakteriyofaj ile ilişkilidir. Stafilokinaz dokulardaki fibrin kümelerini çözerek bakterinin yayılmasını sağlamaktadır. Bu enzim tıpta özellikle koroner trombozların tedavisinde kullanılmaktadır. Stafilokinazın virülans faktörü olup olmadığı koagülaz enzimi gibi açık olmayıp, bu konuda araştırmalar devam etmektedir (12, 27,68).

Lipaz; bütün *S.aureus* suşları ile KNS türlerinin %30'dan fazlası lipaz oluşturmaktadır. Lipaz enzimi lipidleri hidrolize eder ve stafilokokların yağ dokusundan zengin bölgelerde yaşamasını sağlar. Bu enzim sayesinde bakteri vücudun deri ve deri altı bölgelerine yayılarak fronkul ve karbonkul gibi yüzeysel doku enfeksiyonlarını meydana getirmektedir (33).

Nükleaz; bu enzim *S.aureus*'ların %90-96'sında bulunmakta olup, ısıya dirençlidir ve fosfodiesteraz yapısındadır. Bu enzimin enfeksiyon patogeneziindeki rolü tam olarak bilinmemektedir (33,43,68).

Penisilnaz ( $\beta$ -laktamaz); 1941'li yıllarda stafilokok suşlarının %90'dan fazlasının penisiline duyarlı olduğu tespit edilmiş olup, bu tarihte penisilin ilk kez tedavide kullanılmıştır. Penisilin kullanımı ile birlikte stafilokoklar  $\beta$ -laktamaz üreterek bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirmişlerdir. Ülkemizde ve tüm dünyada yapılan çalışmalarda, mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokok suşlarının  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri araştırılmış ve incelenen suşların %20-90 arasında değişen oranlarda bu aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (12,33,39,53).

$\beta$ -laktamazları kodlayan ve düzenleyen genler bir plazmid üzerinde (Tn552) bulunmakta, bakteriyofajlar aracılığıyla duyarlı hücrelere taşınmaktadır. Taşınabilir plazmid kontrolünde olan bu enzim sayesinde tüm dünyada penisilin direnci hızla yayılmıştır (92).

$\beta$ -laktamazlar, penisilinler, sefalosporinler ve benzeri  $\beta$ -laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. Bu enzimler  $\beta$ -laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklikamid bağını bozarak açıl-enzim türevi oluştururlar. Bunu izleyen basamakta ise, bir deaçilasyon işlemi ile enzim, açıl molekülünden ayrılarak rejenere olur. Stafilokokların yanı sıra Gram negatif birçok bakteri tarafından  $\beta$ -laktamazlar, moleküler yapılarına ve işlevsel özelliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Günümüze dek  $\beta$ -laktamazlarda 4 farklı moleküler sınıf (A,B,C,D) tanımlanmıştır. Stafilokok  $\beta$ -laktamazları sınıf-A içerisinde bulunmaktadır (33,59,92).

DNase; stafilokoklarda DNase üretimi koagulazdan sonra patojeniteyi belirleyen en önemli özellik olduğu için stafilokokların DNase enzimini tespit etmek patojen stafilokoklar ile nonpatojen stafilokokları ayırt etmede büyük önem taşımaktadır (16).

### **2.1.6. Stafilokok Enfeksiyonlarında Ekoloji ve Epidemiyoloji**

Hayvanlarda stafilokoklar en sık deride ve dışı açılan vücut boşluklarını örten mukozalarda bulunmaktadır. *S.aureus*, hayvanlarda stres faktörleri ile korunma mekanizmasının bozulması veya memelerde dış etkilerle meydana gelen yaralardan girerek enfeksiyona neden olmaktadır. *S.aureus* aynı zamanda kontagiyöz bir mastitis etkeni olup hem meme kanalından hem de sistemik yoldan mastitis oluşturabilmekte ve sürü içinde yayılabilmektedir. Önceleri sadece *S.aureus'un* mastitis patojeni olduğu kabul edilmekte, KNS'ların mastitislerden izolasyonu önemsenmemektedir. Günümüzde ise çevresel mastitis etkeni olarak kabul edilen KNS'ların mastitisli sütlerden izolasyonu önemli görülmektedir (12,56,67,77,87).

### 2.1.7. Stafilokokların İnsanlarda ve Hayvanlarda Oluşturduğu Hastalıklar

#### **S.aureus'un insanlarda oluşturduğu hastalıklar;**

- Toksinlere bağlı ortaya çıkan enfeksiyonlar; soyulmuş deri sendromu, toksik şok sendromu, besin zehirlenmesi,
- İnvazyon ve/veya sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlar;
  - a-Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu; impetigo, folikülit, furonkülit, karbonkülit, hidradenitis süpurativa, mastit, cerrahi yara enfeksiyonları,
  - b-Bakteriyemi, sepsis,
  - c-Kardiovasküler sistem enfeksiyonları; endokardit, perikardit, mediastinit, septik vaskülit,
  - d-Solunum sistemi enfeksiyonlar; pnömoni, amfizem,
  - e-Kas ve iskelet sistemi enfeksiyonları; osteomyelit, septik artrit, septik bursit,
  - f-Sentral sinir sistemi enfeksiyonları; menenjit, spinal epidural apse,
  - g-Üriner sistem enfeksiyonları.

#### **KNS'ların insanlarda oluşturduğu hastalıklar;**

- a-Üriner sistem enfeksiyonları; hastane kaynaklı (*S.epidermidis*) ve toplum kökenli gelişen enfeksiyonlar,
- b-Osteomyelit; sternal yara kaynaklı ve hematogen yolla gelişen enfeksiyonlar,
- c-İmmun suprese hastalarda bakteriyemi,
- d-Doğal kalp kapağı endokarditi,
- e-Oküler cerrahi sonrası endoftalmit,
- f-Yabancı cisim sonrası gelişen enfeksiyonlar; İV katater, hemodiyaliz şant ve greftleri, BOS şantları, peritoneal diyaliz kataterleri, Pacemaker tel ve elektrotları, prostetik eklemler, vasküler greftler, prostetik kalp kapakları, göğüs implantları, penil protezler (12,27,33,45).

#### **Stafilokokların hayvanlarda oluşturduğu hastalıklar;**

Mastitis, stafilokok mastitisleri özellikle inek, koyun ve keçilerde görülen akut veya kronik seyirli bir enfeksiyondur. Hastalık sığırlarda sporadik, koyunlarda ise enzootik karakterdedir. Akut seyirli stafilokok mastitisler ölümlere yol açarken, kronik seyirli olanlar ise oldukça hafif seyirlidir (8,16,43).

Botryomycosis, atların vücudun çeşitli yerlerinde, iç organlarda ve özellikle kastrasyon yaraları ile meme dokularında fistüllü irinleşme ve fibröz tümörlerin oluşmasıyla karakterize

bir hastalıktır. İnfeksiyona atlardan başka sığır, koyun ve domuzlarda da ender olarak rastlanmaktadır (8,16).

Kuzu enzootik piyemisi, daha çok *Ixodes ricinus* cinsi kenelerle enfekte olmuş çiftliklerdeki kuzularda görülen akut veya kronik formlarda seyreden ve belirgin bir hastalık tablosu şekillenmeden ölümlerle sonuçlanan bir infeksiyondur (8,12,16).

Stafilokokların hayvanlarda oluşturdukları diğer infeksiyonlar; yara infeksiyonları, metritis, enteritis, kulak infeksiyonu, konjunktivitis ve gıda zehirlenmeleridir (8).

## **2.1.8. Stafilokokların Tanısı**

### **2.1.8.1. Konvansiyonel Yöntemler**

Bakteriyoskopi, laboratuvara süt, iç organlar, eklem sıvıları ya da lezyonlardan alınmış svaplar gönderilir. Laboratuvara gönderilen marazi maddelerden hazırlanan preparatlar Gram boyama yöntemiyle boyanır ve mikroskopta kümeler halinde üzüm salkımı şeklinde Gram pozitif koklar görülmeye çalışılır (8,12,16).

Kültür, stafilokoklar normal laboratuvar besi yerlerinde kolayca ürerler. Katı besiyeri olarak genellikle koyun kanlı agar tercih edilir. Stafilokoklar burada genellikle 2-4 mm çapında yuvarlak, konveks ve parlak koloniler oluştururlar. Patojen olan stafilokok suşlarında pigment ve hemoliz görülebilir. Patojen stafilokok suşlarının ayırımında spesifik besiyeri olarak DNase testi için DNase agardan yararlanılır. Stafilokoklar genel sıvı besi yerlerinde 24 saatlik inkübasyon sonunda orta dereceden koyuya kadar değişen bir bulanıklık oluşturur. Sıvı besiyerinde üreyen stafilokoklar pigment oluşturmazlar (8,12).

Stafilokok aranmasında katı besiyeri veya EMS yöntemi kullanılabilir. Katı besiyeri olarak en yaygın kullanılan besiyeri Baird-Parker Agar besiyeridir. Chapman Agar besiyeri de pek çok laboratuvarında kullanılmaktadır. Analiz edilecek gıdada stafilokok sayısı az ise EMS yöntemi kullanılır. Bu amaçla en uygun besiyeri Giolitti-Cantoni Broth besiyeridir. Bunların dışında EMS yöntemi ile sayım ve/veya var/yok testinde Baird Broth, katı besiyeri olarak Vogel-Johnson Agar, Mannitol Salt Phenol Red Agar ve Kranep Agar kullanılmaktadır (9,54).

Hayvan deneyi, tavşanlar patojen stafilokok suşlarına karşı çok duyarlıdır. Bu nedenle, izole edilen şüpheli kültürlerle tavşanlarda deneysel infeksiyonlar oluşturulabilir. Ancak, mastitis teşhisinde hayvan deneyi kullanılmamaktadır (8,12).

Faj tiplendirmesi, *S.aureus*'un faj tiplendirilmesi yapılmakta olup, özellikle epidemiyolojik amaçlar için sorumlu suşların izlenmesinde faj tiplendirmesi önemli görülmektedir. Faj tiplendirmesi Dünya Sağlık Örgütü'nün kabul ettiği yaklaşık 24 standart stafilokok fajı (Çizelge-1) kullanılarak yapılmaktadır. Bu bakteriyofajlar, her birisinin konuk olduğu spesifik duyarlı *S.aureus* konak suşlarında sürdürülmekte ve denenecek stafilokok suşlarına uygun yöntemler uygulanarak onları eritmelerine göre isimlendirilmektedir (12,27).

**Çizelge-1.** *S.aureus* fajları ve başlıca faj tipleri (12,27).

| Faj grubu | Fajlar           | Başlıca Stafilokok Faj Tipleri |
|-----------|------------------|--------------------------------|
| I         | 29,52,52A,79,80  | 29,52/52A/80/81,80             |
| II        | 3A,3B,3C,55,71   | 3A/3B/3C, 3C/55                |
| III       | 6,7,42E,47,53,54 | 6/7/53//75/77                  |
| IV        | 42D              |                                |

Katalaz oluşumu; tüm stafilokokların katalaz enzimleri bulunmaktadır. Bu enzim, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar. Katalaz testi ile stafilokoklar, streptokoklardan ayırt edilmektedir (26).

Koagülaz oluşumu; koagülaz aktivitesi, *S. aureus*'u diğer stafilokok türlerinden ayırmada kullanılır. Ancak yapılan araştırmalara göre stafilokokların diğer türlerinde de koagülaz aktivitesi saptanabilmektedir (Çizelge-2 ) (45).

**Çizelge-2.** *S. aureus* dışındaki koagülaz pozitif olan diğer stafilokok türleri (45).

| Koagülaz                            | <i>S.intermedius</i> | <i>S.hyicus</i> | <i>S.lugdunensis</i> | <i>S. schleiferi</i><br>subsp.coagulans | <i>S. schleiferi</i><br>subsp. schleiferi |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------|----------------------|---|---|
| Serbest koagülaz                    | +                    | +               | -                    | +                                       | -   |
| Bağlı koagülaz<br>(clumping factor) | ±                    | -               | +                    | -                                       | +   |

DNase testi, DNase deneyi, içinde %0.2 DNA içeren besiyerine ekilen stafilokokların, üredikleri yerde ve çevrelerindeki DNA'yı eritmelerini araştırmak suretiyle yapılmaktadır. DNase testi, koagülaz deneyi yerine *S. aureus*'ların tanımlanmasında kullanılmamaktadır. Ancak çeşitli özellikleri ile (beta-toxin oluşturma, stafilokinaz yapma, faj ile erime vb.) *S.*

*aureus* oldukları anlaşılan stafilokokların nadir bazı kökenleri kaogülaz olumsuz bulunurlar. Bunların DNase testi pozitif bulunmaları, *S.aureus* olduklarına kanıt sayılmaktadır (49).

Novobiocin direnci, Mueller-Hinton agarda 5µg'lık novobiocin diski kullanılarak novobiocin direnci değerlendirilir. Zon çapının ≤16mm olması novobiocin direncini gösterir. Novobiocin direnci özellikle *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis*'in tanımlanmasında kullanılmaktadır (26).

Karbonhidrat fermantasyonu, özellikle otomatize sistemlerde tür tanımlamasında diğer testlerin yanı sıra, bakterilerin çeşitli karbonhidratları hidrolize edebilmesi de tanı kriteri olarak değerlendirilmektedir (17).

## **2.1.8.2. Metabolizmaya Dayalı Testler**

### **2.1.8.2.1. İmpedans**

İmpedans, elektiriği ileten bir materyale (ör. besiyeri) verilen alternatif akıma gösterilen dirençtir. Bu, kondüktif ve kapasitif elementin kombinasyonundan oluşan vektörel bir büyüklüktür. Mikroorganizmalar metabolize olurken, besiyerinde yeni son ürünler üretirler. Genellikle elektriksel gücü olmayan ya da zayıf olan substratlar, yüksek elektrik potansiyeline sahip son ürünlere dönüştürülürler. Bu bağlamda, proteinler metabolize olarak aminoasitlere, karbonhidratlar laktatlara, lipitler asetata dönüşerek besiyerinin impedansında değişiklikler oluştururlar. Bu son metabolik ürünler, daha fazla elektrik yükü taşırlar, daha küçük olup, orijinal hallerine oranla daha yüksek hareket kabiliyetine sahiptirler. İmpedansdaki değişiklikler, mikroorganizma sayısı  $10^6$ - $10^7$  kob/ml düzeyindeki eşik değeri geçtiği zaman, tespit edilebilir hale gelmektedir (44,98).

Elektrik impedans tekniğinde, ortamın elektrik impedansında meydana gelen değişimler, besiyerine yerleştirilen elektrotlarla ölçülmektedir. Besiyerinde oluşan yeni metabolitler, elektriksel büyüklüklerden olan iletkenlik (µS), direnç (Ω) ve kapasitansta (µF) değişikliğe neden olurlar. Mikrobiyel üreme sırasında, büyük moleküller daha küçük ve aktif moleküllere dönüşmekte, ortamdaki mikrobiyel üreme belirli bir noktaya geldiğinde, mikroorganizmaların oluşturduğu yeni metabolitler sonucu ortamın elektrik impedansı belirli bir değere ulaşmaktadır. İşte elektrik impedans tekniği, mikrobiyal üreme sonucu elektrik impedansta meydana gelen bu değişimin, ölçülebilir seviyeye ulaştığı noktayı saptama prensibine dayalı bir tekniktir (21,22,32,42,55,88).

Direkt impedans tekniğinde, örnek materyal ile inokule edilmiş sıvı besiyerinin içine elektrotlar yerleştirilmektedir. Örneğin içerdiği mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucunda, besiyerinin moleküler kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler, besiyerinin kondüktivitesini ve temel olarak elektrot-sıvı ara yüzeyinin polarizasyonundan kaynaklanan kapasitansı artırmaktadır (99,100).

İndirekt İmpedans, besiyerinde tuz konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda, indirekt impedans tekniğine başvurulmaktadır. *S. aureus* izolasyonu için kullanılan Baird-Parker besiyerine sodyum klorür ve lityum klorür gibi tuzların belirli oranlarda katılmasından dolayı, bu besiyerlerinin kondüktans değerlerinin direkt kondüktimetrik testlerde kullanılamayacak kadar yüksek olduğu, bu gibi durumlarda indirekt tekniğin kullanılabilceği bildirilmiştir. Kültür kabı gaz değişimine olanak tanıyacak şekilde iki ayrı bölmeden oluşmaktadır. Bölmelerden bir tanesi besiyerini ve örneği içermekte, diğeri ise bir alkali solusyonu veya bir alkali köprüsünü içermektedir. İnokulasyonu takiben, inkübasyon sırasında mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sebebiyle ortaya çıkan başta CO<sub>2</sub> gibi gazlar, kültür kabının diğeri bölmesindeki potasyum hidroksit tarafından absorbe edilerek, alkali materyalin kondüktansında bir azalmaya yol açmaktadır (30,31,41).

İmpedans-Splitting tekniği (İS), toplam impedans ölçüm tekniklerinden farklı olarak, besiyerindeki impedans değişikliği ile elektrot sistemindeki impedans değişikliklerinin ayrı ayrı ölçülmesi ve kaydedilmesi ile diğerilerinden ayrılmaktadır. Elektrot sistemindeki impedans değişikliğinin daha duyarlı olmasına bağlı olarak, saptama süresinin daha kısa olduğu bildirilmiştir (71,74).

İmpedans-Splitting tekniğinde, ölçülen iki değerden biri elektrot yüzeyindeki kapasitans değişikliği için kullanılan E-değeri, ikincisi besiyerindeki (Medium) kondüktivite değişikliği için kullanılan M-değeri. M-değerinin, stabil özellik gösterdiği ve toplam canlı sayısının belirlenmesi için uygun olduğu bildirilmiştir. E-değerinin, M-değerine göre büyük dalgalanmalar gösterdiği ve iletkenliği yüksek besiyerlerinde kullanılabileceği ortaya konmuştur (58,74,75,76).

Arnott, *S. aureus*' un saptanması amacıyla bir besiyeri geliştirmiştir. Araştırmacı, süt tozunda yaptığı çalışmada besiyerinin su aktivitesini düşürmek amacıyla, gliserol ve NaCl ilave etmiş sonuçta iletkenlikte zayıf, buna karşın kapasitansta yüksek sinyaller elde ettiğini bildirmiştir (13).

### 2.1.8.3. Moleküler Teknikler

#### 2.1.8.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR, klinik materyallerde bulunan veya izole edilen etkenlere ait DNA'ların veya bazı spesifik sekansların invitro olarak çok kısa sürede (birkaç saat) enzimatik amplifikasyonlarını amaçlar. PCR'ın çalışma prensibi özet olarak, izole edilen veya patolojik materyallerde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotit primerler ve enzimler yardımıyla sayısal olarak çoğaltılması (amplifikasyon) şeklinde tanımlanabilir (11,36,82).

PCR'ın prensibi tekrarlanan üç basamağa dayanır. Denatürasyon, hibridizasyon, polimerizasyon (sentez). Denatürasyon; PCR işleminin ilk aşamasında amplifiye edilecek matris DNA, başlangıçta 90-95°C de 30 sn. kadar ısıtılır. Hibridizasyon; DNA'nın ısıyla denatüre edilmesi yani çift sarmallı DNA'da sarmalların birbirinden ayrılması ve sıcaklığın 50°C'ye düşürülmesi ile primerler, DNA matrisi üzerinde yoğunlaşırlar. Primerlerden birisi kendine ait 5' - ucu ile hedef DNA'lardan birinin 3' - ucu ile, diğer primerler de, ikinci tek iplikçik DNA'nın, anti paralel olarak diğer ucunda bulunan 3'-ucuna bağlanarak, DNA polimeraz'ın çalışması yönüne uygun olarak (5'-3') bağlanırlar. Polimerizasyon (sentez); sentez basamağında, primerlerin DNA polimeraz enzimi vasıtasıyla hedef DNA sarmalını tamamlamaları işlemi gerçekleşir. Yeni şekillenmiş olan sarmal, orijinal hedef DNA'dan denatürasyon yolu ile ayrılır ve primer hibridizasyonu, DNA sentezi ve denatürasyon siklusu tekrar edilir (11,36,82).

PCR sonuçlarının değerlendirilmesi; PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin saptanmasında en çok kullanılan metot, Ethidium bromide ile boyalı Agarose Gel üzerine yükleyerek elektroforez işlemine tabi tutmak ve ayrılan bantların, UV transilluminatör ile gözle görülebilir bir hale getirmektir. Bunun yanısıra, bu teknikten daha duyarlı, fakat hazırlanması ve kontrolü daha zor olan Poliakrilamide Gel Elektroforez (PAGE) metodu da kullanılmaktadır. PAGE, özellikle küçük DNA fragmentlerinin separasyonunda Agarose Gel'e oranla daha etkilidir (11,36,82).

Bu metotlara ilave olarak, PCR ürünlerinin analizinde, Southern Blot veya Dot Blot prosedürleri gibi radyoaktif olmayan spesifik problemlerin kullanılmasına dayalı, daha duyarlı metotlar da kullanılabilir (82).



### 2.1.8.3.2. Gaz Kromatografisi

Gaz Kromatografisi, bu sistemler fenotipik ya da genotipik karakterizasyon esasına göre uygulanmaktadır. Ticari olarak mevcut olan bilgisayar destekli Mikrobiyal İdentifikasyon Sistem (MİS), bakterilerin yağ asitlerini gaz kromatografi metoduyla analiz edebilmektedir. Sistem, türlere özgü olan yağ asiti metil esterleri gibi bileşikleri yüksek ayrıştırma özelliğindeki gaz-sıvı kromatografisi vasıtasıyla tanımlar. MİS laboratuvarında izole edilen bir çok mikroorganizmanın identifikasyonunda kullanılmaktadır (62).

Tanımlamak istediğimiz stafilokok izolatları kanlı agar besiyerinde saf suşlar halinde üretildikten sonra kanlı agar besiyerine ekim yapılarak 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılır. Daha sonra stafilokokların yağ asiti metil esterlerinin izolasyonu ve saflaştırılması için bir öze dolusu izolat steril bir cam test tüpüne (5 ml) aktarılarak ağzı sıkıca kapatılır. Daha sonra her bir test tüpüne 1ml çözelti-1 eklenir, 5-10 saniye çalkalanır ve 25 dakika süre ile 100°C'lik sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılır. Bu işlem ile canlı hücreler parçalanıp yağ asitlerinin serbest kalması sağlanır (62).

İkinci basamakta test tüplerine 2 ml çözelti-2 eklenir, 5-10 sn. çalkalandıktan sonra 80°C'de 10 dk. bekletilir ve iki dakika kadar buz içerisinde bekletilir. Metilasyon basamağı olarak bilinen bu safhada serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmekte ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri oluşmaktadır. Böylece yağ asit esterleri kararlı hale gelerek daha yüksek sıcaklıkta uçuculuk özelliği kazanmaktadır (62).

Üçüncü basamakta soğutulmuş tüplere 1.25 ml çözelti-3 eklenerek 10 dk. çalkalanır. Bu süre sonunda tüplerde iki faz oluşur. Alt fazda asidik, üstte organik sıvı faz oluşup pastör pipeti ile dikkatli bir şekilde asidik faz atılır (62).

En son aşamada her tüpe 3 ml çözelti-4 eklenir. Tüpler beş dakika çalkalanarak 10 dk. oda sıcaklığında bekletilir. Bazik yıkama denilen bu safhada yağ asit metil esterleri daha saf olarak elde edilir. Bekleme sonunda tüplerde oluşan iki fazın üstte kalanı yağ asitlerinin saf metil esterleri olup bu alandan pastör pipeti ile 2ml gaz kromatografisi tüplerine transfer edilir. Ağızları sıkıca kapatılarak MİS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine dikkatli bir şekilde yerleştirilir. Sistem kılavuzuna uygun şekilde analiz edilir (62).

MİS, stafilokokları aynı gün tür düzeyinde tanımlama olanağı vermektedir. Daha önce yapılan bir araştırmada Stoakes ve ark. (83), MİS'i, konvansiyonel ve diğer ticari tekniklerle (API Staph-Ident, DMS Staph-Trac, Minitex, Pos ID panel) karşılaştırmışlar, MİS yöntemi ile

470 stafilokok suşunun 413 (%87.8)'ünü doğru olarak isimlendirirken, 57 suşu ise isimlendirememişlerdir. Aynı çalışmada MİS'in stafilokokların identifikasyonunda performansı yüksek alternatif bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Yine bir çalışmada Kotilainen ve ark. (64), koagülaz negatif suşlardan *S.capitis*, *S.haemolyticus*, *S. warneri* ve *S.lugdunensis*'i MİS ile isimlendirmişlerdir. Behme ve ark. (23), stafilokokların tanımlanmasında biyokimyasal testler ile yağ asiti analizine dayanan MİS'i karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında her iki yöntemle de 35 stafilokok suşunun hepsini tanımlamışlardır.

#### 2.1.8.4. Diğer Tanı Sistemleri

Stafilokoklar bir çok ticari identifikasyon sistemi ile adlandırılabilir. Bu sistemler arasında Api-STAPH, Vitek GPI, MICROBACT 12S Staphylococcal Identification System sayılabilir. *S.aureus*'un oluşturduğu mastitislerin tanımlanmasında ELISA yöntemi de kullanılabilir (48,57).

#### 2.2. Mastitis

Mastitis, meme alveollerinin fibrozisi ve süt veriminin azalması ile karakterize bir çok mikroorganizmanın rol aldığı akut, subakut ve sublinik seyreden bir hastalıktır. Mastitisin hazırlayıcı sebepleri olarak, çevre şartları (sağım hataları, ahır hijyeninin bozuk olması, kötü bakım ve besleme), genetik yapı, süt verimi, yaş, laktasyon sayısı ve meme anomalileri gibi faktörler sayılabilir (20,84).

Mikroorganizmalar meme başı kanalı yoluyla veya kan yoluyla meme içine yerleşerek mastitis oluşturmaktadır. Bir çok mikroorganizmanın mastitis nedeni olmasına karşın, sığırlarda mastitis etkeni olarak en sık izole edilen bakterilerin, *S.aureus*, *S.agalactia*, *S.uberis* olduğu, ayrıca *E.coli*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Mycoplasma* gibi bakterilerle, mantar ve virusların da mastitis oluşturduğu bildirilmiştir (12,20,84).

Meme yangıları süt işletmelerinin en önemli hastalıklarındandır. Hastalığın klinik formları ineklerin problemi olarak karşımıza çıksada, sürü problemi olduğu zaman önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Süt işletmelerinde süt veriminde azalmalara neden olmakla birlikte, sütün yapısında da değişimlere neden olarak süt ve süt ürünlerinin kalitesinde de bozukluklar oluşmaktadır. Hastalığı oluşturan bazı mikroorganizmaların halk sağlığında etkilemeleri sonucu hastalık değişik boyutlarda önem kazanmaktadır (4,20).

## **2.2.1. Klinik Seyirlerine Göre Mastitislerin Sınıflandırılması**

### **2.2.1.1. Klinik Mastitis**

#### **2.2.1.1.1. Preakut mastitis**

Meme bölümlerinden bir veya birkaçında ani bir şişme, sıcaklık, sertlik ve duyarlılık vardır. Süt sulu, kanlı veya pıhtılıdır. Bir çok preakut mastitis olgularında, lokal belirtilerin yanısıra sistemik belirtilerde bulunur. Beden ısısı artar, nabız hızlıdır, depresyon, halsizlik, iştah ve kilo kaybı gözlenir (20,73).

#### **2.2.1.1.2. Akut ve Subakut Mastitis**

Daha hafif seyreden klinik mastitisin bu şekillerinde sütte azalmanın yanısıra renk ve kıvam değişikliği görülür. Meme şiş olup, sıcaklık ve duyarlılık bulunur. Sistemik belirtiler hafiftir veya görülmeyebilir (20,73).

#### **2.2.1.1.3. Kronik Mastitis**

Memenin yangısal bozukluklarının aylarca veya bir laktasyon periyodundan diğerine kadar memede kaldığı olgular olup çoğunlukla subklinik seyretmektedir. Bazen aktif şekle dönüşebilmektedir (20,73).

### **2.2.1.2. Subklinik Mastitis**

Meme dokusunu, sütün bileşimini ve miktarını etkilemekle birlikte, şekillenen değişikliklerin hiçbiri gözle veya klinik muayenelerle izlenemez. Ancak, sütte somatik hücre sayısının artışı, sütün içeriğinin değişimi ve patojen etkenlerin izolasyonu ile farkedilebilen bir meme yangısıdır. Bu tip mastitis belirtisiz seyrettiği için gözden kaçmakta ve inekler arasında kolaylıkla yayılabilmektedir. Çeşitli mikroorganizmalar tarafından oluşturulan mastitis, kontrolü ve eradikasyonu zor bir hastalıktır. Mastitis süt endüstrisinde önemli kayıplar doğurmaktadır. Bütün klinik kayıplar göz önünde tutulduğunda mastitis; sütün azalması, sağaltım için ayrılan zaman, tedavi giderleri, sağaltılamayan hayvanların elden çıkarılması gibi kayıpları kapsamaktadır. Mastitis sütün niteliğini de olumsuz yönde etkilemekte ve mastitis şiddetlendikçe bu etki fazlaşmaktadır (12,19,60,73).

## **2.2.2. Sığır Mastitislerinin Gelişiminde Rol Oynayan Faktörler**

### **2.2.2.1. Hayvana Bağlı Faktörler**

İrk ve kalıtım, çeşitli araştırmacılar süt ineklerinde pelvis genişliğinin, memenin lateral ve median ligamentlerinin pelvise bağlanma sağlamlığının ve genişliğinin, memelerin büyüklük ve konumlarının, meme başlarının uzunluk ve biçimlerinin, dış etkilere dayanıklılığı etkileyen önemli kalıtsal karakterler olduğunu bildirmektedir (4).

Yaş ve laktasyon sayısı, yaş ilerledikçe mastitis oranı da artmaktadır. Yaşla birlikte meme başları uzar, meme başı zemin aralığı kısalır, meme başı lezyonları artar ve meme başı sfinkteri gevşer. Yaş faktörüne paralel olarak, laktasyon sayısının artması, meme başının gevşemesine ve duyarlılığının artmasına neden olur (4,19).

Laktasyon dönemi, laktasyon süt sekresyonu ve salınımını kapsayan sürece verilen isimdir. Çoğu meme enfeksiyonu laktasyonun herhangi bir döneminde başlayabilmektedir. Enfeksiyonun %50'si laktasyonun ilk üç ayındadır. Laktasyonun ilk ayında enfekte ineklerin %30'unda klinik mastitis görüldüğü halde, diğer aylarda bu oran %10-15 arasında değişmektedir. Kuruya (süt sekresyonunun bitişi) geçen süt ineklerinde ve özellikle kuru dönemin ilk üç haftasında meme enfeksiyonları sık görülmektedir. Bu enfeksiyonların %50'si doğuma kadar sabit kalmakta ve aynı oranda doğumdan sonraki iki haftada klinik belirtileri ile ortaya çıkmaktadır (4,73).

### **2.2.2.2. Çevresel Faktörler**

Hava koşulları, mevsim, beslenme, sağım ile ilgili faktörler ve barınak koşulları (nem, ısı, ışık, havalandırma vs.) gibi bir çok bakım ve çevre faktörü mastitis oluşumunda hazırlayıcı etki meydana getirmektedir (19).

### **2.2.2.3. Mikroorganizmalar**

Sığır mastitislerine neden olan mikroorganizmalar, kontagiyöz (bulaşıcı), çevresel ve fırsatçı olmak üzere üç tipte mastitise neden olmaktadır (19,73).

Kontagiyöz mastitis, inekten ineğe bulaşan mastitis şeklindedir. Bu tip mastitisleri oluşturan etkenlerin en önemli yerleşim alanları meme ve meme başındaki lezyonlardır. Enfeksiyon, sütle bulaşık malzemeler, sağımcının elleri ve sağım makinaları ile bulaşır.

Kontagiyöz mastitise sebep olan en önemli etkenler; *S.aureus*, *S.agalactia* ve mikoplazmalardır (19,77).

Çevresel mastitis, bu tip mastitislere sebep olan bakteriler hayvanın bulunduğu ortamda devamlı temas ettiği dışkı, su, altlıklar ve toprakta çok miktarda bulunmaktadır. Çevresel mastitise neden olan en önemli etkenler K-negatif stafilokoklar ve koliform mikroorganizmalardır (19,77).

Süt sığırcılığında verimi etkileyen faktörlerin başında gelen mastitis, geniş anlamda incelendiği zaman yukarıda belirtilen faktörlerin birbiri ile yakın ilişkili olduğu görülmektedir. Özellikle hastalığın oluşmasından mikroorganizmalar sorumludurlar. Diğer bir çok ülkede olduğu gibi ülkemizde de mastitis olgularının %90-95'ini bakteriler oluşturmaktadır. Geri kalan %5-10'u ise virüsler, mikoplazmalar ve mantarlar tarafından meydana getirilmektedir (19,101).

### 2.3. Stafilokok Mastitisi

Bir çok mikroorganizmanın mastitise yol açabildiği bilinmekle birlikte, gerek ülkemizde gerekse başka ülkelerde son 20 yılda yapılan araştırma sonuçlarına göre ineklerde mastitis olgularında yaygın olarak izole edilen mikroorganizmanın stafilokok türleri olduğu belirtilmektedir (16). Ülkemizde mastitis olgularından alınan süt örneklerinde *S.aureus* oranı; Kars'ta % 29.82, yine Kars'ta yapılan başka bir çalışmada % 35.89, Aydın'da % 44.04, Van'da %23.39, Konya'da %92.6, Afyon'da %37.8, Trakya yöresinde %13.3, Elazığ'da %39.45 şeklinde tespit edilmiştir (2,6,14,52,63,66,84,90,96,97,102).

Dünyanın değişik yerlerinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen *S.aureus* oranı; Brezilya'da %7.6, İran'da %61.2, Slovakya'da %22.2 olarak tespit edilmiştir. KNS' ların oranı Nijerya'da %15.4 olarak tespit edilmiştir (7,24,70,93).

Stafilokok mastitisi, verim ve ürün kayıpları ile tedavi masrafları yönünden en çok ekonomik kayıba neden olan sorunların başında gelmektedir. Stafilokoklara bağlı mastitisler, kuru döneme girişte, doğumdan sonra ve laktasyon döneminin her evresinde görülebilmektedir. Stafilokok türleri, mastitisin en yaygın olarak görülen bakteriyel nedenlerindedir. Sublinik mastitislerin %95'i, klinik mastitislerin ise %60'ından fazlası Gram pozitif bakteriler tarafından oluşturulmaktadır. Gram pozitif bakteriler arasında ise en fazla

görülen *S.aureus*'tur. *S.aureus* dışındaki stafilokok türleri hem klinik hem de subklinik özellikle çevresel mastitise neden olabilmektedir (12,19,77,79, 80,96).

*S.aureus*'un yanı sıra KNS'ların mastitis vakalarında görülme oranının her geçen gün arttığı bildirilmektedir. KNS'ların oluşturduğu mastitis, *S.aureus* enfeksiyonlarına kıyasla daha hafif seyretmektedir. KNS mastitislerinden en sık izole edilen türler; *S. hyicus*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. hominis* ve *S. haemolyticus*'dur. KNS'ların virülanslarındaki farklılıklar tam olarak ortaya konmamakla birlikte, yapılan çalışmalarda mastitise yol açan en virulent türün *S.hyicus* olduğu belirtilmektedir (65,77,87,103).

Ülkemiz hayvancılığında özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinde önemli problemlerden birisi subklinik mastitistir. Sığır mastitislerinin etiyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda mastitis etkeni olarak, *S.aureus* önemli oranda izole ve identifiye edilmiştir (2,5,6,14,52,63,66,84, 95,96,97,102).

Alaçam ve ark. (5), Tarım Orman ve Köyleri Bakanlığının Mandacılık Araştırma Enstitüsü (Afyon)'ne ait 3-12 yaşlı İsviçre esmeri inek ve yerli mandalar üzerinde yıl içinde değişik mevsimlerde yürütülen çalışmalarda CMT pozitif olan meme loblarından alınan süt örneklerinde subklinik mastitisli ineklerin %26.19'unda, mandaların %37.50'sinde stafilokok izole etmişlerdir. Aydın ve ark. (14), Kars yöresindeki 456 sağmal ineği CMT ile muayene etmişler, CMT pozitif 73 mastitisli inekten 93 süt örneği toplamışlar, 93 CMT pozitif süt örneğinden toplam 78 suş izole etmişlerdir. CMT pozitif süt örneklerinden, 28 (%35.89)'inde *S.aureus*, 15 (%19.23)'inde *S.epidermidis* izole etmişlerdir. Şahin ve ark. (84), Kars ili merkez köylerine ithal olarak getirilen Simental ırkı, 2 yaşında ve ilk laktasyon döneminde olan 304 ineği CMT ile muayene etmişler, CMT pozitif 51 mastitisli inekten 71 süt örneği alarak mikrobiyolojik olarak muayene etmişler, 71 süt örneğinden 52'sinde toplam 57 aerobik etken izole ve identifiye etmişlerdir. Bu etkenlerin 17 (%29.82)'sinin *S.aureus*, 10 (%17.54)'unun *S.epidermidis* olduğunu saptamışlardır.

Gürtürk ve ark. (52), Van ve yöresindeki çeşitli işletmelerde yetiştirilen toplam 650 sağmal inekten alınan 2550 süt numunesini CMT ile subklinik mastitis yönünden incelemişler, CMT pozitif bulunan 200 süt örneğinden 256 mikroorganizma izole etmişler, izole edilen toplam 256 mikroorganizmadan 105 (%41)'ini stafilokok mikroorganizma olarak identifiye etmişlerdir. İzole edilen stafilokoklardan 65 (%23.39)'ini *S.aureus*, 9 (%3.51)'unu *S.haemolyticus*, 8 (%3.12)'ini *S.intermedius*, 8 (%3.1)'ini ayrı ayrı *S.warneri* ve *S.saprophyticus*, 7 (%2.73)'sini *S.epidermidis* olarak tanımlamışlardır. Kuyucuoğlu ve ark. (66), Afyon bölgesinde bulunan değişik laktasyon dönemlerindeki 272 inekte subklinik ve

linik mastitisli meme loblarının belirlenmesi amacıyla CMT ve klinik gözlemler yapmışlar, CMT pozitif bulunan 126 inekten 164 adet süt örneği alarak mikrobiyolojik olarak incelemişler, örneklerden 62 (%37.8)'sinde *S.aureus*, 22 (%13.4)'sinde *S.epidermidis* izole ve identifiye etmişlerdir.

Vural ve ark. (97), yurtdışından ithal edilen 30 baş ve Türkiye koşullarında yetişmiş 30 baş olmak üzere toplam 60 baş siyah-beyaz alaca düveden bakteriyolojik tarama amacı ile tüm meme loblarından ilk laktasyonlarının 1-7. ayları arasında aylık süt örnekleri toplamışlar ve CMT bulgularını kaydetmişler, gerek ithal gerekse yerli düvelerde ilk laktasyonlarında baskın mikroorganizmaların KNS ve *S.aureus* olduğunu, yerli düvelerde her ne kadar laktasyonun 4. ayından itibaren *S.aureus* enfeksiyonlarında bir azalma gözlemlense de bu etkenlerin ilk laktasyon süresince belirli bir seviyeyi korudukları ve *S.aureus* enfeksiyonlarının büyük bir kısmının +3 düzeyinde CMT skoru vermesi, meme dokusunda kısmen dejenerasyonların şekillenmeye başladığının bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Ak (2), Trakya yöresindeki sütçü ineklerde CMT pozitif olarak belirlediği 77 süt örneğinden 105 etken izole etmiş, bu etkenlerden %13.3'ünün *S.aureus* olduğunu bildirmiştir.

Kireçci ve ark. (63), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Çiftliğinde bulunan Holstein ve Montafon ırkı 82 adet inekten alınan 328 süt numunesini CMT ile subklinik mastitis yönünden incelemişler, CMT pozitif bulunan 140 süt örneğinden 168 mikroorganizma izole etmişler, izole edilen 168 mikroorganizmadan 86 (%51.2)'sını stafilokok türü mikroorganizmaların oluşturduğunu, izole edilen 86 stafilokok suşunun 23 (%26.7)'ünün K- pozitif *S.aureus*, 63 (%73.3)'ünün ise KNS suşu olduğunu tespit etmişlerdir. Alışarlı ve ark. (6), Van ili çevresindeki 5 farklı çiftlikten sağlıklı görünen 100 sağmal süt ineğine ait 100 adet çiğ süt örneği almışlar, alınan bu 100 adet çiğ süt örneğinden 20 adedi CMT pozitif olarak bulunmuş ve subklinik mastitisli süt örneklerinde stafilokoklar önemli bir etken olarak örneklerin tamamında ve ortanca değeri  $10^3$  kob/ml seviyesinde belirlemişlerdir.

Yıldız (102), Elazığ ili ve çevresindeki süt üreticiliği yapan işletmelere ait 76 inekten CMT pozitif 109 subklinik meme lobundan yaptığı bakteriyolojik muayene sonucunda, 43 (%39.45)'ünü *S.aureus* ve 25 (%22.94)'ini *S.epidermidis* olarak identifiye etmiştir. Rişvanlı ve ark. (95), 1249 inekte stafilokokkal mastitislerin dağılımını incelemişler, sonuç olarak ele alınan hayvanlardaki stafilokokkal mastitislerin oranını % 48.28 olarak bulmuşlardır. Bu tip mastitislere sebep olan bakteriler içerisinde en önemli yeri ise %73.78 ile *S.aureus*'un aldığını bildirmişlerdir. Uçan ve ark. (90), Konya bölgesinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen 81 koagülaz pozitif stafilokok suşunun 51 (%63)'ini  $\beta$ -laktamaz pozitif bulmuşlar, suşların 75 (%92.6)'ini *S.aureus*, 6 (%7.4)'sını *S.intermedius* olarak identifiye etmişlerdir.

İstanbuluoğlu ve ark. (96), CMT pozitif süt örneklerinden izole edilen 96 stafilokok suşunun 48 (%50)'ini K-pozitif, 48 (%50)'ini K-negatif türlerin oluşturduğunu, K-pozitif suşların 46 (%95)'sını *S.aureus* türü suşlar, K-negatiflerin 16 (%33)'sını *S.haemolyticus* türü suşların oluşturduğunu bildirmişlerdir. Savaşan ve ark. (96), Aydın ili ve çevresinde farklı yerleşimdeki sığır sürüleri ve süt sığırcılığı işletmeleri ve buralardaki mastitisli ve normal hayvanlardan 84 stafilokok suşu izole etmişler, bu 84 stafilokok suşunun 37 (%44.04)'sinde *S.aureus* identifiye etmişlerdir. Dinç ve ark. (96), Ankara ili süt sığırcılığı işletmelerinden laboratuvara gönderilen mastitis şüpheli 150 süt örneğinden cins düzeyinde bakteriyolojik tarama yapmışlar, örneklerin %44.6'sında stafilokok türü saptamışlardır.

### 2.3.1. Stafilokok Mastitislerinin Patogenezi ve Kliniği

Mikroorganizmalar memeye girdikten sonra meme lobunun alt kısmındaki sekrotorik dokuda çoğalmaya başlarlar. Enfeksiyon daha sonra tüm memeye yayılır. Kronik enfeksiyonlarda bu yayılma yavaştır ve ilk dönemde hücrelerin yıkımına neden olurlar. Parçalanmış bu hücrelerden ortama bazı kimyasal maddeler açığa çıkar. Bu durum polymorphonuclear leucocytes (PMN) bu bölgeye infiltrasyonunu artırır. Lökositlerin içerdiği enzimler, bakterilerin parçalanıp sindirilmesine yardımcı olurlar. Daha sonra lökositler degranüle olurlar ve kapillar duvarın permeabilitesini çoğalan kimyasal yapılar salgırlar. Buda sıvı ve proteinlerin kandan dokulara geçmesine neden olur. Lökositler ayrıca bakteri üremesini durdurup irritasyonu önler ve böylece memenin fonksiyon kaybını gidermeye çalışırlar. Bu işlemler sırasında çok sayıda lökosit sütle atılır (12,79).

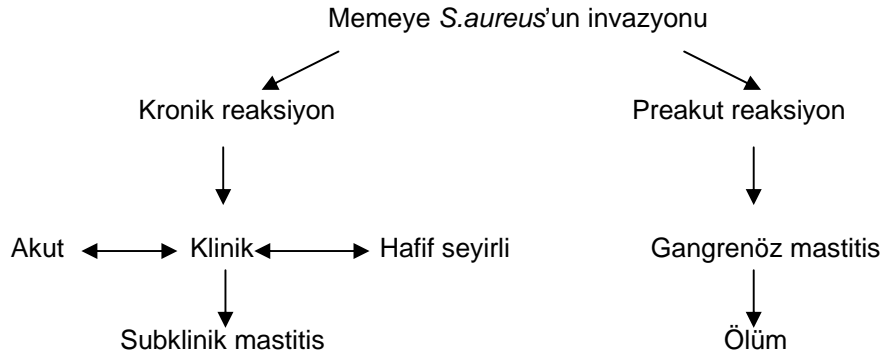
Olgunun kronik olması ve memede fibröz doku şekillenmesi nedeniyle palpasyonda fibrötik bölgeler tespit edilmektedir. Çoğunlukla enfeksiyon subklinik seyrettiğinden zamanla akut parlamalara da rastlanmaktadır. Akut olgularda meme şiş ve beden ısı yüksek olup, enfeksiyon bazen gangrenöz karakterde görülmektedir. Klinik olarak memelerde hafif şişlik, sütte belirgin pıhtı ve flakonlar görülmektedir (4,67).

Stafilokok mastitisler en fazla *S.agalactiae*'nin görülmediği sürülerde belirgin olarak ortaya çıkar. *S.aureus* subklinik ve kronik mastitisler oluşturur, ancak per akut mastitis ve gangren ile sonuçlanan olgulara da rastlanılmıştır. Bakteriyel toksinlerin ve toksik ürünlerin gangren oluşmasında rol oynadıkları kabul edilmektedir. Meme dokusunda en fazla yıkıma neden olan toksin, alfa toksindir. Damarları daraltarak yıkılmış dokuların işemik nekrozuna ve gangrene yol açar. *S.aureus*'un başlıca rezervuarı meme ve meme başı derisi ve enfekte bezlerin sütüdür. Enfeksiyon sağım sırasında yayılabilir. Bunun sonucunda, ilerleyen dönemlerde ineklerde düşük süt verimi ve memenin körelmesine neden olmaktadır.



Stafilokokların ve özellikle patojen tür olan *S.aureus*'ün oluşturduğu ekzotoksinleri, yüzey proteinleri ve slime faktörü gibi virülens özellikleri, mastitisin gelişiminde önemli rol almaktadır. *S.aureus*, kontagiyöz mastitis etkeni olup, sürü içinde, sağım hijyenine dikkat edilmemesi durumunda, enfekte meme lobundan bir diğerine sağım başlıkları ve bakıcıların elleriyle yayılmaktadır (12,19,77,79).

Stafilokoklardan ileri gelen mastitisler, ineklerde akut formdan kronik şekle kadar değişen bir klinik tablo gösterir. Akut mastitiste, hayvanlarda ateş, anoreksi, depresyon, rumen hareketlerinin durması ve zayıflama gibi genel bulgular görülür. Hastalıklı meme bölgesi şişmiş, ödemli, sıcak ve ağrılıdır. Ağrıdan dolayı tek taraflı bir topallıkta belirir. Şayet gangrenleşme olmazsa süt salgısı azalır, seröz, pıhtılı, prulent ve kanlı bir görünüm alır. Gangren oluşursa hastalıklı meme bölgesi, mor-mavi bir renk alır. Kronik mastitiste ise, başlangıçta memede ve hayvanın genel durumunda bir bozukluk farkedilmez, fakat zamanla sütün yapısındaki değişiklikler meydana gelir. Sütün salgısı azalır, sulu bir görünüm alır. Sonunda meme sertleşir, körleşir ve süt salgısı tamamen durur. *S.aureus* mastitislerinin klinik seyri Şekil-2'de gösterilmiştir (12,77,79).



**Şekil-2.** *S.aureus* mastitislerinin klinik seyri (77).

Stafilokok mastitislerini antibiyotiklerle tedavi etmek oldukça zordur. Gelişen fibröz doku nedeniyle antibiyotikler, meme içinde iyi dağılamamakta ve skar dokusundan dolayı ise etken ilacın etkisinden kurtulmaktadır. Ayrıca gelişen bariyer nedeniyle doğal antikorlar ve kan enfekte bölgeye iyi sirküle olamazlar. Sonuçta enfekte memeler, uzun süre etkeni yayan kaynak olup, böyle ineklerin kesime gönderilmesi daha uygun bir seçenek olarak önerilmektedir (4,19).

Sonuç olarak, K-negatif stafilokokların da mastitis patogenezinde rol oynayabilecekleri ve hayvanların insanlar için potansiyel patojen stafilokok suşlarını taşıdıkları kanısına varılmıştır (96).

### **2.3.2. Mastitislerin Tanısı**

Mastitislerin tanısı yönünden, klinik olgularda meme ve sütteki, nitel ve nicel değişiklikleri gösteren semptomlar belirgindir. Subklinik seyreden olgularda ise sütteki nitel değişimleri ortaya koyabilecek bazı testlere başvurulmaktadır. Mastitislerin tanısında memelerin ve sütün klinik muayenesi, sütün kimyasal, fiziksel, sitolojik ve mikrobiyolojik araştırmaları ile sonuca gidilmektedir. Klinik ve subklinik mastitislerde mikrobiyolojik testler tanıyı koymak ve tedaviye yön vermek için uygulanmaktadır (4,12,67).

#### **2.3.2.1. Memelerin Klinik Muayenesi**

Muayeneden önce hayvanın yaşı, laktasyon dönemi, süt verimi, yetiştirme şekli, barındırma ve besleme koşulları öncelikle belirlenmeli ve sistemik genel muayene yapılmalıdır. Memelerin özel muayenesinde dış görünüşleri, meme bölümlerinin meme başlarının büyüklükleri birbirine kıyasla, memenin ve meme başının şekli, meme ve meme başı derisinin durumu ve lezyonları, meme başının gevşekliği, ödem gözden geçirilmelidir. Memelerden sütün çıkış şekline bakılmalı, meme başı kanalının fibrin, kan pıhtısı ve süt taşları ile tıkanıp tıkanmadığı araştırılmalıdır. Memelere arkadan bakılarak loplara simetrik olup olmadığı saptandıktan sonra arka memeler kaldırılarak ön memeler kıyaslanmalıdır (15, 19,77).

Memelerin palpasyonu için önce memelerin iyice boşaltılması gerekmekte, bu işlem yapılmadığı takdirde memedeki süt, bağdoku üremesinin tespitini engelleyebilmektedir. Sağımdan önce ve sonra eş meme bölümleri, elle yoklanarak büyüklükleri kıyaslanmalıdır. Meme başı sinus mukozasının kalınlaşmaları, doku üremeleri, daralmaları, gergin tutulan meme başı ve ductus papillaris'in baş ve işaret parmakları arasında yuvarlanmasıyla tespit edilebilmektedir. Şüpheli kalın durumlarda meme başından uygulanan metal bir sonda yardımı ile muayene tamamlanabilir. Meme loplara derinlemesine palpasyonu iki elle yapılır. Meme başının tabanından başlanarak memenin tabanına kadar bütün bölümler palpe edilir ve anormal oluşumlar varsa ortaya çıkartılır (4,12,19,77).

#### **2.3.2.2. Sütün Fiziksel Muayenesi**

Sütün fiziksel muayenesi strip cup testi ile yapılmaktadır. Bu amaçla memeden birkaç çekim süt siyah bir zemine sağılarak sütteki sulanma, pıhtı ve iplikçikler ortaya konulabilir. İlk birkaç çekimlik sütteki sulanma az önemlidir. Sütte ufak pıhtı parçacıkları memenin yangılı

olduğunu gösterir. Pıhtının ilk birkaç çekim sütte az miktarda da olsa önemli olduğu ve şiddetli yangıyı gösterdiği belirtilmektedir (20,67).

### **2.3.2.3. Klinik Mastitislerin Tanısı**

Klinik mastitislerde memelerde az veya çok derecede yangı belirtileri gözlenebilmektedir. Bunlar, ağrı, şişlik, hiperemi, sıcaklık artışı ve fonksiyon bozukluğudur. Sütteki azalmanın yanısıra, klinik değişimler yukarıda da açıklandığı şekilde, strip cup testi ile gözlenebilmektedir. Sütte çeşitli derecede renk değişiklikleri, kan, sulanma ve iplikçikler klinik mastitislere işaret etmektedir. Memedeki enfeksiyonun şiddeti ile sistemik belirtiler paralel seyir göstermektedir (4,19).

### **2.3.2.4. Subklinik Mastitislerin Tanısı**

Subklinik mastitislerde meme ve sütteki değişiklikler gözle izlenemez. Subklinik mastitisli sütlerde şekillenen değişiklikler; sütte somatik hücrelerin artması, memeye plazma proteinlerinin geçmesi, iyon kompozisyonundaki farklılaşma, lokal hücrelerin yıkımı nedeniyle hücre içi bileşiklerin süte geçmesi, meme bezlerinin sentez kapasitesinin azalması şeklinde sıralanabilir (4).

Meme bezinde subklinik yangı ve enfeksiyonun tanısında kullanılan testler;

a. Somatik Hücre Sayısının (SHS) belirlenmesi; enfekte olmayan meme loplalarının sütlerinde düşük sayıda (50.000-200.000/ml) somatik hücre (epitel, lökosit,makrofajlar) normal sayılırken (Tablo-3), mastitisli kabul edilen süt örneklerindeki somatik hücre sayısı, SHS>400.000 hücre/ml şeklinde olmaktadır. Enfeksiyona bağlı olarak ise polimorf nükleer lökositler (PMN) artmakta ve somatik hücreler direk veya indirek olarak belirlenebilmektedir. İndirek olarak hücresel DNA araştırılabilmektedir. Somatik hücrelerdeki DNA, alkali deterjanlarla reaksiyon vermekte ve viskoz bir jel oluşturmaktadır. Bu esasa göre çalışan California Mastitis Testi (CMT), White Side ve Wisconsin Mastitis (WMT) testleri kullanılmaktadır (4,20,80).

**Tablo-3.** Sağlıklı inek memelerinde hücre kompozisyonunun yüzdeleri (4).

| Sağlıklı inek memelerinde hücre kompozisyonunun yüzdeleri |     |          |          |        |
|---|-----|----------|----------|--------|
|   | PMN | Makrofaj | Lenfosit | Epitel |
| Süt   | %3  | %80      | %16      | %2     |
| Kolostrum   | %62 | %35      | -        | -      |
| Kuru dönem sek.   | %3  | %89      | %7       | %1     |

b. CMT; saha koşullarında veya laboratuvarında uygulanabilen bu test, yüksek oranda güvenilir sonuçlar vermektedir. Normal görünümdeki sütleri saha koşullarında kontrol etmek ve subklinik mastitisleri meydana çıkarmak için bu test sıkça kullanılmaktadır. Test, sütteki hücrelerin (epitel ve lökosit hücreleri) miktarına bağlı olarak hafif bir presipitasyondan yoğun bir jel şekillenmesine kadar değişik tepkiler göstermektedir. CMT'de, anyonik bir deterjan olan sodyum-lauril sülfat (%3), hücre zarlarını ve hücre çekirdeğini eritmekte, açığa çıkan DNA ve RNA'lar ise deterjan ile birleşerek hücre yoğunluğuna bağlı olarak bir jel oluşturmaktadır. Test eriyiği içine katılan Brom Creosol Purple (BCP) gibi indikatörlerle, sütün pH'sındaki değişimler de izlenebilmektedir (4,20,79,80,97).

**Tablo-4.** CMT pozitif buguların değerlendirilmesi (97).

| Derece | Yorumlama  | Değerlendirme<br>(Olası Hücre Sayısı)      |
|--------|--|--|
| +1     | Test küreği eğildiğinde kolay akan süt karışımı altında daha yavaş akan ince bir kat izlenir.                                | 400.000-1.500.000 hücre/ml,<br>%40-60 PMN  |
| +2     | Test küreği yatay düzlem içinde çevrildiğinde jelöz bir tabaka oluşur.   | 800.000-5.000.000 hücre/ml,<br>%60-70 PMN  |
| +3     | Test küreği çevrilirken yapışkan kütlelerin ortasında bir koni oluşur ve çevirme hareketleri durduğunda merkezde tepe kalır. | 5.000.000 hücre/ml'nin üzeri<br>%70-80 PMN |

c. Whiteside Testi; sütte lökosit artışını saptayan ve CMT'ye göre daha fazla örneği birarada inceleme olanağı veren bir yöntemdir. Testin uygulanmasında çok gözlü cam kaplar kullanılır. Her göze süt örneklerinden beşer damla ve üzerlerine %4'lük NaOH'den birer

damla konulur. Her örnek ayrı ayrı cam bagetle karıştırılır, oluşan pıhtıçıklar lökositlerin sayısı hakkında bilgi verir (67).

d. Wisconsin Mastitis Testi; ağızları yarı kapalı olan test tüplerine 2 ml süt ve eşit miktarda CMT ayırıcından konulur ve 30 saniye süre ile karıştırılır. Sonra tüpler tersine çevrilerek, sütün akışı kronometre ile ölçülür. Normal sütler 15 saniye içerisinde tamamen aktığı halde presipitasyona uğrayan sütlerde akış yavaşlar (67).

### 2.3.3. Stafilokok Mastitislerinin Tedavisi ve Korunma İlkeleri

$\beta$ -laktam antibiyotikler günümüzde en sık kullanılan antibiyotik türevlerinin başında gelmektedir. Ancak bu kadar yaygın kullanımın sonucu olarak  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı direnç de giderek arttı. Klinikte  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinden sorumlu mekanizmalar içinde en önemlisi, bakterilerin ürettiği  $\beta$ -laktamaz enzimleridir. Doğadaki pek çok bakteri  $\beta$ -laktamaz enzimi üretmektedir. Ancak bunlar arasında stafilokokal ve enterobakteriyal  $\beta$ -laktamazlar, klinikte önemli direnç sorunu oluşturduklarından en çok üzerinde durulan enzimlerdir. Ortaya çıkan direnç büyük miktarda ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu sorunun çözümü için  $\beta$ -laktam halkasının penisilinaza dayanıklı hale getirilmesi düşünüldü ve bu amaçla doğal penisilin molekülüne önce iki hidrosimetil grubu eklenerek metisilin geliştirildi. Penisilinaza dayanıklı penisilinlerin ilk temsilcisi olan metisilin ile stafilokok enfeksiyonlarına karşı başlangıçta başarılı sonuçlar alındı. Ancak çok geçmeden stafilokokların metisilinede dirençli olabilecekleri anlaşıldı (12,35,49,50).

Stafilokoklarda antimikrobiyal direnç üç mekanizmayla oluşur. Bunlar;

- a. Bakteride permeabilite azalması ile hücreye antibiyotik girişinin azalması,
- b. Antibiyotiğin moleküler hedefindeki değişiklikler,
- c. Antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu (33).

Penisilinlere direnç, penisilin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra stafilokoklarda penisilin direnci tespit edilmiş ve bu direnç hızla yayılmıştır. Stafilokoklarda antibiyotiklere direnç gelişmesinin temel nedeni, bu bakterilerin ilaçlara hızlı uyum göstermesini sağlayan genetik çok yönlülüktür. Stafilokoklarda penisiline direnç  $\beta$ -laktamazlara bağlı olup,  $\beta$ -laktam halkası parçalanarak etkisiz hale gelmektedir. Stafilokoklarda birbirlerine benzeyen aminoasit sekansları ve substrat özgüllüğü açısından farklı pek çok  $\beta$ -laktamaz bulunmaktadır (59,92).

Metisilin direnci, metisiline ve tüm  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı gelişen direncin temel nedeni kromozomal *mecA* geninin kodladığı PBP2a olarak adlandırılan yeni bir PBP (Penisilin Bağlayan Protein) olduğu belirtilmektedir. PBP'lerdeki bu değişiklik tüm  $\beta$ -laktamları çapraz dirençten sorumlu tutmaktadır. Molekül ağırlığı 78 kDa olan bu PBP'nin  $\beta$ -laktam antibiyotiklere afinitesi diğer PBP'lerden daha düşüktür. Bu nedenle metisiline dirençli bakteri,  $\beta$ -laktam antibiyotiklerle karşılaştığı zaman diğer tüm PBP'ler antibiyotik tarafından bloke edilir. PBP2a düşük afinite nedeniyle  $\beta$ -laktam antibiyotiği bağlamamakta ve tüm fonksiyonları üzerine alarak bakteri duvar sentezini devam ettirmektedir. Bu enzim metisiline dirençli K-pozitif ya da K-negatif tüm stafilokoklarda gösterilmiştir. Metisiline duyarlı olan stafilokoklarda PBP2a bulunmamaktadır. Metisiline dirençli stafilokoklar tüm  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere dirençli olmaktadır (38,91).

Stafilokoklarda  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin yanısıra, son zamanlarda aminoglikozid grubu antibiyotiklere de direnç gelişimi saptandı (49)

Türkiye'de ve dünyanın değişik ülkelerinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokoklarda antibiyotiklere karşı değişen oranlarda duyarlılık/dirençlilik oranları belirlenmiştir;

Alaçam ve ark. (5), Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı ile Mandacılık Araştırma Enstitüsü (Afyon)'ne ait 3-12 yaşlı İsviçre esmeri inek ve yerli mandalar üzerinde yıl içinde değişik mevsimlerde yürütülen çalışmalarda izole ettikleri stafilokoklara karşı özellikle metisilin, oksasilin, vankomisin ve amoksisilin-klavulonik asitin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kırşan ve ark. (61), *S.aureus*ların enrofloksasine yüksek oranda (%91.30) duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Aydın ve ark. (14), Kars yöresindeki 456 sağmal inekten 93 CMT pozitif süt örneğinden toplam 78 suş izole etmişlerdir. İzole edilen *S.aureus* suşunun, ampisiline %57.1, kanamisine %28.6, enrofloksasine %10.7, neomisine %7.5, penisiline %82.1, tetrasikline % 67.9, gentamisine % 25 oranında dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Şahin ve ark. (84), Kars ili merkez ve köylerinde izole edilen *S.aureus*'larda sırasıyla; penisiline %88.23, trimetoprim-sülfametoksazole %23.5, sefaperazona %29.4 oranında direnç belirlerken, ampisilin-sulbaktam, enrofloksasin ve danofloksasine yüksek duyarlılık tespit etmişlerdir.

Kırşan ve ark. (60), İstanbul çevresindeki özel çiftliklerde 33 adet Holstein ırkı inekten CMT pozitif olan 54 meme lobunun sublinik mastitis olduğunu, bakteriyolojik olarak muayene edilen 54 süt örneğinden 17 (%26.56)'sinde *S.aureus* izole edildiğini ve izole edilen

*S.aureus* suşlarının hepsinin ampisilin-sulbaktam kombinasyonuna duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Kuyucuoğlu ve ark. (66), Afyon bölgesinde bulunan değişik laktasyon dönemlerindeki 272 inekten, 126 inekte CMT pozitif tespit etmişler, CMT pozitif olan 126 inekten 164 adet süt örneği alarak mikrobiyolojik olarak incelemişler, örneklerden 62'sinde *S.aureus*, 22'sinde *S.epidermidis* izole ve tanımlanmışlardır. İzole edilen *S.aureus* suşlarının %62'sinin amoksisilin-klavulonik asite, %82.2'sinin ampisilin-sulbaktama, %70.9'unun enrofloksasine, %59.6'sının danofloksasine, %74.1'inin sefoperazona, %77.4'ünün streptomisine, %25'inin penisilin G'ye, %22.5'inin tetrasikline, %27.4'ünün eritromisine, %54.8'inin nistatine duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Ak (2), Trakya bölgesinde yaptığı bir çalışmada tüm *S.aureus* suşlarının penisiline dirençli olduklarını saptamış, ayrıca enrofloksasine %85.7 duyarlılık belirlemiştir.

Akan ve ark. (3), yaptıkları bir çalışmada 82 stafilkok suşunun %59.75'inin penisilin G'ye, %29.2'sinin amoksisiline, %3.65'inin amoksisilin-klavulonik asite, %8.53'ünün kloksasiline, %56.09'unun ampisiline, %13.4'ünün ampisilin-sulbaktama dirençli olduğunu bulmuşlardır. Kuyucuoğlu ve ark. (95), mastitisli ineklerden elde edilen 76 stafilkok suşunun koagülaz pozitif 71 suşunda %63.38 oranında  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptamışlar, 76 stafilkok suşunun antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi sonucu stafilkok suşlarının 34 (%44.74)'ünü amoksisiline, 4 (%5.27)'ünü ampisilin-sulbaktama, 48 (%63.16)'ini ampisiline, 56 (%73.69)'sını penisiline, 12 (%15.79)'sini kloksasiline ve 21 (%27.64)'ini sefaperazona dirençli bulmuşlardır. Uçan ve ark. (90), Konya bölgesinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen 81 koagülaz pozitif stafilkok suşunun 75 (%92.6)'ini *S.aureus*, 6 (%7.4)'sını *S.intermedius* olarak tanımlanmışlar, tüm suşlar dikkate alındığında en duyarlı olan antibiyotiğin danofloksasin (%100) olduğunu ve duyarlılıklarına göre ampisilin-sulbaktam ile metisilin (%98.8), oksasilin ve amoksisilin-klavulonik asit (%97.5), kloksasin (%96.3), amoksisilin (%22.2) ve penisilin G (%14.8) olduğunu belirlemiştir.

Dinç ve ark. (96), Ankara ili süt sığırı işletmelerinden laboratuvara gönderilen mastitis şüpheli 150 süt örneğinden cins düzeyinde bakteriyolojik tarama yapmışlar, örneklerin %44.6'sında stafilkok türü saptamışlar, izole edilen suşların %45.3'ünün eritromisine, %44'ünün amoksisiline, %44'ünün gentamisine, %42.6'sının oksitetrasikline, %42'sinin kanamisine, %32.6'sının ampisiline, %32'sinin trimetoprimine, %31.3'ünün penisilin G'ye duyarlı olduklarını bulmuşlardır. Younis ve ark. (104), mastitisli sütlerden izole ettikleri 400 *S.aureus* suşunda, tetrasikline (%52) ve penisiline yüksek direnç (%96.6) saptamışlardır.

*S.aureus*'dan ileri gelen mastitislerde tedavinin oldukça güç olduğu bildirilmektedir. *S.aureus* kökenli mastitis olgularında uygulanan tedavilerdeki başarısızlığa; antibiyotiklere

dirençli suşların varlığı, enfeksiyon bölgesinde yangısal hücrelerin birikmesi ve alveolar epitelyumun hiperplazisine bağlı gelişen yangısal doku bariyerinin antibiyotiğin etkisini kısıtlaması, stafilokokların polimorf nükleer lokositlerin içinde canlı kalmaları ve mikroapse oluşturmaları gibi bir çok faktörün neden olduğu açıklanmıştır (12,20,77,85).

Meme içi verilen ve in-vitro koşullarda etkili bir antibiyotik, sütte yeterli bir antibiyotik konsantrasyonu sağlarken, *S.aureus*'un bulunduğu derin meme paranziminde yeterli konsantrasyon sağlayamamaktadır. Bu nedenle stafilokok mastitlerinde, antibiyogram testlerle etken duyarlılığı saptanan ve meme dokusunda iyi dağılan antibiyotikler, meme içi ve paranteral olarak birlikte uygulanmalıdır. *S.aureus* ile enfekte inekler sürüden ayrılmalı, tedaviden sonra iyileşme oluncaya kadar ayrı tutulmalıdır. Ayrıca, kronik enfekte inekler sürüden çıkarılmalıdır. Hayvanlar uygun ve hijyenik olarak sağılmalı ve meme sağlığı kontrol programları periyodik olarak izlenmelidir (4,12,20,77,81).

Bu çalışma ile Sarıkamış ilçesinde, klinik ve subklinik mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokokların tiplendirilmesi yanında suşların  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri ve mastitis tedavisinde kullanılan antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmış, bölge hayvancılığına ve ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmüştür.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada; Kars iline bağlı Sarıkamış ilçesinde Çamyazı ve Alisofu köylerindeki 86 ahırda toplam 256 sağmal inek mastitis yönünden araştırılmış ve mastitisli olduğu belirlenen 61 hayvandan alınan toplam 79 süt örneği incelenmiştir. Alınan 79 süt örneğinin 72 (%91.1)'si subklinik ve 7 (%8.9)'si klinik mastitisli meme loblarına aitti. Alınan süt örneklerinde stafilokok varlığı,  $\beta$ -laktamaz aktivitesi ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları araştırıldı.

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1.Besiyerleri

##### **Kanlı Agar Besiyeri (Oxoid, CM331)**

Klinik ve subklinik mastitis şüpheli süt numunelerinden stafilokokların ilk izolasyonu amacıyla % 5'lik koyun kanı ilave edilmiş kanlı agar kullanıldı. Bu besiyeri şu şekilde hazırlandı:

|                 |          |
|-----------------|----------|
| Blood-Agar Base | 40 gr.   |
| Distile su      | 1000 ml. |

Bu karışım, tartımları yapıldıktan sonra cam malzemelerden erlenmayer içerisinde ısıtılarak eritilip, pH 7.2'ye ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Sterilizasyon sonrası 45-50°C'ye kadar soğutulurken besiyerine defibrine koyun kanı (%5) eklendi. Besiyeri daha sonra steril petrilere döküldü (26).

##### **Baird-Parker Agar (Oxoid, CM275)**

Seçici bir besiyeri olan Baird-Parker Agar'ın hazırlanışı; Baird-Parker Agar (CM275) besiyerinden 63 gr.tartıldı, 1 lt.damıtık su içinde ısıtılarak çözdürüldü. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası 50°C'ye soğutulan besiyerine, oda sıcaklığına getirilmiş olan Egg Yolk Emulsion (SR 54)'dan 50 ml.eklendi. Besiyeri daha sonra steril petrilere döküldü (72).

Bu besiyeri, *S.aureus* izolasyonu ve sayımı için seçici bir besiyeridir. Formülü Baird-Parker tarafından geliştirilen besiyerine, hasar görmüş hücreleri korumak ve üremesine yardımcı olmak amacıyla sodyum piruvat, tanı amaçlı madde olarak yumurta sarısı emülsiyonu, örnekte mevcut diğer bakterilerin gelişmelerini önlemek için de tellürit ve lityum eklenmiştir. Besiyeri, eklenen yumurta sarısı emülsiyonu nedeniyle sarı renkte ve opak görünümündedir. *S.aureus* telluritin telluriuma indirgenmesi nedeniyle gri-siyah renkte, yumurta sarısındaki lesitinaz reaksiyonu nedeniyle de etrafında şeffaf zon bulunan koloniler oluşturur (72).

### **Eosin Metilen Blue (EMB) Agar (Oxoid, CM69)**

Bu besiyeri, stafilokok dışında mastitis nedeni olan Gram negatif bakterilerin izolasyonu amacıyla kullanıldı.

Besiyerinin hazırlanışı: EMB agar (37.5 gr) distile suda (1000 ml) eritilerek pH 6.8'e ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Besiyeri daha sonra steril petrilere döküldü (72).

### **Mueller-Hinton Agar (Merck,1.05437)**

Bu besiyeri, stafilokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

Besiyerinin hazırlanışı: Mueller-Hinton agar (36 gr) distile suda (1000 ml) eritilerek pH 7.4'e ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Besiyeri daha sonra steril petrilere döküldü (26).

### **Mueller-Hinton Broth (Oxoid, CM405)**

Mueller-Hinton Broth, antibiyogram testinde gerekli olan bir sıvı besiyeri olup bakteri süspansiyonlarının hazırlanması amacıyla kullanıldı (26).

Besiyerinin hazırlanışı: Mueller-Hinton broth (21 gr) distile suda (1000 ml) eritilerek pH 7.4'e ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Daha sonra steril cam tüplere 5'er ml olacak şekilde konuldu (26).

### 3.1.2. Ticari Test Kitleri, Ayıraçlar ve Biyokimyasal Test Malzemeleri

$\beta$ -laktamaz identifikasyon test stikleri (Nitrocefin-Oxoid BR66A); Stafilokokların  $\beta$ -laktamaz aktivitelerini araştırmak için kullanıldı (40).

Staphylase Test (Oxoid DR595); *S.aureus* suşlarının tavşan plazması olmaksızın lateks aglütinasyon prensibiyle koagölaz enzimi üretip üretmediğinin saptanması amacıyla kullanıldı (72).

Hidrojen peroksit (%3); katalaz testinde kullanıldı.

CMT (California Mastitis Testi) test ayıracı; ayıracın hazırlanmasında Brom Creosol Purple (BCP) ve anyonik deterjandan faydalanıldı. Bu amaçla, 100 ml anyonik deterjan ve 50 ml 1/300'lük BCP beher içerisinde karıştırıldı ve 900 ml distile su ilave edilerek ayıraç hazırlandı (67).

Gram boyama seti

### 3.1.3. Antibiyotik Diskleri

Stafilokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarını tespit etmek amacıyla, Oxoid firmasından sağlanan; penisilin (10U), amoksisilin (25 $\mu$ g), amoksisilin-klavulonik asit (20 $\mu$ g/10 $\mu$ g), kloksasilin (1 $\mu$ g), enrofloksasin (5 $\mu$ g) ve vankomisin (30 $\mu$ g) diskleri kullanıldı.

Ayrıca stafilokokların mikrokoklardan ayırt edilmesi amacıyla basitrasin diskleri (0.04U) kullanıldı.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1.Klinik Muayene

#### 3.2.1.1.Klinik Mastitislerin Belirlenmesi

Memelerin özel muayenesinde; dış görünümleri, meme başlarının büyüklükleri, memenin ve meme başının şekli, meme ve meme başı derisinin durumu, meme başının gevşekliğı ve ödemin varlığı gözden geçirildi. Memelerden sütün çıkış şekline bakılarak, meme başı kanalının fibrin, kan pıhtısı ve süt taşları ile tıkanıp tıkanmadığı araştırıldı. Sütün

fiziksel muayenesinde Strip Cup Testi uygulandı. Bu amaçla siyah renkli plastik bir kap üzerine hayvandan alınan 5-10 ml süt, renk değişikliği, kan, kıvam ve pıhtı bakımından incelendi ve sonucun pozitif olması ile klinik mastitis hakkında bilgi edinildi (15,19,67).

### **3.2.1.2.Subklinik Mastitislerin Belirlenmesi**

Bu amaçla California Mastitis Testi (CMT) yapıldı. Uygulama için özel CMT test küreğinin dört bölümüne ayrı olarak, her memeden birkaç çekim (2-3 ml) süt alındı. Kürek yere doğru hafif meyilli tutularak fazlası akıtılıp bölümlerdeki sütler eşitlendi. Üzerine eşit miktarda CMT test ayıracı eklenerek, 15-20 sn. hafif dairesel hareketlerle karıştırılırken sonuç okundu. Çevirme hareketleri sırasında test küreği hafifçe eğildiğinde kolayca akan tabakanın altından daha yavaş akan yapışkan bir tabaka görülmediğinde reaksiyon negatif kabul edildi. Yavaş akan ince tabaka kolay akan süt karışımı altında görüldüğünde reaksiyon +1, yapışkan tabaka kürek yatay düzlem içinde çevrilirken görüldüğünde reaksiyon +2, kürek döndürülürken yapışkan kütlelerin ortasında bir koni oluştuğunda ve döndürme hareketleri kesildiğinde merkezdeki tabaka kalınca reaksiyon +3 olarak kabul edildi (80,97).

### **3.2.2.Kültür İçin Süt Örneklerinin Toplanması**

Klinik muayene, Strip Cup ve CMT testleri sonucunda klinik veya subklinik mastitis olduğu düşünülen hayvanların hasta meme loplardan süt örnekleri alındı. Meme ve meme başları %70'lik alkol ile dezenfekte edildikten sonra steril kapaklı plastik tüplere 15-20 ml miktarda alınan sütler, kısa sürede laboratuvara getirildi. Süt örnekleri alınmadan önce hayvana ait bilgiler (hayvanın ırkı, laktasyon sayısı, mastitisin klinik şekli, ahır hijyeni ve sağımın ne şekilde yapıldığı, en son ne zaman antibiyotik uygulandığı) anket formuna kaydedildi (15,19).

### **3.2.3. İzolasyon, İdentifikasyon ve Patojenite Testleri**

#### **3.2.3.1. Kültür**

Bu işlem, süt örneklerinde hem mikroorganizma olup olmadığını hem de mikroorganizma varsa bunun sayısını belirleyecek şekilde yapıldı. Her süt örneği kanlı agar, Baird-Parker Agar ve EMB besiyerlerine 0,1 ml miktarda yayma plak yöntemi ile ekildi. Besiyerleri aerop ortamda ve 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kanlı agarda  $10^3$  kob/ml üreme saptanan örnekler ile Baird Parker agarda tipik etrafı berrak zonlu siyah renkli koloni oluşturan kültürler ve EMB agarda metalik yansıma veren kültürler

değerlendirilmeye alındı. Hiç üreme olmayan, belirtilen sayıdan az üreme olan örnekler kültür negatif olarak değerlendirildi. Kanlı agar, Baird-Parker Agar ve EMB besiyerlerinde üreyen mikroorganizmalar koloni yapısı, Gram boyama, mikroskopik görünüm ve biyokimyasal özellikler (IMVIC, katalaz) yönünden incelenerek tanımlandı (17,26,77).

### **3.2.3.2. *E.coli* İzolasyonu**

EMB petrilerinden 5 koloni alındı. Alınan koloniler koliform özellik gösteren 2-3 mm büyüklüğünde metalik yansıma veren koloniler arasından seçildi. Alınan bu tipik kolonilere IMVIC testi uygulandı. IMVIC testi sonucu Indol pozitif, Methyl-Red pozitif, Voges-Proskauer negatif ve Sitrat negatif olan koloniler *E.coli* olarak tespit edildi.

### **3.2.3.3. Streptokokların İzolasyonu**

Kanlı agarda 1 mm çapında, şeffaf, parlak, hemolitik ve nonhemolitik streptokoklar yönünden şüpheli görülen 5 koloni alındı. Alınan kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram boyama sonucu zincir şeklinde Gram pozitif görülen kolonilere katalaz testi uygulandı. Katalaz testi sonucu negatif olan koloniler streptokok olarak izole edildi.

### **3.2.3.4. Stafilokokların İzolasyonu**

Kanlı agarda 2-6 mm çapında, yuvarlak, düzgün, S tipi kolonilerden 5 koloni alındı. Gram boyama yapıldı. Gram boyama sonucu kümeler şeklinde Gram pozitif görülen kolonilerin katalaz testi ile streptokoklardan, Mueller Hinton agarda basitrasine duyarlılık deneyi ile mikrokoklardan ayrımı yapıldı. Baird Parker agarda tipik etrafı berrak zonlu siyah renkli kolonilere uygulanan koagülaz testi ile de stafilokokların identifikasyonu yapıldı.

#### **3.2.3.4.1. Katalaz Deneyi**

Stafilokokları, streptokoklardan ayırt etmede kullanılan bu deney, kanlı agar besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinden steril plastik çubuk ile lam üzerine alınıp, üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak yapıldı. Gaz kabarcıklarının oluşması pozitif olarak değerlendirildi ve izole edilen Gram pozitif koklar bu deney ile streptokoklardan ayırt edildi (26).

#### 3.2.3.4.2. Basitrasin'e Duyarlılık Deneyi

İzole edilen Gram pozitif kokların basitrasin duyarlılık deneyi ile mikrokoklardan ayırımı yapıldı. Stafilokoklar 0.04U basitrasin içeren disklerle dirençli oldukları halde mikrokoklar duyarlıdır (26).

Deneyin yapılışı; Stafilokok-mikrokok ayırımı yapılacak olan bakteri kültürlerinden birkaç koloni alındı ve Mueller Hinton Broth içeren tüplere ekildi. Tüpler, 5-6 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra inokulumdaki bakteri yoğunluğu 0.5 nolu McFarland bulanıklığına ayarlandı. Bulanıklığı ayarlanan kültür süspansiyonlarından steril svaplar yardımı ile Mueller Hinton agar besiyerine yayma ekim yapıldı. 0.04U basitrasin içeren diskler petri plaklarına steril pens yardımı ile yerleştirildi. Besiyerlerinin 37°C'lik etüvde 18-24 saat inkübasyonundan sonra basitrasine dirençli olan suşlar stafilokok olarak değerlendirildi (26).

#### 3.2.3.4.3. Koagülaz Deneyi

Patojen stafilokokların diğer stafilokoklardan ayırt edilmesinde kullanılan bu testte Staphylase Test (Oxoid DR595) ticari test kiti kullanıldı. Bu deneyde, Baird Parker agardan izole edilen kültürlerle koagülaz testi uygulanarak doğrulama yapıldı. Bu işlem için; lateks reaktifleri oda sıcaklığına getirilip, kuvvetlice karıştırılarak (vortekste) homojenizasyon sağlandı. Test reaktifi kart üzerindeki test halkalarından birine 1 damla damlatıldı. Steril bir öze ile petriden 5 şüpheli koloni alındı. Koloniler test halkasına yayılarak test reaktifi ile iyice karıştırıldı. Kart 20 sn. dairesel olarak hareket ettirilerek normal ışık altında aglütinasyon olup olmadığı gözlemlendi. Sonuç pozitif ise test 1. adımdan 5. adıma kadar kontrol reaktifi ile tekrar edildi. İncelenen kolonilerde lateks test reaktifi ile aglütinasyon oluştuğunun gözlenmesi, kontrol reaktifi ile aglütinasyon gözlenmemesi ile izole edilmiş olan *S.aureus*'un koagülaz pozitif suş olduğu doğrulanmış oldu (72).

#### 3.2.3.5. $\beta$ -Laktamaz Varlığının Belirlenmesi

Suşların  $\beta$ -laktamaz üretiminin belirlenmesinde  $\beta$ -laktamaz (nitrocefim) identifikasyon stikleri (Oxoid BR 66A) kullanıldı. Stiklere Mueller Hinton agarda üreyen kolonilerden sürme yapıldı ve stikler nemli ortamda 24 saat süreyle inkübe edildi. Sonuçlar 5.,15.dak. ve 24 saat sonunda stiklerde oluşan renk değişimine göre değerlendirildi. Koyu-pembe kırmızı renk oluşumu  $\beta$ -laktamaz pozitif ve 24 saatin sonunda rengin değişmemesi ise  $\beta$ -laktamaz negatif olarak değerlendirildi (51,89).

### 3.2.3.6. Antibiyogram Duyarlılık Testi

İzole ve identifiye edilen stafilokok suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla, duyarlılığı belirlenecek olan bakteri kültüründen birkaç koloni alındı ve Mueller Hinton Broth içeren tüplere ekildi. Tüpler, 5-6 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra inokulumdaki bakteri yoğunluğu 0.5 nolu McFarland bulanıklığına ayarlandı. Bulanıklığı ayarlanan kültür süspansiyonlarından steril svaplar yardımı ile Mueller Hinton agar besiyerine yayma ekim yapıldı. Daha sonra antibiyotik içeren diskler birbirine 3-4 cm, petri kenarına 1 cm uzaklıkta olacak şekilde petri plaklarına steril pens yardımı ile yerleştirildi ve besiyeri ile teması sağlandı. Besiyerlerinin 37°C'lik etüvde 18-24 saat inkübasyonu sonunda disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçülerek, suşların antibiyotik duyarlılıkları/ dirençlilikleri belirlendi (28,69).

**Tablo-5.** Kullanılan antibiyotik disklerinin inhibisyon zon çaplarının değerlendirilmesi (28,69).

| Antibiyotik Adı             | İnhibisyon Zon Çapları/mm |              |         |
|-----------------------------|---------------------------|--------------|---------|
|                             | Dirençli                  | Orta Duyarlı | Duyarlı |
| Penisilin                   | ≤20                       | 21-28        | ≥29     |
| Amoksisilin                 | ≤13                       | 14-20        | ≥21     |
| Amoksisilin-Klavulonik asit | ≤13                       | 14-20        | ≥21     |
| Kloksasilin                 | ≤13                       | 13-14        | ≥15     |
| Enrofloksasin               | ≤17                       | 17-21        | ≥22     |
| Vankomisin                  | ≤9                        | 10-11        | ≤12     |

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada, klinik ve subklinik mastitisler yönünden taranan 256 sağmal ineğin 57 (%22.3)'ünde subklinik, 4 (%1.5)'ünde klinik olmak üzere toplam 61 (%23.8) inekte mastitis belirlendi. CMT pozitif olduğu belirlenen 61 inekten alınan 79 süt örneğinin, 72 (%91.1)'si subklinik ve 7 (%8.9)'si klinik mastitisli meme loblarına aitti. Süt örneklerinin 51 (%64.6)'i bir meme lobundan, 8 (%10.1)'i aynı hayvanın iki meme lobundan, 12 (%15.2)'si üç meme lobundan ve 8 (%10.1)'i dört meme lobundan alındı (Tablo-6).

**Tablo-6.** Mastitisli ineklerden alınan süt örneği ile hastalıklı meme lobu sayıları.

| Hasta meme lobu sayısı | Subklinik mastitis |                          | Klinik mastitis |                          |
|------------------------|--------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
|                        | İnek sayısı        | Alınan süt örneği sayısı | İnek sayısı     | Alınan süt örneği sayısı |
| 4                      | 2                  | 8                        | -               | -                        |
| 3                      | 3                  | 9                        | 1               | 3                        |
| 2                      | 3                  | 6                        | 1               | 2                        |
| 1                      | 49                 | 49                       | 2               | 2                        |
| <b>Toplam</b>          | <b>57</b>          | <b>72</b>                | <b>4</b>        | <b>7</b>                 |

Mastitisli olduğu belirlenen 61 hayvanın; 5 (%8.2)'inin 1. laktasyonda, 4 (%6.6)'ünün 2. laktasyonda, 8 (%13.1)'inin 3. laktasyonda, 11 (%18)'inin 4. laktasyonda, 15 (%24.6)'inin 5. laktasyonda ve 18 (%29.5)'inin 6. laktasyonda olduğu belirlendi. Hayvanların kötü hijyenik şartlarda barındırıldıkları ve hayvanların hepsinin sağımının elle yapıldığı, ayrıca hayvanlarda antibiyotik kullanılmadığı tespit edildi.

**Tablo-7.** Subklinik ve klinik mastitis bulguları.

|                    | İnek Sayısı | Hasta İnek x Meme Sayısı | İzolasyon Yapılan Örnek Sayısı | İzole Edilen Mikroorganizmalar |           |            |               |
|--------------------|-------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------|------------|---------------|
|                    |             |                          |                                | <i>S.aureus</i>                | KNS       | Streptokok | <i>E.coli</i> |
| Subklinik Mastitis | 2           | 2x4                      | 6                              | 2                              | 1         | 1          | -             |
|                    | 3           | 3x3                      | 5                              | 2                              | 2         | 1          | -             |
|                    | 3           | 3x2                      | 4                              | 1                              | 1         | 1          | 1             |
|                    | 49          | 49x1                     | 46                             | 17                             | 14        | 7          | 1             |
| Klinik Mastitis    | 1           | 1x3                      | 3                              | -                              | -         | 1          | 1             |
|                    | 1           | 1x2                      | 1                              | -                              | 1         | -          | -             |
|                    | 2           | 2x1                      | 2                              | 1                              | -         | -          | 1             |
| <b>Toplam</b>      | <b>61</b>   | <b>79</b>                | <b>67</b>                      | <b>23</b>                      | <b>19</b> | <b>11</b>  | <b>4</b>      |



Çalışmada, 79 mastitisli inek sütünün mikrobiyolojik incelenmesinde 67 (%84.9) örnekten bakteriyel etken izole edilirken, 12 (% 15.2) örnekten herhangi bir bakteriyel etken izolasyonu yapılamadı. Mastitisli sütlerin 47'sinde stafilokok ve mikrokok, 11'inde streptokoklar ve 4'ünde enterobakterler izole edildi. İzole edilen 47 stafilokok ve mikrokokun 42'sinin basitrasine dirençli, 5'inin basitrasine duyarlı olduğu tespit edildi. Stafilokokların izole edildiği 42 süt örneğinin; 23'ünde *S.aureus*, 19'unda KNS identifiye edildi.

Mastitisli süt örneklerinden izole ve identifiye edilen mikroorganizmaların sıklık sırasına göre dağılımları Tablo-8'de görülmektedir.

**Tablo-8.** Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların sayısı ve dağılımı.

| İzole edilen mikroorganizma türü | Sayı | %    |
|----------------------------------|------|------|
| <i>S.aureus</i>                  | 23   | 34.3 |
| K-negatif stafilokok             | 19   | 28.3 |
| <i>Streptococcus spp.</i>        | 11   | 16.4 |
| <i>E. coli</i>                   | 4    | 5.9  |

İzole edilen stafilokoklar koagülaz testi ile *S.aureus* ve KNS şeklinde iki gruba ayrıldı. EMB agarda laktoz pozitif ve metalik refle veren koloniler IMVIC testleri ile *E.coli* olarak tanımlandı.

**Tablo-9.** İzole ve identifiye edilen *S.aureus* ve KNS suşlarının  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri ve biyokimyasal test sonuçları

| Stafilokok Suşları |    | Katalaz Pozitif (%) | $\beta$ -laktamaz Pozitif (%) | Koagülaz Pozitif (%) |
|--------------------|----|---------------------|-------------------------------|----------------------|
| <i>S.aureus</i>    | 23 | 23 (100)            | 14 (33.3)                     | 23 (100)             |
| KNS                | 19 | 19 (100)            | 4 (9.5)                       | -                    |

Katalaz ve Koagülaz testi; izole edilen kokların tamamının katalaz pozitif olduğu, streptokok suşlarının ise katalaz negatif olduğu saptandı. Koagülaz; Staphylase Test (Oxoid DR595) kullanılarak yapılan koagülaz testinde izole edilen 42 stafilokok suşunun 23'ünün

K-pozitif, 19'unun K-negatif olduğu tespit edildi.  $\beta$ -laktamaz aktivitesi, 23 *S.aureus* (%34.3) ve 19 KNS (%28.3) olmak üzere toplam 42 stafilokok suşunun 18 (%42.8)'inde  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptanırken, 24 (%57.2)'ünde  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptanamamıştır (Tablo-9).

**Tablo-10.** İzole edilen *S.aureus* ve K-negatif stafilokokların antibiyotik duyarlılık sonuçları.

| Antibiyotik                 | <i>S.aureus</i><br>n :23 |      |    |      | Koagülaz Negatif<br>Stafilokok<br>n :19 |      |    |      | Toplam<br>n :42 |      |    |      |
|-----------------------------|--------------------------|------|----|------|---|------|----|------|-----------------|------|----|------|
|                             | R                        |      | S  |      | R                                       |      | S  |      | R               |      | S  |      |
|                             | n                        | %    | n  | %    | n                                       | %    | n  | %    | n               | %    | n  | %    |
| Penisilin                   | 16                       | 69.6 | 7  | 30.4 | 9                                       | 47.4 | 10 | 52.6 | 25              | 59.5 | 17 | 40.5 |
| Amoksisilin                 | 10                       | 43.5 | 13 | 56.5 | 6                                       | 31.6 | 13 | 68.4 | 16              | 38.1 | 26 | 61.9 |
| Amoksisilin-klavulonik asit | 2                        | 8.7  | 21 | 91.3 | 1                                       | 5.3  | 18 | 94.7 | 3               | 7.1  | 39 | 92.9 |
| Kloksasilin                 | 1                        | 4.3  | 22 | 95.7 | 1                                       | 5.3  | 18 | 94.7 | 2               | 4.8  | 40 | 95.2 |
| Enrofloksasin               | 3                        | 13   | 20 | 87   | 2                                       | 10.5 | 17 | 89.5 | 5               | 11.9 | 37 | 88.1 |
| Vankomisin                  | -                        | -    | 23 | 100  | -                                       | -    | 19 | 100  | -               | -    | 42 | 100  |

**R:** Dirençli, **S:** Duyarlı, **n:** Suş Sayısı

Antibiyotik duyarlılık deney sonuçları;  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerle yapılan deneylerde 42 stafilokok suşunun 25 (%59.5)'inin penisiline, 16 (%38.1)'sının amoksisiline, 3 (%7.1)'ünün amoksisilin-klavulonik asite, 2 (%4.8)'sinin kloksasiline dirençli olduğu, diğer antibiyotik grupları ile yapılan deneylerde suşların 5 (%11.9)'inin enrofloksasine dirençli ve ayrıca suşlarının tamamının vankomisine duyarlı olduğu bulundu (Tablo-10).

**Tablo-11.** İncelenen suşların  $\beta$ -laktamaz özelliklerine göre antibiyotik dirençlilikleri.

| Özellik                          | Penisilin   | Amoksisilin | Amoksisilin-klavulonik asit | Kloksasilin | Enrofloksasin | Vankomisin |
|----------------------------------|-------------|-------------|-----------------------------|-------------|---------------|------------|
| $\beta$ -laktamaz Pozitif (n:18) | 15          | 11          | 2                           | 1           | 4             | -          |
| $\beta$ -laktamaz Negatif (n:24) | 10          | 5           | 1                           | 1           | 1             | -          |
| Toplam (n:42)                    | 25<br>%59.5 | 16<br>%38.1 | 3<br>%7.1                   | 2<br>%4.8   | 5<br>%11.9    | -          |

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Süt ineği yetiştiriciliğinin temel sorunlarından olan mastitis, meydana getirdiği süt verimi düşüklüğü, hasta ineklerin elden çıkarılması, sütün satış değerindeki azalma, ilaç ve tedavi giderleri ile sütün kalitesindeki değer kaybı gibi nedenlerle önemli ekonomik kayıplara yol açan bir hastalıktır. Bu bağlamda, hastalığa neden olan etkenleri belirlemek ve duyarlı oldukları antibiyotikleri saptamak büyük önem taşımaktadır.

Sarıkamış ilçesinde gerçekleştirilen bu çalışmada, klinik ve subklinik mastitis yönünden taranan 256 sağmal ineğin 61 (%23.8)'inde mastitis saptanmıştır. Hayvanların klinik muayenesi ve şüpheli memelerden alınan süt örneklerine uygulanan CMT testi sonucunda ineklerde subklinik mastitis oranı %22.3, klinik mastitis oranı ise %1.5 olarak saptanmıştır. Türkiye'nin farklı bölgelerinde ineklerde mastitis oranını belirlemeye yönelik olarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde farklı sonuçların alındığı görülmektedir (2,14,52,66,84,96,97,102).

Bir çok mikroorganizmanın mastitise yol açabildiği bilinmekle birlikte, mastitisli süt ve meme dokusundan büyük bir çoğunlukla *S.aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.* gibi Gram pozitif kokların izole edildiği bildirilmektedir. Türkiye'nin değişik yörelerinde ve diğer ülkelerde mastitise neden olan mikroorganizmalarla ilgili pek çok çalışma yapılmış, stafilokokların mastitislerden en çok izole edilen etken olduğu tespit edilmiştir (7,14,24,63, 70,84,93,96).

**Tablo-12.** Türkiye'de subklinik mastitisli ineklerden izole edilen stafilokokların oranları.

| <b>Etken</b>         | Alaçam<br>ve ark.<br>(5) | Aydın<br>ve ark.<br>(14) | Şahin<br>ve ark.<br>(84) | Gürtürk<br>ve ark.<br>(52) | Kuyucuoğ<br>lu ve ark.<br>(66) | Ak<br>(2) | Yıldız<br>(102) |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------|-----------------|
| <i>S.aureus</i>      | %9,52                    | %35.89                   | %29.82                   | %25.39                     | %37.8                          | %13.3     | %39.4           |
| <i>S.epidermidis</i> | -                        | %19.23                   | %17.54                   | %2.73                      | %13.4                          | -         | %7.4            |
| <i>S.intermedius</i> | -                        | -                        | -                        | %3.12                      | -                              | -         | -               |

Alaçam ve ark. (5), Afyon'da CMT pozitif olan meme loblarından aldıkları süt örneklerinde ineklerin %26.19'unda stafilokok izole etmişlerdir. Aydın ve ark. (14), Kars yöresinde klinik ve subklinik mastitisli ineklerden alınan 93 süt örneğinde etken olarak, 28 (%35.89) *S.aureus* ve 15 (%19.23) *S.epidermidis* izole etmişlerdir. Şahin ve ark. (84), Kars ili merkez köylerinde 304 ineğin mastitis taramasında *S.aureus*'un izolasyon oranını %29.82,

*S.epidermidis*'in ise %17.54 olduğunu tespit etmişlerdir. Gürtürk ve ark. (52), Van ve yöresinde yaptıkları bir çalışmada çeşitli işletmelerde yetiştirilen 650 inekten alınan 2550 süt numunesinde 105 (%41) stafilokok türü izole edilmiştir. Aynı çalışmada, izole edilen stafilokoklardan 65 (%25.39)'i *S.aureus*, 9 (%3.5)'u *S.haemolyticus*, 8 (%3.12)'i *S.intermedius*, 8 (%3.12)'i *S.warneri*, 8 (%3.12)'i *S.saprohyticus* ve 7 (%2.73)'si ise *S.epidermidis* olarak tiplendirilmiştir. Kuyucuoğlu ve ark. (66), Afyon yöresinde CMT pozitif bulunan 126 inekten 164 süt örneği almışlar, örneklerin %37.8'inde *S.aureus*, %13.4'ünde *S.epidermidis* identifiye etmişlerdir.

Ak (2), Trakya yöresinde CMT pozitif olarak belirlediği 77 süt örneğinden 105 etken izole etmiş, bu etkenlerden %13.3'ünün *S.aureus* olduğunu bildirmiştir. . Kireççi ve ark. (63), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi çiftliğinde bulunan Holstein ve Montofon ırkı ineklerin CMT ile muayenesinde, CMT pozitif bulunan 140 süt örneğinden %51.2 oranında stafilokok türü izole etmişlerdir. Yıldız (102), Elazığ ili ve çevresinde süt işletmeciliği yapılan işletmelerden CMT pozitif 109 subklinik meme lobundan yaptığı bakteriyolojik muayene sonucunda %39.45 oranında *S.aureus*, %7.4 oranında *S.epidermidis* identifiye etmiştir. Rişvanlı ve ark. (95), yaptıkları bir çalışmada 1249 inekte stafilokokkal mastitislerin dağılımını incelemişler, hayvanlardaki stafilokokkal mastitislerin oranını %48.28 olarak bildirmişlerdir.

Uçan ve ark. (90), Konya bölgesinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen 81 K-pozitif stafilokok suşunun %92.6'sını *S.aureus*, %7.4'ünü *S.intermedius* olarak identifiye etmişlerdir. Dinç ve ark. (96), Ankara ilinde bulunan süt sığırcı işletmelerinden aldıkları mastitis şüpheli sütlerden %44.6 oranında stafilokok türü izole etmişlerdir. İstanbulluoğlu ve ark. (96), İstanbul'da yaptıkları bir çalışmada, *S.aureus*'u %47.9 oranında izole etmişlerdir. Savaşan ve ark. (96), Aydın ili ve çevresinde mastitisli inek sütlerinden %44.04 oranında *S.aureus* identifiye etmişlerdir.

Yurt dışında yapılan çalışmalarda; mastitisli inek sütlerinden izole edilen *S.aureus* oranları; Brezilya'da %7.6, İran'da %61.2, Slovakya'da %22.2 olarak tespit edilmiş, Nijerya'da yapılan bir çalışmada KNS'lerin oranı %15.4 olarak tespit edilmiştir (7,24,70,93).

Mastitislerden yüksek oranlarda stafilokok suşlarının izole edilmesinin, hayvanların barındırıldıkları ahır şartlarının kötü olması, sağım hijyenine uyulmaması, yetiştirildikleri bölgelerin coğrafi şartları, yetiştiricilerin mastitis hakkında bilinçli olmaması ve mastitis kontrol programlarının uygulanmaması gibi nedenlerden kaynaklandığı değişik araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (2,66,84).

Yapılan bu çalışmada, mastitisli meme loblarından alınan 79 inek sütünün mikrobiyolojik incelenmesi sonucu, örneklerin %34.3'ünde *S.aureus*, %28.3'sinde KNS olmak üzere toplam olarak %62.6 oranı ile en fazla stafilocoklar izole edilmiştir. Bu sonuçlar, dünyanın diğer ülkeleri ile Türkiye'de bulunan oranlara benzerlik göstermektedir. Özellikle literatür bilgilerinde belirtildiği gibi, izole ettiğimiz 3 bakteri grubu arasında da mastitis nedeni olarak stafilocokların en sık görülen bakteri olduğu görüşü çalışmamızda elde edilen bulgularla uyum içerisindedir.

Çalışmada, 79 mastitisli inek sütünün mikrobiyolojik incelenmesinde; örneklerin 67 (%84.8)'sinde etken izole edilirken, 12 (%15.2)'sinde herhangi bir etken izolasyonu yapılamadı. Stafilocokların izolasyon ve identifikasyonunun yapıldığı süt örneklerinin 23'ünde *S.aureus*, 19'unda KNS izole edildi. Toplam olarak mastitisli sütlerden 42 *Staphylococcus spp.* izole ve identifiye edildi. İzole edilen etkenler arasında birinci sırada *S.aureus*'un olduğu (%34.3), bunu KNS (%28.3) ile *Streptococcus spp.* (%16.4) ve *E.coli* (%5.9)'nin izlediği belirlendi. *E.coli*'nin özellikle kötü ahır hijyeni şartlarından, uygun ve temiz altlık kullanılmamasından, hayvanların ağır kış şartları nedeniyle uzun süre ahırda kalmalarından, ekstansif yetiştiricilik tarzından ve elle sağım sırasında temel hijyen kurallarına uyulmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Koagülaz enzimi, *S.aureus* suşlarını diğer stafilocok suşlarından ayıran en önemli patojenite kriteridir. Bununla beraber koagülaz enzimi düşük oranda da olsa diğer bazı stafilocok türleri tarafından da yapılabilmektedir. Koagülaz enzimi *S.aureus* suşlarında serbest ve hücreye bağlı olarak bulunabilir. Patojen stafilocokların çoğu insan yada bir çok hayvan plazmasını koagüle etme yeteneğine sahiptirler. Bu tip stafilocoklar girdikleri organizmada sahip oldukları koagülaz enzimi sayesinde bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal serumun bakterisit etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olurlar. Bu nedenle K-pozitif suşlar patojen kabul edilirler (12,43).

Akan ve ark. (3), inek mastitislerinden izole edilen 82 stafilocok suşunun 69 (%84.14)'ünün lamda, 76 (%92.68)'sının tüpte K-pozitif olduğunu belirlemişlerdir. Kireççi ve ark. (63), CMT pozitif olan 35 inekten alınan 140 adet süt örneğinde 86 stafilocok suşu izole etmişler, bu stafilocok suşlarının 23 (%26.7)'ünü K-pozitif, 63 (73.3)'ünü K-negatif olarak tespit etmişlerdir. Kuyucuoğlu ve ark. (95), mastitisli ineklerden izole edilen 76 stafilocok suşunun 71 (%93.42)'ini tüpte, 68 (%89.47)'inde lamda K-pozitif olarak saptamışlar, 5 (%6.58)'ini K-negatif olarak tespit etmişlerdir. İstanbulluoğlu ve ark. (96), CMT pozitif süt örneklerinden izole ettikleri 96 stafilocok suşunun 48 (%50)'ini K-pozitif, 48 (%50)'ini K-negatif suşların oluşturduğunu bildirmişlerdir. Savaşan ve ark. (96), Aydın ili ve çevresindeki

süt sığırı işletmelerindeki mastitisli hayvanlardan izole ettikleri 84 stafilokok suşunun %41.6'sının K-pozitif suş olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada, izole edilen stafilokok suşlarının Staphylase Test (Oxoid DR595) ile yapılan koagülaz testinde izole edilen 42 stafilokok suşunun 23 (%54.8)'ü K-pozitif, 19 (%45.2)'u KNS olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar Kireççi ve ark. (63) sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Sunulan bu çalışmada, izole edilen *S.aureus* ve KNS suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları da araştırılmıştır. Türkiye'de ve diğer ülkelerde mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokoklarda antibiyotiklere karşı değişen oranlarda duyarlılık/dirençlilik oranları belirlenmiştir.

Alaçam ve ark. (5), Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı ile Mandacılık Araştırma Enstitüsü (Afyon)'ne ait 3-12 yaşlı İsviçre esmeri inek ve yerli mandalar üzerinde yıl içinde değişik mevsimlerde yürütülen çalışmalarda izole ettikleri stafilokoklara karşı özellikle metisilin, oksasilin, vankomisin ve amoksisilin-klavulonik asitin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kırşan ve ark. (61), *S.aureus*'ların enrofloksasine yüksek oranda (%91.30) duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Aydın ve ark. (14), Kars yöresindeki 456 sağmal inekten 93 CMT pozitif süt örneğinden toplam 78 suş izole etmişlerdir. İzole edilen *S.aureus* suşunun, ampisiline %57.1, kanamisine %28.6, enrofloksasine %10.7, neomisine %7.5, penisiline %82.1, tetrasikline %67.9, gentamisine %25 oranında dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Şahin ve ark. (84), Kars ili merkez ve köylerinde izole edilen *S.aureus*'larda sırasıyla; penisiline %88.23, trimetoprim-sülfametoksazole %23.5, sefaperazona %29.4 oranında direnç belirlerken, ampisilin-sulbaktam, enrofloksasin ve danofloksasine yüksek duyarlılık tespit etmişlerdir.

Kuyucuoğlu ve ark. (66), Afyon bölgesinde bulunan değişik laktasyon dönemlerindeki 272 inekten, 126 inekte CMT pozitif tespit etmişler, CMT pozitif olan 126 inekten 164 adet süt örneği alarak mikrobiyolojik olarak incelemişler, örneklerden 62'sinde *S.aureus*, 22'sinde *S.epidermidis* izole ve identifiye etmişlerdir. İzole edilen *S.aureus* suşlarının %62'sinin amoksisilin-klavulonik asite, %82.2'sinin ampisilin-sulbaktama, %70.9'unun enrofloksasine, %59.6'sının danofloksasine, %74.1'inin sefoperazona, %77.4'ünün streptomisine, %25'inin penisilin G'ye, %22.5'inin tetrasikline, %27.4'ünün eritromisine, %54.8'inin nistatine duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Kırşan ve ark. (60), İstanbul çevresindeki özel çiftliklerde 33 adet Holstein ırkı inekten CMT pozitif olan 54 meme lobunun subklinik mastitis olduğunu, bakteriyolojik olarak muayene edilen 54 süt örneğinden 17 (%26.56)'sinde *S.aureus* izole edildiğini ve izole edilen *S.aureus* suşlarının hepsinin ampisilin-sulbaktam kombinasyonuna duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ak (2), Trakya bölgesinde yaptığı bir çalışmada tüm

*S.aureus* suşlarının penisiline dirençli olduklarını saptamış, ayrıca enrofloksasine %85.7 duyarlılık belirlemiştir.

Akan ve ark. (3), yaptıkları bir çalışmada 82 stafilokok suşunun %59.75'inin penisilin G'ye, %29.2'sinin amoksisiline, %3.65'inin amoksisilin-klavulonik asite, %8.53'ünün kloksasiline, %56.09'unun ampisiline, %13.4'ünün ampisilin-sülbaktama dirençli olduğunu bulmuşlardır. Kuyucuoğlu ve ark. (95), mastitisli ineklerden elde ettikleri 76 stafilokok suşunun antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi sonucu, stafilokok suşlarının 34 (%44.74)'ünü amoksisiline, 4 (%5.27)'ünü ampisilin-sulbaktama, 48 (%63.16)'ini ampisiline, 56 (%73.69)'sını penisiline, 12 (%15.79)'sini kloksasiline ve 21 (%27.64)'ini sefaperazona dirençli bulmuşlardır. Uçan ve ark. (90), Konya bölgesinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen 81 koagülaz pozitif stafilokok suşunun 75 (%92.6)'ini *S.aureus*, 6 (%7.4)'sını *S.intermedius* olarak tanımlamışlar, tüm suşlar dikkate alındığında en duyarlı olan antibiyotiğin danofloksasin (%100) olduğunu ve duyarlılıklarına göre ampisilin-sulbaktam ile metisilin (%98.8), oksasilin ve amoksisilin-klavulonik asit (%97.5), kloksasin (%96.3), amoksisilin (%22.2) ve penisilin G (%14.8) olduğunu belirlemiştir.

Dinç ve ark. (96), Ankara ili süt sığırları işletmelerinden laboratuvara gönderilen mastitis şüpheli 150 süt örneğinden cins düzeyinde bakteriyolojik tarama yapmışlar, örneklerin %44.6'sında stafilokok türü saptamışlar, izole edilen suşların %45.3'ünün eritromisine, %44'ünün amoksisiline, %44'ünün gentamisine, %42.6'sının oksitetrasikline, %42'sinin kanamisine, %32.6'sının ampisiline, %32'sinin trimetoprima, %31.3'ünün penisilin G'ye duyarlı olduklarını bulmuşlardır. Younis ve ark. (104), mastitisli sütlerden izole edilen stafilokokların antibiyotik duyarlılığı ile ilgili olarak yaptıkları bir çalışmada, izole ettikleri 400 *S.aureus* suşunda, tetrasikline (%52) ve penisiline yüksek oranda direnç (%96.6) saptamışlardır.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda izole edilen stafilokok suşlarının antibiyotik duyarlılık/dirençliliklerinde; sağımda temel hijyen kurallarına yeterince uyulmamasının, periyodik olarak indirekt yöntemlerle mastitis taramalarının yapılmamasının, özellikle subklinik olgularda mikrobiyolojik olarak etken izolasyonu yapılmadan antibiyotik sağaltımına gidilmesinin etkili olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (2,66,84).

Stafilokok enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla uzun yıllardan beri  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikler kullanılmıştır.  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımı bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimini de beraberinde getirmiştir. Literatür bulguları incelendiğinde; ülkemizin değişik bölgelerinde yapılan araştırmalarda mastitisli sütlerden

izole edilen stafilokoklarda penisiline dirençliliğın %59-88, amoksisiline %29-78 arasında olduğu görölmektedir (3,14,66,84,95,96).

Bu çalışmada mastitisli sütlerden izole edilen stafilokoklar için  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerle yapılan duyarlılık deneylerinde; 42 stafilokok suşunun 25 (%59.5)'inin penisiline, 16 (%38.1)'sının amoksisiline, 3 (%7.1)'ünün amoksisilin-klavulonik asite, 2 (%4.8)'sinin kloksasiline dirençli olduğu, diğerk antibiyotik grupları ile yapılan deneylerde suşların 5 (%11.9)'inin enrofloksasine dirençli olduğu, ayrıca suşlarının tamamının vankomisine duyarlı olduğu bulunmuştur.

Sunulan bu çalışmada, izole edilen stafilokokların  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerden penisiline direnç oranı, Akan ve ark.larının çalışması hariç tutulursa ülkemizde yapılan diğerk araştırma sonuçlarına göre düşük bulunmuştur. Bu farklılığın nedeninin süt örneği alınan bölgede hayvan sahiplerinin mastitis hakkında bilinçli olmaması ve mastitis tedavisinde kullanılan değişik antibiyotik seçeneklerinden kaynaklandığı düşünölmektedir. Amoksisilinin ile kloksasiline ise direnç oranının ülkemizde yapılan diğerk çalışmaları uyumlu olduğu tespit edilmiştir.  $\beta$ -laktamaza dayanıklı gruplarla kombine edilmiş olan amoksisilin-klavulonik asit gibi  $\beta$ -laktam antibiyotiklere ülkemizdeki diğerk sonuçlara paralel olarak yüksek oranda duyarlılık görölmüştür (3,5,14,66,84,90,95,96).

Çalışmada, kinolon grubu antibiyotiklerden enrofloksasin ve glikopeptid grubu antibiyotiklerden vankomisine yüksek oranda duyarlılık bulunmuştur. Bu sonuçlar Türkiye'de yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla duyarlılık oranlarının uyumlu olduğunu göstermektedir (2,5,14,61,66).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda, mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokok suşlarının  $\beta$ -laktamaz aktiviteeri araştırılmış, incelenen suşların %30-63 arasında değişen oranlarda bu aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (3,90,95).

Akan ve ark. (3), mastitisli ineklerden izole ettikleri 76 K-pozitif stafilokok suşunun 23 (%30.2)'ünde  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptamışlardır. Kuyucuoğlu ve ark. (95), mastitisli ineklerden elde ettikleri 76 stafilokok suşunun K-pozitif 71 suşunda %63.38 oranında  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptamışlardır. Uçan ve ark. (90), Konya bölgesinde mastitisli inek sütlerinden izole edilen 81 K-pozitif stafilokok suşunun 51 (%63)'inde  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptamışlardır.



Bu çalışmada, mastitisli sütlerden izole edilen 23 *S.aureus* ve 19 KNS olmak üzere toplam 42 suşun 18 (%42.8)'inde  $\beta$ -laktamaz aktivitesi saptandı. Bu oran *S.aureus* suşlarında %60.9, KNS'larda ise %21 şeklinde dağılmaktaydı (Tablo-9). Elde ettiğimiz sonuçların, diğer bilimsel araştırmalarda elde edilen sonuçlarla uyum içinde olduğu tespit edilmiştir (3,90,95).

Stafilokokların  $\beta$ -laktamaz enzimini üretmeleri  $\beta$ -laktamlarla yapılacak tedaviyi güçleştirmiş ancak çok geçmeden  $\beta$ -laktamaz inhibitörü ve bu enzime dayanıklı  $\beta$ -laktam türevleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında amoksisilin-klavulonik asit sayılabilir. Bu kombinasyonda klavulonik asit bakteriler tarafından sentezlenen  $\beta$ -laktamazı dönüşümsüz olarak inhibe etmekte ve serbest kalan amoksisilin bakteriler üzerine etki göstermektedir (3).

Sonuç olarak, Sarıkamış ilçesinde mastitis etkeni olarak izole ettiğimiz 3 grup bakteri arasında en sık görülen bakterilerin stafilokoklar olduğu ve izole edilen stafilokok suşlarının önemli oranda (%42.8)  $\beta$ -laktamaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. İzole edilen stafilokoklara karşı en etkili antibiyotiklerin; amoksisilin-klavulonik asit, kloksasilin, enrofloksasin ve vankomisin olduğu tespit edilmiştir. Penisilin ve amoksisiline karşı ise yüksek oranda direnç görülmüş, bu nedenle  $\beta$ -laktamaz aktivitesinden en fazla etkilenen antibiyotiklerin penisilin ve amoksisilin olduğu saptanmış ve bu antibiyotiklere karşı dirençlilikte  $\beta$ -laktamaz enziminin etkili olabileceği düşünülmüştür.

Ayrıca bu çalışmada, örneklerin alındığı hayvanlara ait bilgilerin ışığında; laktasyon sayısı arttıkça mastitis görülme oranının arttığı, kötü hijyenik koşullarda yetiştirilme ve elle sağım esnasında temel hijyen kurallarına uyulmamasının mastitis görülme oranını arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Süt ve süt ürünlerine gereksinimin her geçen gün artması süt işletmeciliğini ve inek yetiştiriciliğinin de gelişmesine yol açacaktır. Böylece hayvan alım satımı ile bölgeler arasında hayvan hareketleri daha da artacak bu da mastitisin sürü içinde yayılmasıyla önemli bir sağlık sorunu olmasına zemin hazırlayacaktır. Çalışmada stafilokoklar, Türkiye'nin değişik bölgelerinde olduğu gibi yetiştiriciliğin yaygın olarak yapıldığı Sarıkamış ilçesinde de mastitisli sütlerden en fazla izole edilen etken olmuştur. Özellikle *S.aureus*'un insan ve hayvanlar için önemli bir patojen olması, bu etkenin patojenite ve direnç kriterlerinin ( $\beta$ -laktamaz varlığı) belirlenmesini zorunlu kılmaktadır. Antibiyogram testleri ve  $\beta$ -laktamaz tayini yapılmayan her mastitis vakasının tedavisinde başarısız kalınması yanında, dirençli suşların hayvanlar arasında yayılıp artmasına sebep olabileceğini unutmamalıyız. Bu durum süt

kaybını, ÷lke hayvancılığını ve ekonomiyi, dolayısıyla da insan sağılığını olumsuz y÷nde etkileyecektir.

İnsan beslenmesinde büyük bir değer taşıyan süt÷n, patojen mikroorganizmalardan uzak ve sağlıklı bir şekilde tüketilmesi ancak bilinçli yetiştiricilikle mümkün olacaktır. Bunun için, inek sür÷leri içinde yüksek oranda gör÷len mastitis enfeksiyonunun sadece klinik olarak değil, aynı zamanda etiyolojik açıdan mikrobiyolojik yöntemlerle de teşhis edilmesi ve uygun antibakteriyel ilaçlarla tedavisinin uygun olacağı kanaatine varılmıştır.

## 6. ÖZET

Bu çalışma Kars'ın Sarıkamış ilçesindeki ineklerde mastitise neden olan stafilokok suşlarını izole ederek, suşların koagülaz ve  $\beta$ -laktamaz aktivitesi ile antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bu amaçla, laktasyon periyodunda olan 256 inek rasgele örnekleme metoduyla seçildi. Hayvanlar mastitis yönünden klinik muayeneye tabi tutuldu ve memedeki yangısal değişiklikler California Mastitis Testi (CMT) ile belirlendi. Sonuçta, 256 ineğin 61 (%23.8)'inin mastitisli olduğu saptandı.

CMT pozitif olduğu belirlenen 61 inekten bakteriyolojik inceleme için 79 süt örneği alındı. Mikrobiyolojik inceleme sonucunda bu örneklerin 67 (%84.8)'inde etken izole edilirken, 12 (%15.2)'inde herhangi bir bakteriyel etken izolasyonu yapılamadı. *S.aureus*, %34.3 oranı ile en sık saptanan bakteri olurken, bunu %28.3 oranı ile koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) izledi. Bu iki grup mikroorganizma dışında örneklerin %16.4'ünde *Streptococcus spp.* ve %5.9'unda *E.coli* izole edildi. İzole edilen tüm stafilokok suşları nitrocefim içeren ticari test kitleri (Oxoid BR66A) kullanılarak  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri yönünden de araştırıldı. Sonuçta 14 (%33.3) *S.aureus* ve 4 (%9.5) KNS suşun  $\beta$ -laktamaz pozitif olduğu bulundu.

Çalışmada stafilokok suşlarının Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları/dirençlilikleri araştırıldı. Sonuç olarak, suşların %59.5'i penisiline, %38.1'i amoksisiline, %7.1'i amoksisilin-klavulonik aside, %4.8'i kloksasiline, %11.9'u enrofloksasine dirençli ve suşların tamamının vankomisine duyarlı olduğu bulundu. Suşların  $\beta$ -laktamaz aktivitesinin  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençte önemli bir rol oynadığı tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Mastitis, stafilokok,  $\beta$ -laktamaz, antibiyotik duyarlılığı

## 7. SUMMARY

This study was carried out to reveal coagulase and  $\beta$ -lactamase activity of staphylococcus strains and their sensitivity against antibiotics by isolating the staphylococcus strains which cause mastitis in cow in Sarıkamış town of Kars.

For this purpose, 256 cows, which are in lactation period are selected by random sample method. The animals were examined clinically in the point of mastitis and inflammatory changes of udders were determined with California Mastitis Test (CMT) Consequently, mastitis symptoms were diagnosed in 61 of 256 cows (23.8%).

79 milk samples were taken from 61 cows which were positive in CMT test. As a result of microbiological examination, while agent was isolated in 67 of all samples (84.8%), any bacterial agent wasn't isolated in 12 samples (15.2%). While *S. aureus* was the most determined bacterium with the percentage of 34.3%, coagulase negative staphylococcus (KNS) followed that with the percentage of 28.3%. Except these two groups of microorganism, *E.coli* was isolated in the 5.9% and *Streptococcus spp.* were isolated in the 16.4% of the samples. All isolated staphylococcus strains were examined in the point of  $\beta$ -lactamase activities by using commercial test kits including nitrocefin (Oxoid BR66A ). As a result, In 14 (33.3%) *S. aureus* and 4 ( 9.5% ) KNS strains,  $\beta$ -lactamase was found positive.

In the study the sensitivity/resistance of staphylococcus strains against antibiotics were investigated by using Kirby-Bauer disc diffusion method. In conclusion, the results of the resistant rates for some antibiotics were as follows; 59.5% penicillin, 38.1% amoxicillin, 7.1% amoxicillin-clavulonic acid, 4.8% cloxacillin, 11.9% enrofloxacin and all strains were found sensitive against vancomycin. The  $\beta$ -lactamase activity of the strains was determined to have an important role in resistance against  $\beta$ -lactam group antibiotics.

**Key Words :** Mastitis, staphylococcus,  $\beta$ -lactamase, antibiotic sensitivity.

## 8. KAYNAKLAR

- 1.Aguilar,B., Amorena,B., Iturralde,M.: Effect of Slime on Adherence of Staphylococcus aureus Isolated From Bovine and Ovine Mastitis. Vet.Microbiol.78:183-191,2001.
- 2.Ak,S.: Trakya Yöresinde Sığır Mastitisinden Sorumlu Bulaşıcı ve Çevresel Bakteriyel Etkenler ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları.İstanbul Ün.vet.Fak.Dergisi. 26(2):353-365,2000.
- 3.Akan,M.,Kökçü,L.,Öncel,T.,Eken,S.: Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi.31-34,2001.
- 4.Alaçam,E., Şahal,M.: Sığır Hastalıkları: Mastitis. Ankara. Medisan Yayınevi.389-406,1997.
- 5.Alaçam,E., Tekeli,T., Erganiş,O., İzgi,N.: İnek ve Mandalarda Subklinik Mastitislerin Tanısı,Etkenlerin İzolasyonu ve Bunlara Karşı Etkili Antibiyotiklerin Belirlenmesi.Selçuk Ün.vet.Fak.Dergisi.5(1):91-101,1989.
- 6.Alişarlı,M., Solmaz,H., Akkaya,L.: Süt İneklerinde Meme Başı Derilerinin Bazı Mikroorganizmalar ve Çiğ Sütlerinde Mikrobiyolojik Kalite Yönünden İncelenmesi. YYÜ.Vet.Fak.Dergisi.14(1):35-39,2003.
- 7.Ameh,JA., Edgbe-Nwiyi,T., Zaria,LT.: Prevalence Of Bovine Mastitis In Maiduguri Borno State,Nigeria.Veterinarski Arhiv. 69(2):87-95,1999.
- 8.Anon.: Erişim (<http://www.mikrobiyoloji.org/944101100.>).Erişim Tarihi (24 Mayıs 2006).
- 9.Anon.: Erişim ([http://www.mikrobiyoloji.org/942124011\(1\).](http://www.mikrobiyoloji.org/942124011(1).)). Erişim Tarihi (24 Mayıs 2006).
- 10.Anon.: Erişim (<http://www.mikrobiyoloji.org/943101100.>). Erişim Tarihi (24 Mayıs 2006).
- 11.Arda,M.: Temel Mikrobiyoloji.İkinci Baskı.Medisan Yayınevi.Ankara.2000.
- 12.Arda,M., Minbay,A., Leloğlu,N. Aydın,N., Akay,Ö.: Özel Mikrobiyoloji.Kars.78-93,1992.
- 13.Arnott,L.M.: Impedance Microbiology in Food Quality Control In.Instrumentation and Sensors for the Food Industry. Ed. Kress-Rogers. E. Oxford.499-519,1993.
- 14.Aydın,F., Leloğlu,N., Şahin,M., Çolak,A., Otlı,S.: Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 26 (1):55-65,1995.
- 15.Aydın,N., Akay,Ö.: Mastitis'in Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. I.Mastitis Sempozyumu Sempozyum Kitabı. Ankara.76-83,1984.
- 16.Aydın,N., İzgür,M., Diker,S., Yardımcı,H., Esenal,Ö., Paracıkoğlu, J., Akan,M.: Veteriner Mikrobiyoloji.İlke-Emek Yayınları.Ankara.5-13,2006.
- 17.Baron,E.J.,Finegold,S.M.: Diagnostic Microbiology Micrococcaceae, Staphylococci, Micrococci and Stomatococci. St.Louis. Cv Mosby.324-331,1990.
- 18.Baselga,R., Albizu,I., Amorena,B.: Staphylococcus aureus Capsule and Slime as Virulence Factors in Ruminant Mastitis. Vet.Microbiol.39(3-4):195-204,1994.
- 19.Baştan,A.: İneklerde Mastitis. Ankara, Hatiboğlu Yayınevi.1. baskı.41-51,2001.
- 20.Baştan,A.: İneklerde Meme Hastalıkları.Ankara Ün.vet.Fakültesi.33-105,2002.

21. Baumgart, J.: Lebensmittelüberwachung und qualitätsicherung Mikrobiologisch-Hygienische Schnellverfahren. Fleischwirtsch. 73 (4). 393-396, 1993.
22. Baumgart, J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag Hamburg, 2000.
23. Behme, R.J., Shuttleworth, R., McNabb, A., Colby, W.: Identification of Staphylococci With a Self-educating System Using Fatty Acid Analysis and Biochemical Tests. J Clin Microbiol. 34, 3075-3084, 1996.
24. Benites, N.R., Guerra, J.L., Melville, P.A., da Costa, E.O.: Aetiology and Histopatology Of Bovine Mastitis Of Espontaneous Occurrence. Journal Of Veterinary Medicine Series B- Infectious Diseases and Veterinary Public Health. 49(8):366-370, 2002.
25. Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. 1986.
26. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları 3. Basım. 495-504, 2002.
27. Bilgehan, H.: Özel Bakterioloji ve Bakteri İnfeksiyonları. Barış Yayınları 9. Basım. 218-240, 1995.
28. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 1992
29. Bloward, B.J., Kloos, W.E.: Staphylococci. In Keiser J F, Smith T F, Weissfeld A S, Tilton R C, eds. Clinical and Pathogenic Microbiology. London. CV Mosby. 243-253, 1997.
30. Bolton, F.J.: An Investigation Indirect Conductimetry for Detection of Some Foodborne Bacteria. J. Appl. Bacteriol. 69:655-661, 1990.
31. Bruckenstein, S., Symonski, J.S.: Continuous Conductimetric Sensor for Carbon Dioxide. Anal. Chem. 58:1766-1770, 1986.
32. Bülte, M., Stolle, A.F.: Die Einsatzfähigkeit Moderner Mikrobiologischer Schnellverfahren zur Untersuchung von Lebensmitteln Tierischen Ursprungs. Fleischwirtsch. 69:1459, 1989.
33. Cengiz, T.A.: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Yayınevi. 339-349, 1999.
34. Christensen, G.D.: Colonial Morphology of Staphylococci on Memphis Agar Phase Variation of Slime Production. Resistance to Beta-lactam Antibiotics and Virulence. Infect Dis, 1990; 161(6): 1153-69.
35. Craven, N., Anderson, J.C.: Penicilin (cloxacilin)-Tolerant Staphylococcus aureus From Bovine Mastitis. Identification and Lack of Correlation Between Tolerance In Vitro and Therapy In Vivo. Res. Vet. Sci. 34:266-271, 1983.
36. Çakır, İ., Çakmakçı, L.: Gıdalarda Patojen Mikroorganizmaların Aranmasında Kullanılan Moleküler Genetik Yöntemler. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 12, 1-7, 2005.
37. Çalık, Z.Z.: Koagulaz Olumlu ve Olumsuz Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci ve Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıkları. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi. Erzurum. 1998.
38. Çetinkaya, Y., Ünal, S.: Metisilin Dirençli S.aureus İnfeksiyonları, Epidemiyoloji ve Kontrol. Flora Dergisi. 1:3-14, 1996.

- 39.De Oliveira,A.P., Watts,J L., Salmon,S.A., Aarestrup,F.M.: Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus aureus Isolated From Bovine Mastitis in Europe and United States. J.Dairy Sci.83:855-862,2000.
- 40.Difco Product Catalog for Microbiology. Difco Laboratories.130-134,1995.
- 41.Donoghuy,JA., Madden,RH.: Detection of Salmonella in Animal Protein by Rappoport Vassiliadis Broth Using Indirect Impediometry. Int. J. Food Microbiol.17:281-288,1993.
- 42.Easter,MC., Gibson,DM.: Rapid and Automated Detection of Salmonella by Electrical Measurements. J. Hyg. Comb.94:245-262,1985.
- 43.Erol,İ.: Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi.Ankara.135-143,2007
- 44.Firstenberg-Eden,R.: Collaborative Study of the Impedance Method for Examining Raw Milk Samples. J. Food Prot.47:707-712,1984.
- 45.Göksel,S.: Gram pozitif Bakteriler-3. İnfek.Hast Dergisi.3(5):97-110,2002.
- 46.Göksel,S.: Gram Pozitif Bakteriler. İnfek. Hast. Derg.3(5): 97-110,2002.
- 47.Götz,F.: Staphylococcus and Biofilms. Molecular Microbiology.43(6): 1367-1378,2002.
- 48.Grove,M., Jones,M.: Use of an Enzyme-Linked Immunsoebent Assay to Monitor the Control of Staphylococcus aureus Mastitis. J Dairy Sci.75:423-434,1992.
- 49.Gülhan, T.: İnsan ve Sığır Orjinli Staphylococcus aureus Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri ile Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Karşılaştırılması.Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksekisans Tezi. Van.1997.
- 50.Gün,H., Özinel,M.A., Yenen,O.Ş.: Klinik Örneklerden İzole Edilen Stafilocoklarda Metisilin Direnci.Türk Mikrobiol.Cem.Dergisi.20(3-4):211-215,1990.
- 51.Gür,D., Söyletir,G., Bal,Ç., DüNDAR,V., Sümerkan,B., Köksal,İ., Çiftçi,U.: Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu. ADTS Çalışma Grubu Toplantısı.İstanbul.101-106,1997.
- 52.Gürtürk,K., Boynukara,B., Ekin,H., Gülhan,T.: Van ve Yöresindeki İneklerde Mastitisin Etiyolojisi Üzerine Bir Çalışma.YYÜ.Vet.Fak.Dergisi.9(1-2):1-4,1998.
- 53.Hadimli,H., Ateş,M., Güler,L., Kav,K.: Mastitislerden İzole Edilen Stafilocokların  $\beta$ -laktamaz Aktiviteleri ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları.Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu. Akdeniz Üniv.Vet.Fak.Yayın Ünitesi.2:139-144,2001.
- 54.Halkman,A.K.: Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları.Ankara.282,2005.
- 55.Hill,MO., Evans,DF.: Conductimetric Measurement of Respiration Rates, With Observations on the Physics and Chemistry of Absorption and Conductivity Change. Pedobiol.29:247-250,1986.
- 56.Honkannen,T., MyllyS,V., Pyörola,S.: Bovine Clinical Mastitis Due to Coagulase-negative Staphylococci and Their Susceptibility to Antimicrobials. J Vet Med B.41:344-350,1994.

- 57.Jasper,D.E., Infant,F., Dellinger,J.D.: Efficacy of the Api STAPH-Ident System for Identification of Staphylococcus Species From Milk. Am J Vet. Res.46(6):1263,1985.
- 58.Jöckel,J.: Einsatz der Impedanzmethode in der Amtlichen Lebensmittel-überwachung. Fleischwirtsch.76:945-950,1986.
- 59.Kayaalp,O.: Beta-laktam Antibiyotikler.Tıbbi Farmakoloji-I. Hacettepe Taş Yayınevi 9.basım.203-216,2000.
- 60.Kırşan,İ., Özgür,Y., Gürbulak,K., İkiz,S., Şenünver,A.: Laktasyondaki İneklerde Subklinik Mastitislerin Ampisilin ve Sulbaktam Kombinasyonu ile Tedavisi.Türk Mikrobiyoloji Dergisi 29:105-111,1999.
- 61.Kırşan,İ., Şenünver,A., Özgür,Y., Horoz,H., Ilgaz,A.: Antibiyogram Testi ve Enfeksiyon Etkenlerinin İzolasyonu ile Birlikte Klinik Muayeneye Göre Enrofloksasin ile Sütçü İneklerin Akut Mastitislerinin Tedavisi.İstanbul Üniv.Vet.Fak.Dergisi.20(2-3):143-150,1994.
- 62.Kireççi,E., Aktaş,AE.: Stafilokok Suşlarının Gaz Kromatografisi Metoduyla Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.11(1):29-32,2005.
- 63.Kireççi,E., Çolak,A.: Kuru Dönem Başlangıcında Subklinik Mastitisli İneklerden İzole Edilen Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci.Kafkas Üniv.Vet.Fak.Dergisi.8(2):98-100,2002.
- 64.Kotilainen,P., Huovinen,P., Eerola,E.: Application of Gas-liquid Chromatograph Analysis of Cellular Fatty Acids for Species Identification and Typing of Coagulase-negatif Staphylococci. J Clin. Mic, 29,315-322,1991.
- 65.Kudinha,T., Simango,C.: Prevalance of Coagulase Negatif Staphylococci in Bovine Mastitis in Zimbabwe. J the South African Vet.73(2):62-65,2002.
- 66.Kuyucuoğlu,Y., Uçar,M.: Afyon Bölgesi Süt İneklerinde Subklinik ve Klinik Mastitislerin Görülme Oranları ve Etkili Antibiyotiklerin Görülme Oranları.1999.
- 67.Leloğlu,N.: Staphylococcus ve Staphylococcus Efeksiyonları. Özel Mikrobiyoloji. Ankara. Medisan Yayınevi 4. Baskı. 39-44,1997.
- 68.Murray,P., Rosenthal,K.S., Pfaller,M.A.: Medical Microbiology. Staphylococcus and Related Organisms. St.Louis. CV Mosby.175-180,1998.
- 69.Murray,P., Baron,E., Pfaller,M., Tenover,F.,Yolken,R.: Manuel of Clinical Microbiology. ASM pres.6.Baskı.1332-1333,1996.
- 70.Nazer,AHK., Tavakoli,A.: Prevalence Of Antibiotic-Resistance and Beta-Lactamase Production by Bacteria Isolated From Cases Of Bovine Mastitis. Journal Of Applied Animal Research.6(2):167-176,1994.
- 71.Owens,J D., Thomas, DS., Thompson,PS., Timmermon,J W.: Indirect Conductimetry a Novel Approach to the Counductimetric Enumeration of Microbial Population. Lett. App. Microbiol. 9:245-249,1989.
- 72.Oxoid. Mikrobiyolojik Analiz Yöntemlerinde Yeni Yaklaşımlar.Hemakim.38-39,2005.



- 73.Özmen,Ö.: Mastitislerde Etiyopatogenez. Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu. Akdeniz Üniv.Vet.Fak.Yayın Ünitesi. 2:21-29,2001.
- 74.Pless,P.: Detection Offor the Detection of *Listeria* spp. by a New Impedance Method.3<sup>rd</sup> World Congress Foodborne Infections and Intoxications. Berlin.1194-1197,1992.
- 75.Pless,P., Futschik,K., Schopf,E.: Rapid Detection of *Salmonella* by Means of a New Impedance Splitting Method. J . Food Prot.57:369-376,1994.
- 76.Pless,P., Reisinger,T.: Application of Impedance Splitting Method for the Rapid Determination of the Microbial Contamination on Carcase Surfaces. Fleischwirtsch.76(4): 393-396,1996.
- 77.Pyörola,S.: Staphylococcal and Streptococcal Mastitis. In Sandholm M, Honkannen T., Kaartinen L, Pyörola S. eds. The Bovine Udder and Mastitis.University of Helsinki, Faculty of Vet. Med.143-147,1995.
- 78.Saa,E., Kruze,J.: Virulence Factors of Coagulase-negative *Staphylococcus* of Human and Bovine Origin. Rev.Lationam Microbiol.37(3):201-8,1995.
- 79.Sandholm,M., Honkanen,T., Kaartinen,L., Pyörola,S.: The Bovine Udder and Mastitis.University of Helsinki.1995.
- 80.Schalm,OW., Carol,EJ., Jain,NC.: Bovine Mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia.72-157.1971.
- 81.Sol,J., Sampimon,OC., Barkema,HW., Schukken,YH.: Physiology and Management Factors Associated With Cure After Therapy of Clinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. J Dairy Sci.83:278-284,2002.
- 82.Stepan,J., Pantucek,R., Doskar,J.: Departmen Of Genetics and Molecular Biology.Folia Microbial.49(4):353-386,2004.
- 83.Stoakes,L., John,A., Lannigan.R.: M.Gas-liquid Chroma-tography of Cellular Fatty Acids for Identification of *Staphylococci*. J Clin Mic, 32 (8):1908-1910,1994.
- 84.Şahin,M., Çolak,A., Otlu,S., Aydın,F., Genç,O., Güler,M., Oral,H.: Kars Yöresi İthal Simental İneklerinde Subklinik ve Klinik Mastitislerin Görülme Oranı ve Etkili Antibiyotiklerin Belirlenmesi.Kafkas Üniv.Vet.Fak.Dergisi.3(1):49-55,1997.
- 85.Teale,C.J., David,GP.: Antibiotic Resistance in Mastitis Bacteria. Proceedings of the British Mastitis Conference. VLA Shrewsbury VI Centre Stoneleigh.24-29,1999.
- 86.Tekinşen,C., Keleş,A.: *S.aureus* ve Stafiloenterotoksikozis. Türk Veteriner Hekimliği Dergisi.7(1):42-44,1995.
- 87.Timms,L., Schultz,H.: Dynamics and Significance of Coagulase Negative *Staphylococcal* Intramammary Infections. J Dairy Sci.70:2648-2657,1987.
- 88.Turantaş, F. Elektrik İmpedans Yöntemi ve Gıda Mikrobiyolojisinde Uygulamaları.19 (3):167-171,1994.

- 89.Türütoğlu,H., Mudul,Ş., Türkmen,M.: Mastitisli İnek Sütlerinden İzole Edilen *S.aureus* Etkenlerinde Beta-laktamaz Enzim Varlığı.Akdeniz Üniv..Bilimsel Araştırma Projesi Raporu. Burdur.1-15,2002.
- 90.Uçan,S., Aslan,E.: İnek Mastitislerinden İzole Edilen Koagülaz Pozitif Stafilokok Suşlarının Penisilin Direnci ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları.
- 91.Ünal,S.: Stafilokoklarda Metisilin Direnç Mekanizmaları ve Metisilin Direnç Tespit Yöntemleri. Flora Dergisi.1:14-17,1996.
- 92.Vahaboğlu,H.: Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.Yücel,A.ed. Günümüzde Antimikrobik Tedavi. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği.12:31,1998.
- 93.Vasil,M.: The Occurrence Of Resistance To Antibiotics In The Caosative Egents Of Bovine Mastitis.Veterinari Medicina. 39(9):503-509,1994.
- 94.Vasudevan,P., Nair,M.K., Annamalai,T., Ventikanarayanan,K.: Phenotypic and Genotypic Characterization of Bovine Mastitis Isolates of Staphylococcus aureus for Biofilm Formation. Vet.Microbiol.92:179-185,2003.
- 95.VI.Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı.Eylül.172-184,2004.
- 96.VII.Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı.Eylül.94-216,2006
- 97.Vural,R., Esenal,Ö., İzgür,H., Aslan,S., Kılıçoğlu,Ç.: Holstein Düvelerde Subklinik Mastitis Olguları II.İlk Laktasyon Süresince Meme İçi Enfeksiyonlar.Ankara Üniv.Veteriner Fakültesi Dergisi 46:287-298,1999.
- 98.Waes,GM., Bossuyt,RG.: Impedance Measurement to Detect Bacteriophage Problems in Cheddar Cheese. J. Food Prot.47:349-351,1984.
- 99.Watts.L.J., Yancey,J.R.: Identification Of Veterinary Pathogenes by Use O Commercial Identification System and New Trends In Antimicrobial Suspectibility Testing Of Veterinary Pathogenes.Clin Microbial Rev.7(3):346-356,1994.
- 100.Wawerla,M., Stolle,A., Schalch,B., Eisgruber,H.: Impedance Microbiology: Applications in Food Hygiene. J. Food Prot.62:1488-1496,1999.
- 101.Yavru S.Mastitise Neden Olan Viral Etkenler. Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu, Akdeniz Üniv.Vet.Fak.Yayın Ünitesi.2:32-39,2001.
- 102.Yıldız,A.: Laktasyondaki Subklinik ve Klinik Mastitisli Sütçü İneklerde Linkomisin-Neomisin Kombinasyonuyla Meme İçi Tedavinin Etkinliği.F.Ü.Sağlık Bil.Dergisi 17(1):65-69,2003.
- 103.Yoshida,M., Kashiwagi,Y., Okuda,M., Tsumagari,F., Takeishi,M.: Differentation of Coagulase negative Staphylococci (CNS) From Cases of Bovine Mastitis and Their Antibiotic Sensitivity. J Vet Med.51(11):893-896,1998.

104. Younis, A., Leitner, G., Heller, D.E., Samra, Z., Gadba, R., Lubashevsky, G., Chaffer, M., Yadlin, N., Winkler, M., Saran, A.: Phenotypic Characteristics Of *S. aureus* Isolated From Bovine Mastitis In Israeli Dairy Herds. *Journal Of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 47(8):591-597, 2000.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Konya'nın Seydişehir ilçesinde doğdum. İlköğretim ve lise öğrenimimi Seydişehir'de tamamladıktan sonra 1989 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde üniversite öğrenimime başladım. 1996 yılında üniversiteden mezun olarak, özel sektörde işe başladım. 1997 yılında Kara Kuvvetleri Komutanlığı'nın açmış olduğu sınavı kazanarak Vet.Hekim Tğm. olarak göreve başladım. 1998 yılında 6 ncı Kolordu Komutanlığı'na Gıda Kont.Sb. olarak atandım. 2002 yılında yurt dışı geçici görevlendirilme ile ISAF Kuvvetler Komutanlığı (AFGANİSTAN)'nda Muayene ve Kabul Komisyonu Üyesi ve Gıda Kont.Sb. olarak görev yaptım. 2004 yılında doğu görevini yapmak üzere 9 ncu Mot.P.Tug.K.lığı (SARIKAMIŞ) Muayene ve Kabul Komisyonu Başkanlığı'na atandım. Evli ve iki çocuk babasıyım.