

## İNEKLERİN SUBKLİNİK MASTİTİSLERİNDE SÜTTE N ASETİL $\beta$ -D GLUKOZAMİNİDAZ (NAG ase) ENZİMİ İLE KAN PLAZMASI VİTAMİN A VE VİTAMİN E DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet NİZAMLIOĞLU<sup>1</sup>  
Firuze ÖZEREN<sup>1</sup>

Dursun Ali DİNÇ<sup>2</sup>  
Ümran OK<sup>3</sup>

Osman ERGANİŞ<sup>3</sup>

Investigation of N-acetyl  $\beta$ -D glucosaminidase (NAG ase) enzyme activity, vitamin A and vitamin E values in subclinical mastitic cows

### SUMMARY

The aim of this present study was to investigate N-acetyl  $\beta$ -D glucosaminidase (NAG ase) enzym activity, vitamin A and vitamin E values for the diagnosis of subclinical mastitis in cows.

Thirty four Holstein Cows, 4-5 years old, were used as materials.

The Somatic Cell Count (SCC) and NAG ase values in positive CMT milk samples increased and were found to be statistically significant ( $P < 0.05$ ). However the SSC and NAG ase activity did not differ in normal milk samples.

Plasma vitamin A and vitamin E values in mastitic cows were differ from healty animals, but these differencies did not found statistically important ( $P > 0.05$ )

As conclusion, the determination of NAG ase activity in milk samples was a useful method for the diagnosis of subclinical mastitis in cows.

KEY WORDS : Cow, Subclenic mastitis, NAG ase, Vitamin A, Vitamin E.

### ÖZET

İneklerde subklinik mastitiserin teşhisi amacıyla yapılan bu çalışmada, sütte N-asetil  $\beta$ -D-glukozaminidaz (NAG ase) enzim aktivitesi ile kan plazmasında vitamin A vitamin E değerleri tayin edildi.

Materyal olarak 4-5 yaşlarında 34 baş Holstein ırkı inek kullanıldı.

CMT ile pozitif sonuç alınan süt örneklerinde, NAG ase ve somatik hücre sayıları (SHS) arttı ve istatistiki yönden önemli ( $P < 0.05$ ) bulundu. CMT ile negatif sonuç alınan süt örneklerinde ise, bu değerler normal düzeylerde idi.

Subklinik mastitisli hayvanlarda vitamin A ve vitamin E değerleri, sağlıklılara göre biraz düşük düzeyde olduğu halde farklılıklar istatistiki yönden önemsiz bulundu.

Sonuç olarak, ineklerde subklinik mastitiserin erken tanısı amacıyla sütte NAG ase enzim aktivitesi araştırılmasının iyi bir test olacağı kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELER : İnek, Subklinik mastitis, NAG ase, Vitamin A, Vitamin E.

### GİRİŞ

Büyük ekonomik kayıplara sebep olan ineklerin subklinik mastitiseri, süt inekçiliğinin en önemli sorunlarından birisidir. Subklinik mastitiser, süt ürünlerinin ekonomisi yönünden önemli olduğu kadar, çeşitli enfeksiyon etkenlerini buldurması sebebiyle halk sağlığı yönünden de önem arz etmektedir. Mastitiserin diğer memelere ve ineklere yayılması ve verim kayıplarının önlenmesi bakımından yapılması gereken ilk işlem, etkenlere yönelik tedavidir.

Subklinik mastitiserin teşhisinde, CMT ve sütteki somatik hücre sayıları (SHS) ile süt ve kanda bazı biyokimyasal değerlerin tayini gibi testlerden yararlanılmaktadır. (1,2,13,17,23,28,29,30).

Son zamanlarda subklinik mastitiserin erken teşhisi amacıyla, süt ve kanda tayin edilen biyokimyasal değerler içerisinde N-asetil  $\beta$ -D glukozaminidaz (NAG ase) enzim aktivitesinin tesbiti, uygulama sahası bulan en önemli testlerdendir (3,31,33,34).

NAG ase enzimi, optimum pH'sı 4.6 olan ve hücreselel kompartmanlarda toplanan lizozomal bir enzimdir. Bu enzim, memede meydana gelen yangı neticesinde bulunduğu yerden %95 oranında süte geçer ve sütteki miktarı artar (16,19).

Meme dokusunda meydana gelen yangı ve de-

jenerasyonlar neticesinde, lizozomal enzimlerden zengin olan polimorf nükleer lökositler faaliyete geçerek (29), fazla miktarda NAG ase enzimi salgılanmaya başlar (11). Böylece, yangı sonrası süte geçen NAG ase enzim aktivitesinin tayin edilmesi, subklinik mastitiserin teşhisinde iyi bir indikatördür (20,27).

Subklinik mastitiserlerde süte geçen NAG ase, Laktat Dehidrogenaz (LDH) ve Aspartat Amino Transferaz (AST) gibi enzimlerle CMT bulguları arasında önemli bir korelasyonun varlığı tesbit edilmiştir (1,3,5,6,25,26,33). Beslenme yetersizliğinin predispozisyon yarattığı mastitiserlerde ise, vitamin E ve selenyumun önemli etkenlerdendir. Çünkü, laktasyondaki bir hayvanın plazma vitamin E değerleri, kuru dönemdeki bir hayvanın plazma vitamin E değerlerine göre 4 kat daha az olmaktadır (32)

Çeşitli araştırmacılar (8,9,10) yaptıkları çalışmalarda, plazma vitamin A ve  $\beta$ -karotin düzeyi düşük olan hayvanlarda, meme yangısı ve dejenerasyonların daha fazla görüldüğünü tesbit etmişlerdir.

SHS normal olan hayvanlarda plazma vitamin A,  $\beta$ -karotin ve vitamin E değerlerinin normal, SHS artmış olan hayvanlarda ise bu maddelerin düşük seviyelerde olduğu, GSH Px enziminin de SHS ile ilişkili bulunduğu belirtilmektedir (12,31).

Vitamin E ve selenyum, biyolojik membranları koruyarak hücre için toksik olan peroksit ve oksijen radikallerinin şekillenmesini önlerler (7).

(1) S.Ü. Veteriner Fak., Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.  
(2) S. Ü. Veteriner Fak., Doğum ve Rep. Hastalıkları ABD, Konya.  
(3) S. Ü. Veteriner Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

Klinik mastitisli hayvanların plazma vitamin E değerlerinde fazla bir değişimin olmadığı ancak, klinik mastitisli hayvanların bazılarında görülen vitamin E düzeyi düşüklüğünün beslenme yetersizliğinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (24).

Sunulan bu çalışmanın amacı, subklinik mastitisli ineklerin sütlerinde NAG ase enzimi ile kan plazması vitamin A ve vitamin E değerlerini araştırmaktır.

## MATERYAL VE METOT

**Materyal:** Çalışmanın materyalini, süt inekçiliği yapan iki işletmede bulunan hayvanlar ile S.Ü.Veteriner Fakültesi kliniklerine tedavi amacı ile getirilen 4-5 yaşlarında 34 baş Holstein ırkı inek oluşturdu. Araştırmaya alınan hayvanların tümüne CMT testi (29) uygulanarak sonuçlar, -, +1 ve +2 şeklinde değerlendirildi. CMT bulguları ile biyokimyasal ve mikrobiyolojik test sonuçlarının değerlendirilmesi neticesinde 14 baş inek normal, 20 baş inek ise, subklinik mastitisli olarak belirlendi.

**Metot:** Hayvanların tümünden kan ve süt numuneleri alındı. Kan örnekleri heparinli tüplere alınarak biyokimyasal analizler için plazmaları çıkarıldı.

Süt örnekleri, NAG ase enzimi için ayrı tüplere, mikrobiyolojik yoklamalar için ise aseptik şartlarda ayrı tüplere alındı.

Serumları çıkarılan süt örneklerinde NAG ase enzim aktivitesinin tayini, Boehringer enzim test kitleri kullanılarak spektrofotometre (Shimadzu UV 2100) cihazı ile ölçüldü.

Kan plazmasında vitamin A ve vitamin E değerlerinin ölçülmesi Kenneth (18)' in tarif ettiği şekilde yapıldı.

Aseptik şartlarda alınan süt örnekleri kısa süre içerisinde laboratuvara getirilerek, kanlı agar, MacConkay ve suborround Dekrose agar besi yerlerine ekildi. Bakteriler yönünden 37 °C de 1-3 gün, maya ve mantarlar yönünden ise oda ısısında 1 hafta inkube edilerek erken izolasyonu yapıp klasik yöntemlerle (4,14,21) identifiye edildi.

## BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular, Tablo 1 ve 2 de özetlenmiştir. Tablo 1 de, Somatik hücre sayıları ve istatistik karşılaştırması ile izole ve identifiye edilen bakteriler, Tablo 2 de ise, sağlıklı ve mastitisli hayvanlara süt serumlarında NAG ase aktivitesi ile kan plazmalarında vitamin A ve vitamin E değerleri ve istatistik karşılaştırmaları verilmiştir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

İneklerde subklinik mastitislerin teşhisine yardımcı olmak amacıyla yapılan bu çalışmada, hayvanların süt serumlarında NAG ase enzim aktivitesinin tayini, kan plazmasında vitamin A ve vitamin E değerlerinin araştırılması ile süt örneklerinde SHS tesbit edilerek mikrobiyolojik testler yapıldı.

Sunulan bu çalışmada, CMT sonuçlarıyla biyokimyasal bulgular ve mikrobiyolojik test sonuçları değerlendirilerek hayvanlar, subklinik mastitisli ve sağlıklı diye ayrıldı. Çeşitli araştırmalarda (3,15,22,34), CMT sonuçları ile NAG ase aktivitesi, SHS ve bazı biyokimyasal değerlerin ilişkili olduğunu ileri sürmektedirler.

Son zamanlarda subklinik mastitislerin erken teşhisinde, süt NAG ase enzim aktivitesinin önemli bir indikatör olduğu bir-

Tablo 1. Sağlıklı ve subklinik mastitisli hayvanların süt örneklerinde somatik hücre sayıları ve istatistik karşılaştırması ile izole ve identifiye edilen mikroorganizmalar.

	Sağlıklı hayvan sütlerinde	Mastitisli hayvan sütlerinde	T
SHS/ml süt	242930 ± 48980	1253320 ± 248520	3.35*
Mikroorga- ganizmalar	Starphylococcus ssp 2 Corynebacterium ssp 1	Staphylococcus 14 C.pyogenes 3 İzole edilemeyen 3	

Tablo 2. Sağlıklı ve subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında NAG ase aktivitesi ile kan plazmalarında Vit. A, Vit. E değerleri ve istatistik karşılaştırmaları

	Sağlıklı sütlerde	Subklinik masti sütlerde	T
NAG ase (U/L)	29.25 ± 1.99	80.96 ± 10.13	4.2*
Vitamin A (mcg/100 ml)	41.73 ± 9.80	31.14 ± 7.60	1.86
Vitamin E (mcg/100 ml)	70.75 ± 24.82	67.67 ± 16.31	0.10

\* P<0.05

çok araştırıcı (1,3,11,21,27,29,31,33,34) tarafından tesbit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da, subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında NAG ase aktivitesi ortalama 80.96±10.13 U/L, sağlıklı olanlarda ise 29.25±1.99 U/L bulunarak değerler arasında istatistik yönden P<0.05 önem derecesinde farklılık bulunmuştur.

Çalışmada, sağlıklı ve subklinik mastitisli süt örnekleri NAG ase enzim aktivitesi ile CMT ve SHS arasında önemli ilişkiler tesbit edildi. CMT' nin pozitif olduğu süt örneklerinde, hücre sayıları ve NAG ase aktivitesi yüksek, CMT' nin negatif olduğu süt örneklerinde ise, SHS ve NAG ase aktivitesi düşük bulundu. Çeşitli araştırmacılar (3,22,29,33) da, yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Hayvanlarda görülen mastitislerin plazma vitamin A ve vitamin E değerleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bilhassa beslenme yetersizliğine bağlı olarak bu vitaminlerin düşük düzeyde tesbit edildiği hayvanlarda klinik mastitisler daha fazla görülmektedir. Bu maddeler, meme dokusunun enfeksiyonlara karşı direncinin artmasında ve dejenerasyonlardan korunmasında etkili olmaktadır. Bunun yanında düşük vitamin A ve E düzeylerine sahip hayvanlarda SHS da yüksek çıkmaktadır (7,8,12,32). Sunulan bu çalışmada, subklinik mastitisli hayvanların kan plazma vitamin A ve vitamin E değerlerinin sağlıklı olan hayvanların plazma vitamin A ve vitamin E değerlerine göre düşük tesbit edilmesine rağmen bu farklılığın istatistik yönden önemi bulunmadı. Çalışmada vitamin A ve vitamin E düzeylerinin düşük olduğu mastitisli hayvanların süt örneklerinde, SHS oldukça fazla bulundu. Mastitisli hayvanların plazma vitamin E değerlerinde görülen değişimler normallere göre fazla olmamaktadır, ancak, klinik mastitisli hayvanların bazılarında düşük düzeyde vitamin E değerlerine rastlanması beslenme bozukluğuna bağlanmaktadır (24).

Sonuç olarak, ineklerin subklinik mastitislerinin teşhisinde, NAG ase enzim aktivitesi tayininin iyi bir indikatör ol-

duğu, bunun yanında plazma vitamin A ve vitamin E değerlerinin de belirlenmesiyle, subklinik mastitis insidensinin yüksek olduğu sütü ineklerde vitamin A ve vitamin E eksikliğine bağlı beslenme bozukluklarının teğhisine yardımcı olunabileceği kanısına varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Alaçam E, Nizamloęlu M, Erganiş O, Sezer NA (1988) İneklerde subklinik mastitislerin tanısı amacıyla süt ve kanda prostaglandin F<sub>2</sub>- $\alpha$  ile bazı mikrobiyolojik, hüresel ve biyokimyasal değerlerin araştırılması. Doęa Türk Vet. ve Hay. Derg. 12 (1) 11-18.
2. Aytuę C, Alaçam E, Grgl S (1989) Sığır Hastalıkları, Tekno Grafik, İstanbul.
3. Ball, H.J., Greer, D. (1991) N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase test for screening milk samples for subclinical mastitis. Vet.Rec., 129, 507-509.
4. Beře, M. (1974) Mikrobiyolojide kullanılan biyokimyasal testler ve Besi yerleri, A..Vet.Fak. Yay., 298, A.. Basımevi, Ankara.
5. Bogin, E., Ziv, G. (1972) Enzymes and minerals in normal and mastitic milk, Cornell Vet., 63, 666-676.
6. Bogin, E., Ziv, G. (1973) Enzymes and minerals in normal and mastitic cows milk, Br. Vet. J., 121-154.
7. Braun, U., Forrer, R., Frer, W., Lutz, H. (1991) Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. Vet.Rec., 128, 543-547.
8. Chew, B.P., Hollen, L.L., Hillersi, J.K., Herlugson, L. (1982) Relationship between vitamin A and  $\beta$ -carotene in blood plasma and milk and mastitis in Holstein, J. Dairy Sci., 65, 2111-2118.
9. Chew, B.P., Luedecke, L.O., Holpuch, D.M. (1984) Effect of Dietary Vitamin A on Resistance to Experimental Staphylococcal Mastitis in Mice. J. of Dairy Sci., 67, 2566-2570.
10. Chew, B.P., Zamora, C.S., Luedecke, L.O. (1985) Effect of vitamin A deficiency on mammary gland development and susceptibility to mastitis through intramammary infusion with Staphylococcus aureus in mice, Am. J. Vet. Res., 46, 1, 287-293.
11. Dulin, A.M., Paape, M.J., Miller, R.H. (1985) NAG ase activity of neutrophils, macrophages and lymphocytes, J. Dairy Sci. 68, Supp. 1, 207.
12. Erskine, R.J., Eberhart, R.J., Hutchinson, L.J., Scholz, R.W. (1987) Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. JAVMA, 190, 11, 1417-1421.
13. Hernandez, G.T., Hohenboken, W. (1979) Genetic and environmental effects on milk production, milk composition and mastitis incidence in crossbred ewes, J. Anim. Sci. 49, 410-417.
14. International Dairy Federation (1981) Laboratory Methods for use in Bovine Milk, J. Vet. Med. A, 34, 721-727.
15. Jones, J.E.T. (1991) Mastitis in sheep Breeding for Disease Resistance in Farm Animals. Eds. J.B., Owen and R.F. Axford. C.A.B. International.
16. Kaartinen, L., Kuosa, P.L., Veijalainen, K., Sandholm, M. (1988) Compartmentalization of milk N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG ase). J Vet.Med., 35, 408-411.
17. Kalaycıoğlu, L., Ergun, H. (1980) Atatrk Orman Çiftlięi st ineklerinde, subklinik mastitisde biyokimyasal yönden araştırmalar. A..Vet. Fak.Derg. XXII, 1-2, 190-200.
18. Kenneth, W.M., Chung, S.Y. (1983) An isocratic High-Performance Liquid Chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, a-tocopherol and various carotenoids. Analytical, Biochemistry, 145, 21-26.
19. Kitchen, B.J., Middleton, G. (1976) Enzymic methods for the estimation of the somatic cell count in bovine milk. II. N-acetyl  $\beta$ -D glucosaminidase test for routine estimation of the somatic cell count in milk. J.Dairy Res., 43, 491-494.
20. Kitchen, B.J., Middleton, G., Salmon, M. (1978) Bovine milk N-acetyl  $\beta$ -D glucosaminidase and its significance in the detection of abnormal udder secretions. J.Dairy Res., 45, 15-20.
21. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, W.R., Sommers, H.M. (1983) Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 2 nd ed., J.D. Lippin cott, Philadelphia.
22. Maisi, P., Junttila, J., Seppanen J. (1987) Detection of subclinical mastitis in ewes. Br. Vet.J. 143, 402-409.
23. Mijnen, E., Jaartsveld, F.H.J., Albers, G.A.A., Verstegen, M.W.A., Tielen, M.J.M. (1982) The value of cell count lactose content pH and conductivity of milk for mastitis detection in individual cows. Neth. Milk Dairy J., 36, 1, 65-77.
24. Ndiweni, N., Field, T.R., Williams, M.R. Booth, J.M., Finch, J.M. (1991) Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England. Vet.Rec., 129, 86-88.
25. Nizamloęlu, M., Erganiş, O., Tekeli, T., Başpınar, N. (1989) Koyunlarda subklinik mastitislerin erken tanısı amacıyla süt ve kanda bazı biyokimyasal değerler ile mikrobiyolojik yönden araştırmalar. Etlik Vet. Mikrob., Derg., 5, 6, 115-125.
26. Nizamloęlu, M., Tekeli, T., Erganiş, O. ve Başpınar, N. (1989) İneklerde subklinik mastitislerin biyokimyasal ve mikrobiyolojik yönden incelenmesi. S.. Vet.Fak. Derg., 5, 1, 135-143.
27. Paape, M.J., Nickerson, S.C. and Ziv, G. (1990) In vivo effects of chloramphenicol, tetracycline and gentamicin on bovine neutrophil function and morphologic features. Am.J. Vet.Res. 51, 7, 1055-1051.
28. Parantainen, J., Tenhunen, E., Kangasniemi, R., Sankari, S., Atroski, F. (1987) Milk and blood levels of silicon and selenium status in bovine mastitis, Vet.Res.Com., 11, 467-477.
29. Schalm, O.W., Carrols, E.J., Jain, N.C. (1971) Bovine mastitis, Lea and Febriger. Philadelphia.
30. Schultze, W.D. (1985) Developments in the identification of diseased udder quarters or cows. IDF seminar "Progress in the control of Bovine mastitis". Kiel, F.R. Germany, 319-328.
31. Tjoelker, L.W., Chew, B.P., Tanaka, S.T., Daniel, L.R. (1990) Effect of Dietary Vitamin A and B-carotene on Polymorphonuclear leucocyte and lymphocyte Function in Dairy Cows During the Early Dry Period, J. Dairy Sci., 73, 1017-1022.
32. Weiss, W.P., Hogan, J.S., Smith, K.L., Hoblet, K.H. (1990) Relationship Among Selenium, Vitamin E, and Mammary Gland Health in Commercial Dairy Herds, J. Dairy Sci, 73, 381-390.
33. Williams, D.J., Marschke, R.J., Nottingham, S.M. (1991) Effect of stage of lactation, number of lactations and dry period on N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase levels and somatic cell count in bovine milk. Aust.J.Dairy Technol., 43-45.
34. Wilson, D.J., Bartlett, P.C., Kirk, J.H., Mellenberger, R.W., Mather, E.C. (1991) N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase as a predictor of milk loss and recovery after clinical mastitis. Am. J. Vet. Res., 52, 7, 1110-1116.