

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI



İNEKLERDE SUPRAMAMMAR LENF YUMRUSUNUN
EKOTEKSTÜRÜ İLE MASTİTİS ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Burak Fatih YÜKSEL

2023

ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Burak Fatih YÜKSEL

Danışman

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

İTHAF

Tezimi, her zaman desteğini arkamda hissettiğim canım eşim *şuheda YÜKSEL*, babam *Hayati YÜKSEL*, annem *Nuriye YÜKSEL* ve biricik kardeşim *Beyza Nur YÜKSEL*'e ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi hayatımda bana her türlü desteği sağlayan, değerli katkılarıyla bana her zaman bir yol gösteren, hayat tecrübeleriyle beni yönlendiren, bilimsel ve teknik desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Cahit KALKAN'a teşekkür ederim.

Doktora süresince teorik ve klinik eğitimi olarak yetişmemde önemli katkıları olan Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ali RİŞVANLI, , Prof. Dr. Halis ÖCAL, Prof. Dr. Muhterem AYDIN ve Prof. Dr. Hamit YILDIZ'a teşekkür ederim.

Doktora sürecinde saha ve laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği veren başta Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Fatih Ahmet KORKAK'a, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Akif KILINÇ'a, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Öznur YILMAZ'a Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Dr. Arş. Gör. Eda ÇOBAN ERCAN'a, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Arş. Gör. Mert TURANLI'ya, Veteriner Hekim Muhammed UZ ve Ali Coşkun DEMİRTAŞ'a teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel analizleri aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Cemal G. ORHAN'a ve Balıkesir Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Yasin BAYKALIR'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Her zaman iyilik ve doğruluktan yana olmamı sağlayan, hayatımdaki kolay ve zorlu tüm süreçlerde maddi ve manevi olarak benden desteğini esirgemeyen, her daim yanımda olan eşim, annem, babam ve kardeşime de teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Bu tezi, 1210872 no'lu proje ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na da ayrıca teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	II
ETİK BEYAN	III
İTHAF	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VII
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
KISALTMALAR LİSTESİ	XIII
1.ÖZET	XV
2.ABSTRACT	XVII
3. GİRİŞ	1
3.1. Genel Bilgiler	2
3.1.1. Memenin Savunma Sistemi	2
3.1.1.1. Doğal Bağışıklık	2
3.1.1.2. Kimyasal Savunma Sistemi	4
A. Lizozim	4
B. Laktoferrin	4
C. Laktoperoksidaz	4
3.1.1.3. Kazanılmış (Edinsel- Adaptif) Bağışıklık	4
3.1.2. Meme Lenfatik Sistemi	6
3.1.3. Mastitis ve Sınıflandırılması	7
3.1.3.1. Perakut Mastitis	8
3.1.3.2. Akut Mastitis	8
3.1.3.3. Subakut Mastitis	8
3.1.3.4. Kronik Mastitis	8

3.1.3.5. Subklinik Mastitis	9
3.1.4.Mastitise Neden Olan Bakterilerin Etiyolojisine Göre Sınıflandırılması	10
3.1.4.1. Kontagiyöz Mastitis Etkenleri	10
3.1.4.2. Çevresel Mastitis Etkenleri	11
3.1.4.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar	12
3.1.5.Mastitis Tanı Yöntemleri	13
3.1.5.1. Somatik Hücre Sayısı (SHS)	14
3.1.5.2. California Mastitis Test (CMT)	15
3.1.5.3. Elektrik İletkenliği (EC)	17
3.1.5.4. Mastitis Tanısında Enzim, Peptit ve Biyobelirteçler	17
3.1.5.5. Akut Faz Proteinleri	18
3.1.5.6. Mikrobiyolojik Analiz	21
3.1.6.Meme Ultrasonografisi	22
3.1.7. Ekotekstür Analizi	24
3.1.7.1. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri İçin Programlar	25
3.1.7.2. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri	25
3.1.7.3. Ultrasonografik Görüntülerin Analiz Edilmesi	29
4. GEREÇ VE YÖNTEM	32
4.1. Gereç	32
4.1.1. Hayvan Popülasyonu ve Araştırma Bölgesi	32
4.1.2. CMT Uygulaması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması	32
4.2. Yöntem	34
4.2.1.Elektrik Direncinin Ölçülmesi	34
4.2.3.Somatik Hücre Sayısı Ölçümü	34

4.2.4.Supramammar Lenf Yumrusu Görüntülerinin Alınması ve Ekotekstür Analizlerinin Yapılması	35
4.2.5.Süt Amiloit A Düzeylerinin Ölçülmesi	36
4.2.6.İstatistiksel Analizler	36
5.BULGULAR	38
6.TARTIŞMA ve SONUÇ	58
7.KAYNAKLAR	64



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. CMT skoru bulgularının değerlendirilmesi (68).....	16
Tablo 2. Gruplara ait SHS, MAA ve SED değerleri. (n=84)	38
Tablo 3. Supramammar Lenf Yumrusu Ekotekstür Analizi Değerleri.....	42
Tablo 4. Ekotekstür parametreleri, SED, SHS ve MAA'nın korelasyonları.	51



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Bulaşıcı ve çevresel mikroorganizmalar nedeniyle enfekte olmuş bir memede mastitisin gelişimi (38).....	10
Şekil 2. Image J programı.....	25
Şekil 3. ROI Alanlarının Belirlenmesi.....	29
Şekil 4. Histogram Analizi.....	30
Şekil 5. Ekotekstür Analizi Değerlerinin Alınması.....	30
Şekil 6. CMT Ayracı ve Test Kabı.....	33
Şekil 7. Sütün Elektrik Direncini Ölçmede Kullanılan Draminski Mastitis Dedektörü.....	34
Şekil 8. Delaval SHS Ölçüm Cihazı ve Kaseti.....	35
Şekil 9. USG Görüntülerinin Ibex Pro İle Alınması ve Image J Programıyla Ekotekstür Analizi.....	36
Şekil 10. Gruplar Arası Somatik Hücre Sayısı (hücre/ml) Dağılımı (***: $P < 0,001$).....	39
Şekil 11. Gruplar Arası MAA (ng/ml) Düzeyleri (***: $p < 0,001$).....	40
Şekil 12. Gruplar Bazında Sütün Elektrik Direnci (ohm) Düzeyleri (***: $p < 0,001$).....	41
Şekil 13. Gruplar bazında ASM değerleri ($p > 0,05$).....	43
Şekil 14. Gruplar Bazında CON Değerlerinin Dağılımı ($p > 0,05$).....	44
Şekil 15. Gruplar Bazında Korelasyonun Dağılımı ($p > 0,05$).....	45
Şekil 16. Gruplar Bazında HOM Dağılımı ($p > 0,05$).....	46
Şekil 17. Entropi Verilerinin Gruplar Bazında Dağılımı ($p > 0,05$).....	47
Şekil 18. Gruplar Bazında MGL Dağılımı ($p > 0,05$).....	48
Şekil 19. Ekotekstür parametreleri, SHS, SED ve MAA ilişki grafikleri.A: Enerji – SHS, B: Kontrast – SHS, C: Homojenite – SHS, D: Entropi – SHS, E: Ortalama gri değer – SHS, F: MAA – SHS, G: SED – SHS, H: SED –	

MAA. Değerler Pearson korelasyon ile değerlendirilmiştir. ($p < 0,05$). SHS: Somatik hücre sayısı; SED: Süt elektrik direnci; MAA: Süt amiloit A. 50

Şekil 20. Enerji için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis. 52

Şekil 21. Kontrast için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis. 53

Şekil 22. Korelasyon için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis..... 54

Şekil 23. Homojenite için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis..... 55

Şekil 24. Entropi için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis. 56

Şekil 25. Ortalama gri değer için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis. 57

KISALTMALAR LİSTESİ

° C	: Santigrat Derece
AA	: Amiloit A
AFP	: Akut Faz Proteinleri
AP	: Alkalın Fosfataz
ASM	: Angular Second Moment, Enerji
BMP	: Bitmap
CMT	: Kalifornia Mastitis Test
CMT (-)	: Kalifornia Mastitis Test Negatif
CMT (+)	: Kalifornia Mastitis Test Pozitif
CON	: Kontrast
CRP	: C- Reaktif Protein
EC	: Elektrik İletkenliği
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi
GR	: Gradient
HOM	: Homojenite
Hp	: Haptoglobin
Ig	: İmmüoglobulin
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokoklar

LDH	: Laktat Dehidrojenaz
LPO	: Laktoperoksidaz
MAA, MSAA3	: Süt Amiloit A
MGL	: Ortalama Gri Değer
NK	: Naturel Killer, Doğal Öldürücü Hücreler
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMN	: Polimorf Nükleer Nötrofiller
ROC	: Receiver Operating Charateristic, Alıcı İşlem Karakteristikleri
ROI	: Region Of İnterest, Seçili İlgili Alan
SAA	: Serum Amiloit A
SED	: Sütün Elektrik Direnci
SHS	: Somatik Hücre Sayısı
USG	: Ultrasonografi

1.ÖZET

İneklerde Supramammar Lenf Yumrusunun Ekotekstürü İle Mastitis

Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Ultrasonografi (USG) görüntülerinin dijital ortamda işlenmesiyle ekotekstür analizleri yapılmaktadır. Sunulan tez supramammar lenf yumrusunun ekotekstürüyle mastitis arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yapıldı.

Tez çalışmasında 252 inek materyal olarak kullanıldı. Çalışmada, California Mastitis Test (CMT) ve süt elektrik direnci (SED) ölçümleri yapılarak supramammar lenf yumrusunun USG görüntüleri alındı. Yapılan klinik muayene ve skorlamayla hayvanlar CMT (-) (n=84), CMT (+) (n=84) ve klinik mastitis (n=84) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Numunelerden somatik hücre sayısı (SHS), SED ve ticari ELISA kitiyle süt amiloit A (MAA) ölçümleri yapıldı. Ekotekstür analizleri için USG ile alınan lenf yumrusu görüntüleri elektronik ortama aktarılarak, Bitmap (BMP) görüntü formatına çevrildi. *Image J* programıyla BMP formatındaki lenf yumrusu görüntülerinin ilgili alanları (ROI) belirlenerek, ortalama gri değeri (MGL), kontrast (CON), homojenite (HOM), enerji (ASM), entropi ve korelasyon parametreleri elde edilerek değerlendirildi.

Analizler sonucunda SHS ve MAA düzeyleri, CMT (-) grubunda en düşük bulunurken klinik mastitis grubunda diğer iki gruba göre daha yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı ilişkileri tespit edildi ($p<0,001$). Süt elektrik direncinde klinik mastitis grubunun CMT (+) ve CMT (-) gruplarına göre istatistiksel olarak daha düşük seyrettiği görüldü ($p<0,001$). Diğer tanı yöntemlerinin ekotekstür parametreleriyle ilişkisi değerlendirildiğinde, CON'un SHS ve SED'le negatif, MAA ile pozitif yönde, ASM, SHS ve SED'le negatif, MAA ile pozitif yönde

farklılıkları tespit edildi. HOM'un MAA ile farkı bulunmazken, SHS ile negatif, SED'le pozitif yönde farklılıkları bulundu. SHS ve MAA arasında korelasyon bulunmazken, SED'le pozitif yönde farkı bulundu. Ortalama gri değer ve entropinin, MAA ile anlamlı bir ilişkisi olmadığı, SHS ile pozitif, SED'le negatif yönlü ilişkisi olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Sonuç olarak, meme ve supramammar lenf yumrususunun ultrasonografisiyle ekotekstür analizlerinde, daha çok örneklem sayısı ile değer aralıklarının belirlenmesi gerektiği ve bundan sonraki çalışmalara kaynak oluşturarak konuyla ilgili daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği görüşüne varıldı.

Anahtar kelimeler: Ekotekstür, Mastitis, Supramammar lenf yumrusu, İnek

2.ABSTRACT

Evaluation of the Relationship Between Supramammary Lymph Node Echotexture and Mastitis in Cows

Echotexture analyzes are performed by processing ultrasonography (USG) images in digital environment. The present thesis was conducted to investigate the relationship between the echotexture analysis of supramammary lymph nodes and mastitis.

In the thesis study, 252 cows were used as material. In the study, California Mastitis Test (CMT) and milk electrical resistance (SED) measurements were made and USG images of the supramammary lymph node were taken. With the clinical examination and scoring, the animals were divided into three groups as CMT (-) (n=84), CMT (+) (n=84) and clinical mastitis (n=84). Somatic Cell Count (SHS), SED and milk amyloid A (MAA) measurements were made from the samples with the commercial ELISA kit. For echotexture analysis, lymph node images taken by USG were transferred to electronic media and converted to Bitmap (BMP) image format. Relevant areas (ROI) of lymph node images in BMP format were determined with *Image J* program and evaluated by obtaining mean gray value (MGL), contrast (CON), homogeneity (HOM), energy (ASM), entropy and correlation parameters.

Result of the analysis, SHS and MAA levels were found to be the lowest in the CMT (-) group, while they were found to be higher in the clinical mastitis group compared to the other two groups, and statistically significant relationships were found ($p < 0.001$). It was observed that the clinical mastitis group was statistically lower than the CMT (+) and CMT (-) groups in milk electrical

resistance ($p < 0.001$). When the relationship between other diagnostic methods and echotexture parameters was evaluated, it was determined that CON had negative differences with SHS and SED, positive differences with MAA, negative differences with ASM, SHS and SED, and positive differences with MAA. While there was no difference between HOM and MAA, there were negative differences with SHS and positive differences with SED. While there was no correlation between SHS and MAA, a positive difference was found with SED. It was determined that mean gray value and entropy did not have a significant relationship with MAA, but a positive relationship with SHS and a negative relationship with SED ($p < 0.05$).

As a result, it was concluded that in echotexture analyzes of udder and supramammary lymph nodes by ultrasonography, value ranges should be determined with more sample numbers and more comprehensive studies on the subject should be done by creating a source for future studies.

Key words: Echotexture, Mastitis, Supramammary lymph node, Cow

3. GİRİŞ

Yeterli ve dengeli olarak beslenmede hayvansal kökenli protein kaynaklarından süt ve süt ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Gıda sektörünün önemli unsurlarından biri olan sütün %90'lık kısmı süt sığırlarından elde edilmektedir (1). Süt ürünlerine yönelik artan küresel talep, inek başına ortalama süt verimini artırma arayışlarına neden olmuştur (2). Yüksek süt verimini etkileyen en büyük sorunlardan biri, özellikle sağım ve meme hijyeninin yetersizliğine bağlı oluşan mastitistir (3). Meme bezi iltihabı olarak bilinen mastitis, süt endüstrisinde verimin düşmesi ve sütün kalitesiz olması nedeniyle ekonomik kayıplara yol açan önemli bir hastalık olarak kabul edilmektedir (4-7). Süt sektörü de mastitis nedeniyle ağır ekonomik kayıplarla karşı karşıyadır. Süt ineklerinde mastitis, artan somatik hücre sayısı (SHS) nedeniyle süt verimi ve kalitenin düşmesine neden olmaktadır (8). Mastitis sadece memeyi etkilemekle kalmaz, aynı zamanda erken laktasyon sırasında hayvanların üreme verimliliğini de olumsuz yönde etkiler (9). Temel olarak tedavi maliyetleri ve süt verimindeki düşüşle birlikte ilaç kullanımı sonrası arınma süresi, kullanılmayan sütlerin finansal maliyeti ve hayvan refahı üzerinde ciddi bir olumsuz etkiye sahip olduğu bilinmektedir (10). Dünya çapında süt endüstrisindeki ekonomik kayıpların en önemli nedenlerinden biri, mastitisten etkilenen sütün kalite ve miktarının düşüklüğüdür. Süt üretimi sırasındaki ekonomik kayıpların yaklaşık %70'i tek başına mastitise bağlanmıştır. Mastitis nedeniyle hayvancılık sektöründe artan girdiler, çiftçilerin geçimini olumsuz etkilemektedir (11). Bu nedenle, ekonomik kayıpları önlemek hayvanların meme sağlığını korumak için erken evrede mastitis teşhisi gereklidir.

3.1. Genel Bilgiler

3.1.1. Memenin Savunma Sistemi

Meme bezi, meme başı deliği ve kanalı dış ortamla ilişki halindedir. Bu ilişki memede enfeksiyona yol açan etkenlerin meme içine girişine aracılık etmektedir. Mastitis, meme dokusundaki bağışıklık sisteminin etkinliğinin değişmesine bağlı olarak oluşabilmektedir. Meme savunma sistemi, hücre ve molekül sistemleri birleşiminden oluşan bir yapıya sahiptir (12). Bu sistem, doğal ve edinsel (kazanılmış) bağışıklık olmak üzere iki kategoride sınıflandırılmaktadır (13).

3.1.1.1. Doğal Bağışıklık

Doğal bağışıklık, mastitise neden olan patojenlere karşı ilk savunma mekanizmasıdır. Etkenlerle ilk maruziyetten sonra çok kısa süre içerisinde meydana gelen hızlı bir aktivasyon ile karakterizedir. Bu savunma mekanizması sütte veya meme dokusunda herhangi bir değişiklik olmadan etkenleri nötralize edebilmektedir. Ancak, doğal bağışıklık, bakterileri tanıyan bellek sistemleri olmadığından tepkileri spesifik değildir ve uzun süreli savunma sağlayamazlar (12). Doğal bağışıklık, anatomik (mekanik) savunma, makrofajlar, nötrofiller, *Naturel killer* (NK) ve bazı salgı maddeleriyle sağlanmaktadır (13).

Meme başı derisi, meme başı sfinkteri, meme başı keratini ve Fürstenberg rozeti anatomik savunma sistemini oluşturmaktadır (14). Bu sistem, patojen etkiye sahip bakterilerin memeye girişini önleyen ilk savunma hattıdır (13). Meme başı deliği ve kanalını oluşturan kasların oluşturduğu sfinkter sağımlar arasında meme başı kanalını sıkıca kapatarak bakterilerin girişini engeller (14). Meme başı kanalı, keratin denilen mumsu tabaka ile kaplıdır. Bu tabaka bakterilerin memeye

girişinde fiziksel bir engel oluşturmanın yanı sıra yapısında bulunan yağ asidi bileşenleri sayesinde bakteriyostatik ve bakterisit etkiye de sahiptir (12).

Meme başı anatomik savunma engelini aşan ektenler, hücrel savunmayla karşılaşılır. Doğal bağışıklık içinde yer alan makrofajlar, nötrofiller ve NK hücreleri görev alır. Bu hücreler edinsel (kazanılmış) bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde de rol alırlar (13). Makrofajlar, sağlıklı memede en fazla bulunan hücrelerdir (14). Bakterileri, hücrel artıkları ve biriken süt bileşenlerini fagosite etme yeteneğindeki hücrelerdir (14). Makrofajların aktiviteleri, patojenlere karşı şekillenmiş opsonik antikorlarla arttırılabilir (13, 14). Nötrofiller çok parçalı çekirdeğe sahip, lizozomal granüler yapıdaki hücrelerdir (14). Sağlıklı bir memede %5-20 arasında nötrofiller bulunmaktadır (14, 15). Mikroorganizmalar tarafından üretilen özel kimyasal habercilerin etkisiyle bölgeye çağrılır. Nötrofillerin başlıca görevi mikroorganizmaları yıkımlamak ve fagosite etmektir (13). Doğal öldürücü hücreler (NK), antikora bağlı hücre aracılığıyla sitotoksik etki gösteren yapılardır (14). Doğal öldürücü hücreler, hücre moleküllerini tanımlayan reseptörlere sahiptir ve bireye özgü çekirdekli hücrelerde taşınan MHC sınıfı molekülleri için özgüllük göstermektedir (13). Doğal öldürücü hücreler, antikorlara ve komplement sistem aktivasyonuna ihtiyaç duymadan tümöral hücreleri ve virüsle enfekte hücreleri sitotoksik etkileriyle öldürmektedir (14, 16).

3.1.1.2. Kimyasal Savunma Sistemi

A. Lizozim

Süt kanallarının epitelleri tarafından salgılanan yapıdır (14). Bu enzim gram negatif bakterilerin dış membranıyla gram pozitif bakterilerin duvarındaki peptidoglikanların ayrılmasında rol alan bakterisidal etkili proteindir (13, 14).

B. Laktoferrin

Laktotransferrin olarak da tanımlanan, demire bağlanma ve demiri taşıma yeteneği olan bir glikoproteindir. Süt bezi epitel hücreleri ve lenfositler tarafından sentezlenmektedir (14, 17). Bakterilerin solunum enzimleri için gerekli olan demiri bağlayarak üreme ve beslenmelerini durduran laktoferrin, bakteriyostatik özelliğiyle memeyi korumaktadır (14). Ayrıca, laktoferrinin bakterisit ve antifungal etkilerinin olduğu da bildirilmektedir (13). Laktoferrin, lenfosit proliferasyonu, lökositlerin sitotoksik aktivitelerini düzenlemesinde de rol almaktadır (12, 14).

C. Laktoperoksidaz

Tiyosiyanat ve hidrojen peroksit varlığında *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik, *Escherichia coli* gibi gram negatif bakterilere karşı ise bakterisit etkiye sahiptir (13, 14). Bakterilerin hücre zarında glikoz taşınmasından sorumlu olan sülfidril gruplarını değiştirerek etkisini göstermektedir.

3.1.1.3. Kazanılmış (Edinsel- Adaptif) Bağışıklık

Doğuştan gelen bağışıklıktan gelen doğal yanıtın aksine, kazanılmış bağışıklık, antijenler olarak adlandırılan bakteriyel patojenlerle ilişkili spesifik

faktörlere karşı bağışıklık tepkilerini ortaya çıkarmaktadır (12). Bir antijenle birden fazla karşılaşıldığında, immünolojik hafızanın bir sonucu olarak artan bir immün reaktivite durumu ortaya çıkar. Bu nedenle, bir hafıza tepkisi, belirli bir antijene ilk maruz kalmaya kıyasla çok daha hızlıdır, oldukça güçlüdür, daha uzun sürer ve patojenleri yok etmede daha etkilidir (12). Kazanılmış bağışıklığın hücrel savunma kısmını T ve B lenfositleri oluşturur. Lenfositler, antijenlere özgü reseptör taşıyan hücrelerdir (13). T lenfositler, $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ olarak iki gruba ayrılmaktadır (14). Meme bezinde $\alpha\beta$ T lenfositler daha fazla oranda bulunur ve bunların çoğunluğunu CD8+ hücreleri oluşturur (13, 14). Mastitisin şekillenmesiyle birlikte memede CD4+ hücreleri yoğun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durum memedeki yangısal reaksiyonun kontrolü için homeostatik mekanizma ve immüitenin düzenlenmesinde rol oynayabileceği belirtilmektedir (13). Oluşan bu mekanizmanın, CD4+ hücrelerinin sayısının artmasıyla oluşan negatif *feedback* ile sağlanmaktadır (18). Patojenlere karşı savaşan antikörleri üreten B lenfositler, hem antijen sunan hem de spesifik antijenlere cevap oluşturabilen yapılardır (13, 14). B lenfositler immünoglobulinlerin (Ig) tek kaynağı olduğu için memenin korunma mekanizmasında önemli rol oynarlar (19). Makrofaj ve nötrofillerden farklı olarak patojenleri tanımak için üzerlerindeki reseptörleri kullanırlar (12, 14). Böylece hücrelerin aktivasyonunun sağlanmasını ve hücrelerden salınan antikörlerin antijenleri bağlayarak patojenlerin tahribatına neden olurlar (13).

Humoral savunma sistemi içerisinde yer alan Ig, antikör aktivitesini gösteren ve antijenlerle birleşebilme, reaksiyona girebilme özelliğinde olan glikoprotein yapılı moleküllerdir. Mastitise karşı savunmada, IgG₁, IgG₂, IgA ve

IgM olmak üzere dört çeşit Ig rol almaktadır. Laktasyon ve enfeksiyon durumuna göre Ig düzeyleri değişiklik göstermektedir. Sağlıklı memede IgG₁ yüksek düzeydeyken, mastitis olgularında IgG₂ düzeyi yükselmektedir. IgA ve IgM plazma hücreleri tarafından salgılanırlar. IgA düzeyinin düşük olduğu belirtilse de, her zaman var olduğu ancak işlevsel olmadığı bildirilmektedir. İmmunoglobülinler, opsonin yardımıyla bakterilerin fagositoza duyarlı hale getirilmesini (opsonizasyon) sağlayarak ve antitoksin olarak görev yapmaktadırlar (12-14).

3.1.2. Meme Lenfatik Sistemi

Meme lenf sistemi, lenf yumruları (lenfonodili inguinalis süperfisiyalis, lenfonodili mammarii) ve lenf damar ağından oluşmaktadır. Lenf damar ağı, meme dokusu sıvılarındaki lenf ve yağı öncelikle meme lenf yumrusuna (lenfonodili mammarii), kısmen de Lenfonodili iliyasi mediyalis ve Lenfonodili subiliyakus'a iletmektedir (20). Periferel bağışıklık sistemi organları olarak meme lenf yumruları, süt ineklerinde memenin arka-üst yan (posterosuperior) kısmında subkutan olarak bulunur (21). Meme lenf yumrusunu meme bazisinin kaudalinde pelvisin ventral duvarında palpe etmek mümkündür. Bu yumrular 1-3 adet arasında olabilir ve genelde 1 büyük yumrunun yanında 1-2 adet küçük yumruya da rastlanılabilir. Büyük yumrular 6-10 cm uzunlukta, 1-4 cm genişliğinde ve yaklaşık 1 cm kalınlığında olabilir. Küçük yumrular ise 3-5 cm uzunlukta, 0.5-2 cm genişliğinde gözlenebilirler. Meme başı bazisinde farklı büyüklük ve sayılarda, daha küçük lenf yumruları dikkat çeker. Bunlar lenfonodili intramammarii olarak isimlendirilirler. Lenf damarları, deri altında yüzeysel olarak ya da derin parankim dokuda seyredirler. Subkutan lenf damar çaplarının

5-7 mm olduğu belirtilmektedir. Lenf damarları meme başı bazisinden meme lobu bazisine doğru seyrederek memenin ana lenf yumrusuna (Lenfonodili mammarii) kanalize olurlar (22). Süt verimi yüksek inek ve düvelerde, doğum öncesi ve sonrası 10-14.günlerde, farklı derecelerde sıvı toplanması sonucu fizyolojik meme ödemi şekillenmektedir. Meme ödeminin meydana gelmesinde damar duvarlarındaki permeabilite değişikliğine bağlı olarak, lenf sıvısının ekstrasellüler boşlukta toplanmasının rol oynayabileceği bildirilmektedir (20). Lenf yumrularının meme bağışıklığının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (23).

3.1.3. Mastitis ve Sınıflandırılması

Mastitisin oluşumunda, genellikle primer ve sekonder faktörler rol oynar. Primer faktörler arasında çeşitli bakteri, virüs, bazı mikotik ve paraziter ajanlar bulunmaktadır (24). Sekonder faktörler arasında konakçı ile ilgili faktörler (büyük meme lobları, gevşek meme başı sfinkterleri, immün yetmezlik ve laktasyon dönemi) ve çevresel faktörler (uygun sağım yönteminin uygulanmaması, barınakların aşırı kalabalık olması) belirtilebilir (25-29).

Bakteriyel etkenler göz önüne alındığında hastalığa majör (bulaşıcı) ve minör (çevresel) patojenlerin neden olduğu bildirilmektedir. Başlıca patojenler arasında *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, çeşitli *Mycoplasma türleri* ve *Escherichia coli*; minör patojenler arasında koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), çeşitli *Corynebacterium Pasteurella* ve *Enterobacter türleri* ile bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler sayılabilir (28, 30-33). Bu sınıflandırmalar farklı kaynaklarda farklı şekillerde olabilmektedir.

Mastitis olguları klinik yönüyle sınıflandırmada 5 gruba ayrılır.

3.1.3.1. Perakut Mastitis

Seyrek olarak rastlanılan bir mastitis formudur. Memede yangı semptomları ve genel durum bozukluğu ile karakterizedir. Hayvanda depresyon, taşikardi, solunum sayısında artış, koordinasyon bozukluğu, ekstremitelerde soğuma, pupilla refleksinde düşme, vücut ısısının 41-42° C derecelere kadar artışı, dehidrasyon ve ishal gözlenir (34). Bu duruma sebep olan mikroorganizmalar, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* ve *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır (35).

3.1.3.2. Akut Mastitis

Akut mastitiste en sık görülen klinik belirtiler memenin şiş, sert ve ağrılı olmasıdır. Sütte pıhtı içerebilen fiziksel değişiklikler görülebilir ve süt sulu olabilir. Aynı zamanda hayvanda genel durum bozukluğu gözlenir. Akut mastite neden olan en yaygın organizma koliform organizmalardır (35).

3.1.3.3. Subakut Mastitis

Subakut mastitiste, etkilenen hayvanlarda genel durum bozukluğu yoktur. Ancak etkilenen hayvanın sütü, süt kültürü ile tespit edilebilen değişiklikler gösterir. Sütte renk değişikliği, pıhtılaşma ve flakonlar karakterizedir (34, 35).

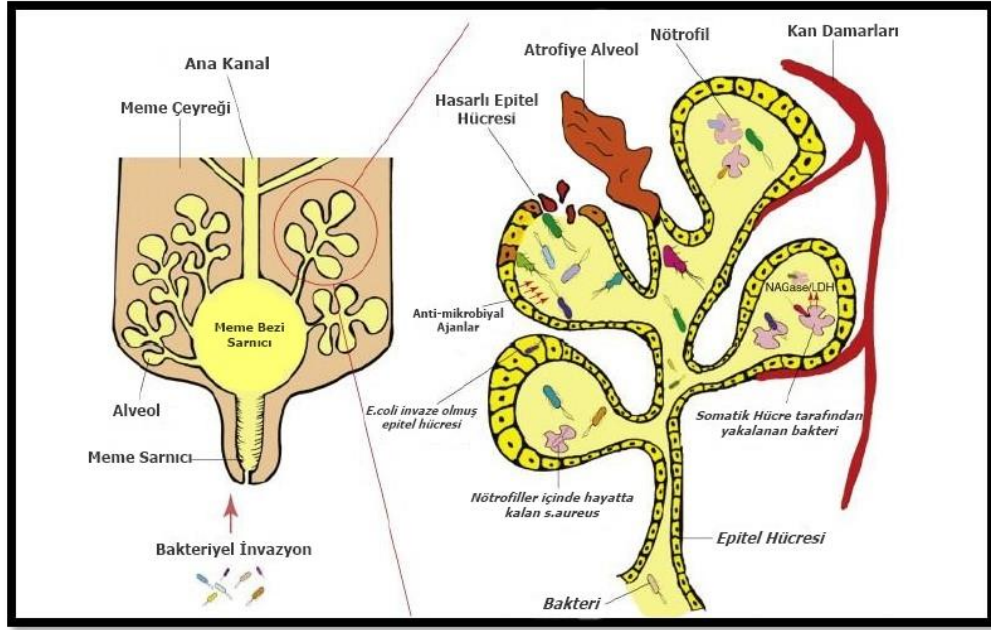
3.1.3.4. Kronik Mastitis

Kronik mastitise neden olan en yaygın bakteriler koagülaz negatif *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus uberis*'tir. Sütte sarımsı sıvı veya pıhtılarla beyazlık gibi fiziksel değişiklikler gözlenebilir. Bazen süt yeşil veya sarı-yeşil görünür ve kötü kokuludur. Meme parankimi, yaygın fibrozis nedeniyle

sertleşerek nodüler hale gelebilir veya atrofik olmaya ilerleyebilir. Mastitisin kronik evresi CMT ile tespit edilebilir. Kronik mastitis vakalarında somatik hücre sayısı hızla artarken hayvanın genel durumunda bir bozukluk gözlenmez. Kronik mastitislerin etki derecesi, dokuda bulunan mikroorganizmaların türüne, stres ve diğer faktörlere bağlıdır. Genellikle subklinik ve akut mastitisler sonrası ortaya çıktığı da bildirilmektedir (34, 35).

3.1.3.5. Subklinik Mastitis

Memedeki patolojik değişiklikler ve sütteki fiziksel değişiklikler belirgin değildir. Gözle görülemeyen fakat dokuya giren mikroorganizmalara karşı meme savunma sisteminin oluşturduğu yangı hücrelerinin belirlenmesine yönelik değişik test yöntemleri kullanılarak varlığı saptanan bir yangı seyridir. Subklinik vakalarda süt üretimi %30'a varan oranda azalmaktadır. Klinik mastitislere göre 15-40 kat daha fazla rastlanır. Kısa sürede tespit edilip tedavi başlatılmazsa rezervuar fonksiyonu görerek sürüdeki diğer hayvanlara bulaştırma açısından tehdit unsuru oluşturabilmektedir. Subklinik mastitise sahip hayvanlar genellikle tam potansiyellerinde süt üretemezler. Sonuçta sağlıklı memeler için potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olabilirler. Enfeksiyonun uzun süre devam etmesi durumunda, oluşan fibröz dokunun mikroorganizmalar ile antibakteriyel ajanlar arasında bariyer oluşturması sebebiyle antibakteriyel ajanların etkinliklerini sınırlayabilir. Subklinik vakalara neden olan en yaygın patojenler Streptokoklar ve *Staphylococcus aureus* 'tur (34-37).



Şekil 1. Bulaşıcı ve çevresel mikroorganizmalar nedeniyle enfekte olmuş bir memede mastitisin gelişimi (38).

3.1.4. Mastitise Neden Olan Bakterilerin Etiyolojisine Göre Sınıflandırılması

3.1.4.1. Kontagiyöz Mastitis Etkenleri

Enfeksiyöz ajanlar arasında bakteriyel patojenler meme bezi için büyük bir tehdittir. Bu mikroorganizmalar genellikle bulaşıcıdır, süt ineklerinin çevrelerinde geniş çapta dağılırlar ve bu nedenle meme içi enfeksiyonların prevalans oranını arttırlar (37). Mastitise neden olan kontagiyöz etkenlerin sağlıklı hayvanların meme ve meme başı derisinde bulunan ve meme başı kanalı açık olduğunda memeye invaze olarak mastitise yol açan etkenler olduğu; ayrıca meme derisinin hasar gördüğü (örneğin; meme başı derisi çatlakları) durumlarda bu mikroorganizmaların daha fazla çoğalarak meme derisinde kolonize olurlar. Bulaşıcı mastitisin kaynakları enfekte ineklerdir ve bulaşma ineklerden ineklere, özellikle sağım sırasında sağım ekipmanı, sağımcının elleri ve kirli bezler aracılığıyla olmaktadır. Başlıca bulaşıcı patojenler *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* ve *Mycoplasma* türleridir. Bunlar

arasında *S.aureus*, şu anda dünya çapında subklinik ve kronik sığır mastitisinde en sık izole edilen bulaşıcı patojendir (39). Bu bakteriler, iyi meme hijyeni, uygun sağım prosedürleri dahil olmak üzere sağım sırasında bakterilerin yayılmasını önleyen prosedürlerle etkili bir şekilde kontrol edilebilir. Sağımda meme dezenfeksiyonunun uygulanması, kuru dönem tedavisinin uygulanması, erken kuru dönemde mevcut enfeksiyonların ortadan kaldırılmasına ve yeni enfeksiyonların önlenmesine yardımcı olabileceği bildirilmektedir (37).

3.1.4.2. Çevresel Mastitis Etkenleri

Çevresel mastitise, normalde deri yüzeyinde veya memede yaşamayan, ancak ineğin kontamine bir ortamla temas ettiğinde meme kanalına giren organizmalar neden olur (40). Çevresel patojenlerin birincil kaynağı, bir ineğin yaşadığı çevredir (41). Çevresel mastitise neden olan patojenler (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysvcagalactiae*, koliformlar vb.) altlık, döşeme, dışkı gibi çevresel etmenlerle genellikle ineğin laktasyonunun herhangi bir döneminde bulaşır. Bu bulaşma sağım sırasında, sağım arasında, düvelerde kuru dönem boyunca ve özellikle ilk buzağılama sırasında oluşabilmektedir (42). Kapalı ahır şartlarındaki inekler, meradaki ineklere göre çevresel mastitis açısından daha büyük risk altındadır. Altlıklar, çevresel patojenlerin önemli bir kaynağıdır. Yataklardaki bulaşıcı bakteri yükü, ortamın sıcaklığına, nem seviyesine ve besin durumuna bağlıdır. Çevresel *Streptococci*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* ile enfeksiyonlar kuru dönemin başlarında daha sık görülür. Öte yandan, *Esherichia. coli* enfeksiyonları buzağılamadan hemen önce ve sonra ortaya çıkma eğilimindedir. Bu nedenle, yeni enfeksiyon riskini en aza indirmek için periparturient dönemde ineklerin kuru ve temiz yataklı bölümlerde tutulması ve

kullanılan altlık materyalinin niteliği çok önemlidir (40). Çevresel etkenlere bağlı meme içi enfeksiyonların laktasyondaki ineklerde özellikle sağımdan sonra meme başı kanalının tam kapanmadığı, keratin plak oluşmadığı süreçte; kuruya çıkarılan ineklerde ise kuru dönemin ilk evresinde meme başı kanalında keratin plakın henüz oluşmadığı meme içi basıncın çok fazla olduğu dönemde şekillenmektedir. Sağım sonrası meme başı kanalı kapanıncaya kadar laktasyondaki hayvanların yatmaması ayakta kalmasının, kuruya çıkarılan ineklere ise internal ya eksternal *teat sealing* uygulamalarının yapılması oldukça önemlidir.

3.1.4.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar

Bu gruptaki mikroorganizmalar *Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerini içerir. En yaygın fırsatçı mikroorganizmalar, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* ve *Staphylococcus epidermidis* 'tir. *Staphylococcus epidermidis* pıhtılaşan stafilokoklar olarak bilinir. Genellikle bu mikroorganizmalar memede saprofit olarak yaşar. Apatojenik bir mikroorganizma olan *Staphylococcus epidermidis*, subklinik mastitise neden olur. Sağım ekipmanlarında bulunabilen bu fırsatçı mikroorganizmalar fırsat bulduklarında meme başı kanalına yerleşerek memeye saldırarak memede enfeksiyon oluştururlar. Postpartum dönemde KNS'lerin neden olduğu mastitis olaylarına sıklıkla rastlanabilir. Bazı önemli mastitis patojenlerinin neden olduğu enfeksiyonlara karşı direncin, bu mikroorganizmaların bağışıklığı nedeniyle oluştuğu bildirilmiştir (43-46). Kirlenmiş sağım ekipmanı, toprak, kirli su ve gübrede bulunabilen *Pseudomonas aeruginosa* antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı dirençlidir ve sıklıkla subklinik mastitis olaylarına neden olduğu bildirilmiştir (34).

3.1.5.Mastitis Tanı Yöntemleri

Mastitis, süt bileşiminde değişikliklere yol açarak sütün kalitesini olumsuz etkiler. Somatik hücre sayısı yüksek ve kronik enfeksiyon bulunan meme loblarında alınan süt örneklerinin bakteriyolojik kültürleri, meme sağlığı bakımından oldukça iyi fikirler verir. Ancak subklinik mastitisin çok erken aşamada saptanması oldukça güçtür. Sahada mastitisi teşhis etmek için çeşitli geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler; sütün elektrik iletkenliğinin ölçülmesi, mikrobiyolojik analiz, SHS ve CMT olarak sıralanabilir. Sıralanan bu yöntemler sütün bileşimindeki değişiklikleri belirlemeye dayanmaktadır. Ayrıca, son zamanda tanı amacıyla bazı spesifik immünoassayler, proteomik yaklaşımlar ve kızılötesi termografi gibi yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllük ile ilgili bazı sınırlamaları olduğu bilinmektedir. Ayrıca mastitise özgü, hastalığın erken evresinde saptanması için kullanılabilir biyobelirteçler ve akut faz proteinleri tanımlanmıştır (38). Bu nedenle subklinik mastitisin erken evresinde saptanması çok önemlidir. Güvenilir ve uygun maliyetli teşhis yöntemleri olmadan meme sağlığı performansını izlemek oldukça zordur. Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) mastitis teşhisi için, meme lobunun SHS ve mikrobiyolojik durumunun ortaya konmasını tavsiye etmektedir (37). Bakteri meme bezine yerleşmeden önce tedaviyi mümkün olduğunca erken başlatmak için enfeksiyonun erken evresinde mastitis teşhisi koymanın oldukça önemli olduğu belirtilmektedir (47). Meme dokusundaki değişiklikler klinik bulgular oluşmadan daha erken gerçekleşmektedir. Bu nedenle mastitisin erken teşhisi önem taşımaktadır.

3.1.5.1. Somatik Hücre Sayısı (SHS)

Somatik hücreler esas olarak meme dokusunda süt salgılayan epitel hücrelerinde yaralanma veya enfeksiyona yanıt olarak meme bezine giren beyaz kan hücreleridir. Somatik hücreler %75 nötrofiller, makrofajlar, lenfositler, eritrositler ve %25 epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Sütteki epitel hücrelerinin oranı, toplam hücre popülasyonunun % 0-7 arasında değişebilmektedir (48). Temel olarak meme bezinden gelen epitel hücreleri, enfeksiyon sırasında süte geçer ve ardından SHS'de artış gözlenir. Sütte bulunan somatik hücrelerin başlıca işlevi enfeksiyonları yok etmek ve hasarlı dokuları onarmaktır. Somatik hücreler, ineklerin mastitise karşı hem direncinin hem de duyarlılığının göstergesidir. Sürülerde veya bireysel beslenen ineklerde subklinik mastitisin seviyesini veya oluşumunu izlemek için kullanılmaktadır (37). Somatik Hücre Sayısı, meme içi enfeksiyonun saptanmasında yardımcı bir kriterdir. Bu nedenle kalite, hijyen ve mastitis kontrolünün değerlendirilmesinde sütün önemli bir belirteçidir (37, 49). Bulaşıcı patojenler (*S. aureus*, *Strep. agalactiae*) genellikle daha fazla SHS artışına neden olmaktadır. Çevresel patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda SHS'nin, bulaşıcı patojenlere göre daha az yükseldiği belirtilmektedir (50). Somatik hücre sayımları, ineklerin meme sağlığı durumunu, sütün insan tüketimine uygunluğunu ve mastitis nedeniyle üreticilerin maddi kayıplarını tahmin etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (51). Somatik hücre sayısı subklinik mastitis teşhisinde altın standart olarak kullanılır ve çiftçilere ödenen sütün fiyatını etkilediği için süt endüstrisi için önemli bir parametredir. Bu nedenle SHS, sürülerde veya bireysel ineklerde subklinik mastitis/meme içi enfeksiyon düzeyini izlemek için gösterge olarak kullanılmaktadır. Bu duruma

bağlı olarak, SHS'nin belirlenmesi, kalite, hijyen ve mastitis kontrolünün değerlendirilmesi için sütün önemli bir standardıdır (52). Sağlıklı ve enfekte meme arasında ayırım yapmak için optimum SHS seviyesi 200,000 hücre/ml olarak önerilmiştir (53). Bu nedenle, 200.000 hücre/ml'lik eşik değerleri, subklinik mastitisin tanımlanması için dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (54-56). Son araştırmalar, SHS <100.000/ml olan memelerde bile yüksek oranlarda polimorfonükleer nötrofillere (PMN) dayalı yangısal reaksiyonların olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, somatik hücre sayımının yanı sıra, memenin sağlık durumunu belirlemek için sütteki bireysel immün hücre popülasyonlarının da bir belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (55, 57-59). Bu durumun enfekte hayvanların taranması için yeni bir yöntem olabileceği belirtilmektedir (60).

3.1.5.2. California Mastitis Test (CMT)

Schalm ve Noorlander tarafından geliştirilmiş olan CMT, somatik hücre sayılarının kalitatif ve dolaylı ölçümü için yaygın olarak kullanılan bir tanı tekniğidir (61-63). California mastitis test, sütçü işletmelerde memenin sağlık durumu ve süt kalitesini belirlemek ve mastitis taraması için yaygın olarak kullanılan basit, hızlı ve ekonomik bir testtir (64). Aynı zamanda CMT'nin, subklinik mastitis için güvenilir bir tarama testi olduğu belirtilmektedir (37). Test, somatik hücrelerle reaksiyona giren ve nükleik asidi jel oluşturmak üzere çökeltin bir deterjan karışımından oluşur. Burada çökeltme ve viskozite yoğunluğu sütteki SHS ile mastitise neden olan bakteri türünü tanımlamasa da, CMT yüksek SHS'ye sahip sürüleri belirlemede oldukça pratik ve hızlı bir testtir. Bir reaktif ile hücre çekirdeğinin DNA'sı arasındaki reaksiyon derecesi, bir süt numunesindeki SHS'yi gösterir. Ancak, her CMT skorundaki SHS değerlerinde yüksek derecede

değişkenlik nedeniyle SHS değerleri ile CMT arasındaki ilişkinin yanlış pozitif veya negatif sonuçlar verebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (37). *California Mastitis Test*, SHS'nin dolaylı bir tahminini verir. Çünkü bu durum, hücrelerin nükleik asidi ile bir deterjan reaktifi arasındaki jelleşme reaksiyonuna dayanır. CMT, subklinik mastitis teşhisi için diğer saha ve kimyasal testlerden daha pratik, verimli ve güvenilir olduğu için birçok araştırmada ilk tanı seçeneği olarak kullanılmaktadır (42). Birçok araştırma, CMT'nin memenin sağlık durumunu bilmedeki hızı ve doğruluğu nedeniyle seçeneklerden biri olmaya devam ettiğini göstermiştir (65-67).

Tablo 1. CMT skoru bulgularının değerlendirilmesi (68).

CMT skoru	Tanım	Somatik hücre sayısı /ml	Mastitis derecesi
Negatif (-)	Çökelti ve kıvamda bir değişiklik görülmez.	0 - 200.000	Sağlıklı
Şüpheli	Hafif bir yapışkan kat gözlenir, dairesel harekette sıvı forma dönüşür	200.000 – 400.000	Subklinik mastitis
1	Belirgin bir jelimsi oluşum vardır, CMT kabı eğildiğinde süt karışımı altında ince bir kat gözlenir.	400.000 – 1.200.000	Subklinik mastitis
2	CMT kabı düzlemde çevrildiğinde belirgin bir jel tabakası gözlenir.	1.200.000–5.000.000	Şiddetli subklinik mastitis
3	Jelleşme ve merkezde oluşan bir tümsek gözlenir ve tümsek kaybolmaz.	>5.000.000	Şiddetli subklinik mastitis

3.1.5.3. Elektrik İletkenliği (EC)

Son kırk yılda elektrik iletkenliği (EC), sütteki anyon ve katyonlara dayalı mastitis tespiti için bir gösterge olarak kullanılmaktadır (69-72). Elektrik iletkenliği, taşınabilir elektriksel iletkenlik ölçer kullanılarak belirlenebilir ve Simens (SI) /cm olarak ifade edilebilir. Ölçüm için iletkenlik ölçer pamuk ile temizlenerek test yapılır ve üç ml süt kullanılır. Elektrik iletkenliğindeki artış, enfekte bölgelerdeki sütte daha yüksek seviyelerde sodyum (Na^+) ve klorür (Cl^-) iyonları düzeyi ve daha düşük potasyum (K^+) ve laktoz düzeyinden kaynaklanmaktadır (73, 74). Sütün elektriksel iletkenliğini etkileyen diğer faktörler arasında laktasyon dönemi, ineğin yaşı, sağım aralığı, sütün sıcaklığı, pH'sı ve yağ konsantrasyonu sayılabilir (75). Somatik hücre sayısının artmasıyla, elektrik iletkenliğinin düşmesine sebep olan bir ilişki bildirilmektedir. Elektrik iletkenliğindeki bu düşüşün, meme lobları arası iletkenlik oranlarının kurulmasıyla değerlendirilebileceği belirtilmiştir (76, 77). Draminski mastitis dedektörü gibi el tipi ölçüm yapan cihazların subklinik mastitis tanısında tek başına kullanılamayacağı bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (72, 78). Meme lobları arası orantı kullanılarak değerlendirilmesi, EC'nin duyarlılığını ve özgüllüğünü iyileştirdiği belirtilmektedir. Bununla birlikte, tek başına EC'nin ölçülmesinin meme içi enfeksiyonu saptamak için yeterli olmadığı belirtilmiş olup bu yönteme ek olarak SHS ve CMT gibi tarama yöntemlerine başvurulması gerektiği bildirilmiştir (72, 79, 80).

3.1.5.4. Mastitis Tanısında Enzim, Peptit ve Biyobelirteçler

Esas olarak laktoperoksidaz (LPO) enzimleri hakkında ilk rapor 1881'de yayınlanmıştır. O zamandan beri, sütteki enzimler önemli bir araştırma konusu

olmuştur. 20. yüzyılın başlarında, sütte yedi farklı enzim; LPO, ksantin oksidaz, katalaz, proteniaz, lipaz (aril esteraz) ve amilaz tanımlanmıştır. Enzimler, katalitik aktiviteye sahip proteinlerdir ve bu nedenle biyolojik ajanlar olarak kabul edilirler. Yangıya bağlı olarak ilgili enzimler artar ve süt sentezindeki azalmadan sorumlu tutulurlar. Bu nedenle, bunlar mastitisin saptanması için yararlı biyobelirteçler olarak kullanılabilir. İdeal biyobelirteç, bir hastalığa özgü olmalı ve tekrarlandığında miktarı değişmeden kalmalıdır (81). Hastalığın başlangıcıyla ilgili enzim bazlı biyobelirteçler, mastitis tespitinde yeni yöntemlerin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. Örneğin, sütteki laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin belirlenmesi, yüksek duyarlılık ve özgüllük ile birlikte kolay ve uygun maliyetli olduğu için subklinik mastitisin saptanmasında potansiyel bir belirteç olarak görev yaptığı bildirilmektedir (82). Ayrıca klinik mastitisli ineklerde LDH seviyeleri ile somatik hücreler arasında çok güçlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir (82). Mastitis SHS, LDH, alkalın fosfataz (AP) enzim aktivitesi ve fosfor düzeylerini artırırken süt kalsiyum düzeyinde azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (83, 84).

Staphylococcus aureus'un neden olduğu mastitislerin subklinik aşamasında daha aktif olan proteomiksler, diğer proteomiks tabanlı çalışmalarda da sağlıklı ve subklinik mastitisli sütün protein profilleri arasındaki farklılıkları ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, proteomikslerin, mastitis teşhisi için umut verici bir yaklaşım olabileceği yapılan çalışmalar sonucunda belirtilmiştir (85, 86).

3.1.5.5. Akut Faz Proteinleri

Akut faz reaksiyonu, karaciğer tarafından birçok proteinin sentezlenmesine neden olur. Artan bu proteinler, pozitif akut faz proteinleri (AFP) veya sadece

akut faz proteinleri olarak kabul edilmektedir (87, 88). Sığırlarda en hassas AFP'ler, akut inflamasyona yanıtta önemli bir artış gösteren haptoglobin (Hp), serum amiloit A (SAA) ve kronik durumlarda da artan alfa-1 asit glikoproteindir (89, 90). Haptoglobin ve SAA, ineklerin kan serumundaki düzeyi 100 kattan fazla artabilen başlıca akut faz proteinleridir (89, 91). Yapılan bir çalışmada Hp ve SAA, süt veya serumdan ölçülerek meme içi enfeksiyonu saptamak için karşılaştırmıştır (92). Serum ve sütteki Hp düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş, ancak serum ve sütteki Amiloit A düzeylerinin ilişkili olmadığı belirtilmiştir (92). Akut faz proteinlerinin ekstrahepatik sentezi ve SAA'nın meme bezinde lokal olarak da üretilebildiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (87, 92). Bu durum, yakın zamanda, serumdaki seviyelere kıyasla sütte Amiloit A düzeylerinin iki kat daha yüksek olduğu deneysel bir *Esheria coli* mastitis modelinden elde edilen verilerle desteklenmiştir (92). Yapılan proteomik araştırmalarda biyobelirteçler olarak SAA gibi akut faz protein kullanılarak mastitisin teşhis edilebileceği görülmüştür (93). Mastitisin şiddeti ve neden olan patojenlerin tipi, AFP miktarını etkilediğinden, teşhiste hangi biyobelirteçlerin seçileceği önemlidir. Mastitisli sütlerde AFP düzeyinin artmış olması diğer patojenlere kıyasla *Esheria coli*, *Staphylococcus uberis* ve *Streptococcus dysgalactiae* ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, Süt Amiloit A (MAA) düzeyleri etkilemeksizin, C-Reaktif Protein (CRP) ve Hp seviyeleri klinik ve subklinik mastitis arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği belirlenmiştir (94).

İmmünoassay testleri, klinik ve subklinik mastitislerin tanısı için yeni bir yaklaşımdır. Enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA), mastitis teşhisi için Hp proteini hedeflenerek geliştirilmiştir. Geliştirilen teknikle, SAA ve Hp

düzeyleri yapılan çalışmalarda önemli ölçüde tespit edilmiştir (95-97). Süt amiloit A ve *Protein-based stable isotope probing* (Protein-SIP), subklinik mastitis teşhisi için ELISA tarafından incelenen diğer biyobelirteçlerdir (98, 99). ELISA, yeni biyobelirteçlerin tanımlanması yoluyla mastitis teşhisi için kullanılabilir. Ancak yüksek özgül yapıya sahip sınırlı sayıda antikor bulunması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Bununla birlikte, immünolojik testler çapraz reaksiyonlar nedeniyle spesifik olmayan belirli sınırlamalara sahiptir. Uygun altyapı için yüksek girdiyle birlikte vasıflı kişilere ihtiyaç duyulacağı belirtilmektedir (68).

Hem yangılı dokularda lokal ekstrahepatik AA proteinini üretimi hem de hiperemi ve eksudatlı bölgelerde ekstrasvazyonla ilişkili sistemik dolaşımdan plazma proteinlerinin girişinin artması, sekresyonlarda AA düzeylerinin dokularda yükselmesine neden olabilmektedir (100). Lokal olarak üretilen inflamatuvar mediatörlerin, interlökin-1, interlökin-6 ve tümör nekroz faktörünün düzeylerinin, vücuttaki inflamasyonun, bu mediatörlerin sistemik düzeylerinden daha güvenilir bir göstergesi olduğu gösterilmiştir (101). Önceki çalışmalarda, klinik mastitisli meme loblarına ait sütte yüksek MAA düzeyi bildirmiştir (92, 102). Subklinik mastitisin hücresel belirtileri olanlar da dahil olmak üzere klinik olarak sağlıklı meme loblarında MAA düzeyleri nadiren bildirilmiştir (104). Mevcut çalışmalar MAA düzeylerini, mastitis, SHS ve CMT'nin endeksleriyle karşılaştırmıştır. Hepatik olarak türetilen sığır AA ve memeden türetilen MAA, %83 amino asit özdeşliğini paylaşan protein zincirlerinden oluşmaktadır (103). Ticari olarak temin edilebilen ELISA yöntemleri, kökeni ne olursa olsun, AA proteinini tespit eder. Süt Amiloit A bu nedenle hem hepatik olarak üretilen hem de lokal olarak üretilen AA'yı temsil edebilir. Meme dışı AA'nın süte girme potansiyeli ve lokal meme

iltihabının bir göstergesi olarak MAA'nın özgüllüğünde ortaya çıkan azalma, sınırlı sayıda çalışmanın konusu olmuştur (102). Yapılan bir çalışma, mastitis sırasında sütte MAA ölçümünün güçlü bir kanıt sağladığı bildirilmiştir. Bu durum MAA'nın hızlı ve hassas bir yangı belirteci olabileceğini göstermiştir (93). Süt Amiloit A mastitisin diğer tanısal belirteçlerine göre avantajı, sağlıklı hayvanların sütünde çok düşük veya saptanamayan düzeylerde olmasıdır. Mastitis dışındaki faktörlerden MAA'nın etkilenmediği belirtilmektedir. Bu nedenle, süt sığırlarında mastitisi tespit etmek ve meme sağlığını izlemek için sütteki MAA düzeylerinin tahmin edilmesinin bir tanı aracı olabileceği görüşü yapılan çalışmada belirtilmiştir (93).

3.1.5.6. Mikrobiyolojik Analiz

Mastitis teşhisinde kullanılan mikrobiyolojik teknikler, mastitise neden olan ajanların tanımlanmasına yardımcı olan fenotipik ve genotipik özelliklerini ortaya koymaya yarayan yöntemleri içerir. Bu yöntemlerin maliyet ve kullanım kolaylığı açısından avantajları ve dezavantajları vardır. Mastitise neden olan ajanların fenotipik olarak tanımlanması çok spesifik ve doğru değildir. Buna karşın genotipik araçlar daha spesifik ve doğru sonuç verir. Mikrobiyal analiz için spesifik kültür, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), döngü aracılı izotermal amplifikasyon, yanal akış deneyleri, nükleotit dizileme, matris destekli lazer dezorpsiyon iyonizasyonu ve tespit için diğer moleküler tanı yöntemleriyle birlikte kütle spektrometrisi kullanılmaktadır (104). Bakteriolojik kültür, her biri kendi özel amacı olan inek ve meme lobu düzeyinde olduğu gibi sürüde de gerçekleştirilebilir. Bakteriolojik kültür, çoğunlukla mastitis problemlerini çözmek için bir teşhis aracı olarak kullanılır. Bununla birlikte, meme bezlerinin

bulaştırıcı durumu hakkında bilgi vererek, bir rezervuarı erken bir aşamada teşhis ederek patojenlerin bulaşmasını önlemede de yardımcı olabilir. Bakteriyolojik kültürü bir teşhis aracı olarak etkin bir şekilde kullanmak için, doğru zamanda doğru ineklerden ve tanklardan süt örneklerinin alınması gerekir (47).

3.1.6.Meme Ultrasonografisi

Sığırlarda meme bezinin ultrasonografisi noninvaziv bir tanısal görüntüleme tekniğidir. Uygun ekipman kullanılarak meme başı, meme başı kanalı, Fürstenberg rozeti, meme lobu ve salgı bezi parankimi görüntülenebilmektedir. Sığırların meme bezinin ultrasonografisi (USG) için ana kullanım alanı, başta meme başı yaralanmaları olmak üzere çeşitli nedenlerle oluşan süt akış bozukluklarıdır (105). Meme başının USG'si, meme başı darlığının ve diğer anormalliklerin boyutunun lokalizasyonuna ve sınırlarının belirlenmesine izin verir. Ayrıca mastitis teşhisine yardımcı olarak tedavisini destekler (105). Ancak, meme bezinin ultrasonografik muayenesinin yanında geleneksel muayene yöntemlerinin de göz ardı edilmemesi gerektiği unutulmamalıdır (106). Ultrasonografi, sağlıklı meme bezinde bazı ölçümlerin yapılmasına izin verir. Mastitisten etkilenen meme dokusunda patolojik durumları ortaya koyarak özellikle prognoz açısından değerli bilgiler verebilen bir uygulamadır (107). Ultrasonografi, meme bezinin parankim dokusu, sisternal yapısı ve kanal sistemindeki her hangi bir değişikliğin ayrıntılı izlenmesinde etkilidir (108, 109). Günümüzde inek, koyun, keçi, manda ve kısırakların meme bezinde USG kullanan çok sayıda araştırma yapılmıştır (61, 110, 111). Ruminantlarda meme bezinin ilk USG muayenesi laktasyondaki bir ineğin meme başına 1 MHz A mod propla uygulanmıştır (110). Meme ve meme başının ilk B mod USG'si ise 1986 yılında

gerçekleştirilmiştir (112). Araştırmacılar, ineklerin meme başlarında linear ve sektör problemlerini kullanarak akış bozukluklarını ve yapısal değişiklikleri belirlemeye çalışmışlardır (61, 110-112).

Meme parankiminin USG'si, klinik mastitis belirtileri olmaksızın memede büyüme ve bazen de yabancı cisimlerin saptanmasında yardımcı olmaktadır. Ultrasonografi bakteriyolojik kriterlerin veya somatik hücre sayımlarının yerini alamaz, ancak memenin durumu hakkında ek bilgi verir ve sonuç olarak prognozu belirlemeye yardımcı olur. Saha şartlarında meme başının uç kısmının ultrasonografik muayenesine memeden sütün çıkışı ve akışıyla ilgili bozuklarda başvurulmaktadır. Sığır meme ucunun sonografik muayenesinin meme başı ve meme başı kanalı yapılarını ölçmek için yararlı bir yöntem olduğu belirtilmektedir (113-115). Bu tanısal görüntüleme tekniği, laktasyon sayısı, sağım makinalarına maruz kalmanın bir sonucu olarak meme başıyla birlikte meme başı kanalının uzaması gibi farklılıkları ve meme başı parametrelerinin mastitis gelişimi üzerindeki etkisini araştırmak için kullanılmıştır (105, 108, 116-118).

Ultrasonografi insanlarda lenf düğümlerini görüntülemek için rutin olarak kullanılmaktadır (119-121). Bu teknik veteriner hekimlikte araştırmacılar tarafından pet ve büyük hayvanlarda uygulanmıştır (122-124). Lenf düğümleri tek tip bir anatomik yapıya sahiptir ve ultrasonografik görünümüleri türler arasında nispeten benzerlik göstermektedir. Lenf düğümünün yüzeyini düz kas ve elastik lifler içeren bir bağ dokusu kapsülü kaplar. Bu kapsül ultrasonografik muayenede, özellikle dik açıyla bakıldığında, hiperekoik görüntü sergiler (125). Lenf düğümünün parankimi hipoekoik bir görüntü vermektedir. Bu durum, çoklu foliküller olarak düzenlenmiş nispeten homojen, katı lenfosit birikimlerinin hâkim olduğu kortekse

karşılık gelmektedir. Lenf düğümünün hiperekojenik görüntü veren merkezi, medulla bölümü ve hilusun iç kısmına karşılık gelmektedir. Ancak hiperekojenik görünüme neden olanın düğüm içindeki yağ mı yoksa çoklu paralel akustik arayüzlere yol açan sıvı dolu lenfatik sinüsler mi olduğu belirsizliğini korumaktadır. Her iki faktörün de ekojenik görünüme katkıda bulunduğu ve histolojik bulguların her iki teoriyi de desteklediği belirtilmektedir (122). Laktasyondaki sığırların supramammar lenf düğümlerinin ağır bir antijenik tehditle karşılaşmasına bağlı olarak büyüklük ve/veya dokusunda değişiklik gösterebileceği belirtilmektedir (122, 124).

Mastitis olgularında supramammar lenf yumrusu değişikliğinin boyutlarını gösteren sonuçlara göre lenf yumrusunun ultrasonografisi mastitis olgularının doğrulanması için oldukça yararlı bir yöntemdir. Bir çalışmada düve ve kuru dönemdeki inekler gibi süt numunesi incelenmesinin mümkün olmadığı durumlarda tanı için yararlı olabileceği belirtilmektedir (123).

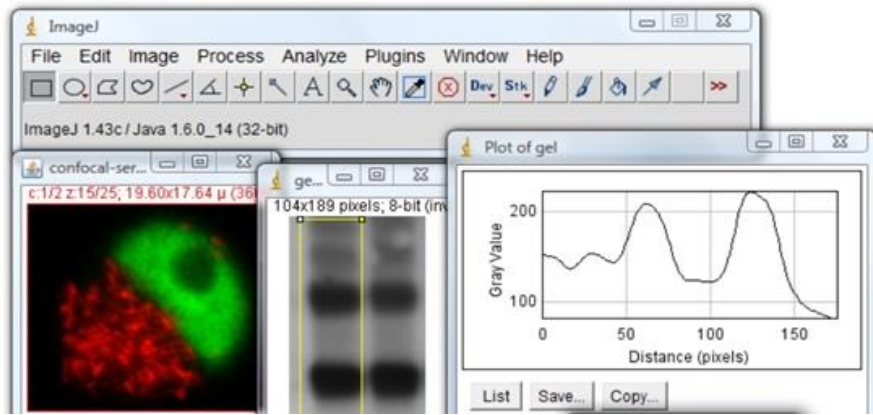
3.1.7. Ekotekstür Analizi

Yapılan gerçek zamanlı ultrasonografik incelemelerde meydana gelen değişikliklerin çok belirgin olmaması, insan gözünün bu değişiklikleri algılayamaması ve kişiden kişiye değişen ve nesnel olmayan değerlendirmeler, yardımcı ve ileri teknolojilerin ultrasonografik görüntüleme teknolojilerine eklenmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu nedenle kontrastlığı artırılmış USG'ler, Doppler USG'ler, çok boyutlu USG'ler ve bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri veteriner hekimlikte kullanılmaya başlanmıştır (126-128).

Beşeri ve veteriner hekimliği alanlarında kullanılan bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri, bir bilgisayar yazılımı olup, “bilgisayar destekli ekotekstür analizi” terimi ile ifade edilmektedir. Hâlâ geliştirilmeye, olgulara ve türe özgü standartları oluşturulmaya çalışılan bu yöntemin, gelecekte görüntüleme cihazlarının bir parçası haline geleceği öngörülmektedir (128).

3.1.7.1. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri İçin Programlar

Görüntülerin ekotekstür analiz verilerini elde etmek için özel yazılım şirketleri tarafından geliştirilmiş (Bs200Pro, BAB, Ankara gibi) programlar bulunmaktadır. Bununla birlikte kamu kullanımına açık olan ve ekotekstür için gerekli olan eklentilerin yüklenerek kullanılabilirdiği *Image J* programından da yararlanılabilmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Image J programı.

3.1.7.2. Bilgisayar Destekli Görüntü Analizleri

Veteriner hekimlikte ekotekstür analizleri tanı amacıyla uygulanma alanı bulmuştur (129). Son yıllarda görüntüleme teknolojilerindeki gelişimlere bağlı olarak reproduktif ultrasonografi araştırmalarında da kullanılabilecek olan birçok dijital görüntü işleme ve analiz sistemleri geliştirilmiş ve görüntülerin

matematiksel olarak ilişkilendirilmesi sağlanmıştır. Bu sayede geçmişte sadece resimler üzerinden görsel analizler yapılabilmekteyken, günümüzde bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri pratikte yerini almıştır (130, 131).

Bir dokunun ultrasonografik görünümü veya görüntü deseni ekotekstür olarak adlandırılır ve bu da dokunun yapısı ile değişir. Ultrasonografik görüntülerin ekotekstürü, genellikle operatörün görsel değerlendirmesi ile belirlenir (132).

Ekotekstürel parametrelerin değerlendirilmesi için ultrasonografik inceleme sırasında dondurulan görüntüler dijital ortamda kaydedilerek bilgisayar ortamına aktarılmaktadır. Seçilen inceleme alanları (*Region of Interest*; ROI) için ekotekstür analizinde bazı parametreler kullanılmaktadır. En sık kullanılan parametreler angular second moment (ASM, enerji), entropi, korelasyon, gradient (GR), kontrast (CON), homojenite (HOM) ve ortalama gri değerdir (MGL) (133).

Angular Second Moment; tekdüzelik veya enerji olarak bilinir. Bir görüntünün tekdüzeliğini ölçer. Pikseller çok benzer olduğunda, ASM değeri büyük olacaktır (134).

$$f_1 = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} p_{d,\theta}(i, j)^2$$

Entropi; tanımlanması zor bir terimdir. Kavram termodinamikten gelir. Her tepkime veya fiziksel dönüşüm meydana geldiğinde ısı ile kalıcı olarak kaybedilen enerji miktarını ifade eder (134). Entropi denklemi:

$$f_3 = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} p_{d,\theta}(i,j) \log(p_{d,\theta}(i,j))$$

Korelasyon; Korelasyon özelliği, birlikte oluşum matrisindeki gri seviye değerlerinin doğrusal bağımlılığını gösterir. Bir referans pikselin komşusuyla nasıl ilişkili olduğunu, sıfırın ilişkisiz, birin mükemmel şekilde ilişkili olduğunu gösterir (135).

$$f_5 = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} p_{d,\theta}(i,j) \frac{(i - \mu_x)(j - \mu_y)}{\sigma_x \sigma_y}$$

Gradient; komşu piksellerin gri değerlerindeki farklılıkları başka bir deyişle mikrotekstürünü tanımlar. Gradient değeri sıfır ise görüntü tümüyle homojendir (135). Gradient aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$GrMean = \frac{1}{N} \times \sum_{(x,y) \in ROI} G(x,y)$$

[GrMean: Ortalama gradient değer, N: seçilen inceleme alanındaki toplam piksel sayısı, G(x,y): (x,y) bölümündeki gradient, x,y: sırasıyla yatay ve dikey eksen]

Homojenite; belirlenen matriksteki komşu piksellerin gri değer kombinasyonlarının aynı olmasını, örneğin mikro ya da makrotekstürde olmasını tanımlar (136). Homojenite, gri değerlerin uzaysal dağılımını ifade eder. Piksel çiftleri, önceden belirlenmiş belirli bir yer değiştirme doğrultusu temelinde birbiri ile eşlenir ve piksel çiftlerini karakterize eden iki boyutlu bir frekans histogramına yerleştirilir. İstatistik olarak bu matriksin değerlendirilmesi ile HOM değeri hesaplanır. Homojenite hesaplamasında, piksel çiftlerinin bir örnekliliği ölçülür ve

bunların değerleri 0 ile 1 arasında değişir (135, 137). Homojenite aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır:

$$HOM = \sum_{(i,j)} p(i,j)^2$$

[HOM: homojenite, i,j: sırasıyla yatay ve dikey eksen, p(j,i): bölgedeki ortak oluşum matrisi]

Kontrast; seçilen inceleme alanlarındaki büyük gri değer farklılıklarının toplam ölçümüdür ve görüntünün makrotekstürü hakkında bilgi verir (136). Kontrast, ölçümlerin bir örneği olan homojenliğin aksi olan gri değer varyasyonlarının bir ölçüsüdür. Seçili bölgedeki gri değer varyasyonları arttıkça, kontrast da artar (128). Kontrast aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$CON = \sum_{(i,j) \in ROI} (i,j)^2 \times p(i,j)$$

[CON: kontrast, i,j: sırasıyla yatay ve dikey eksen, p(j,i): bölgedeki ortak oluşum matrisi]

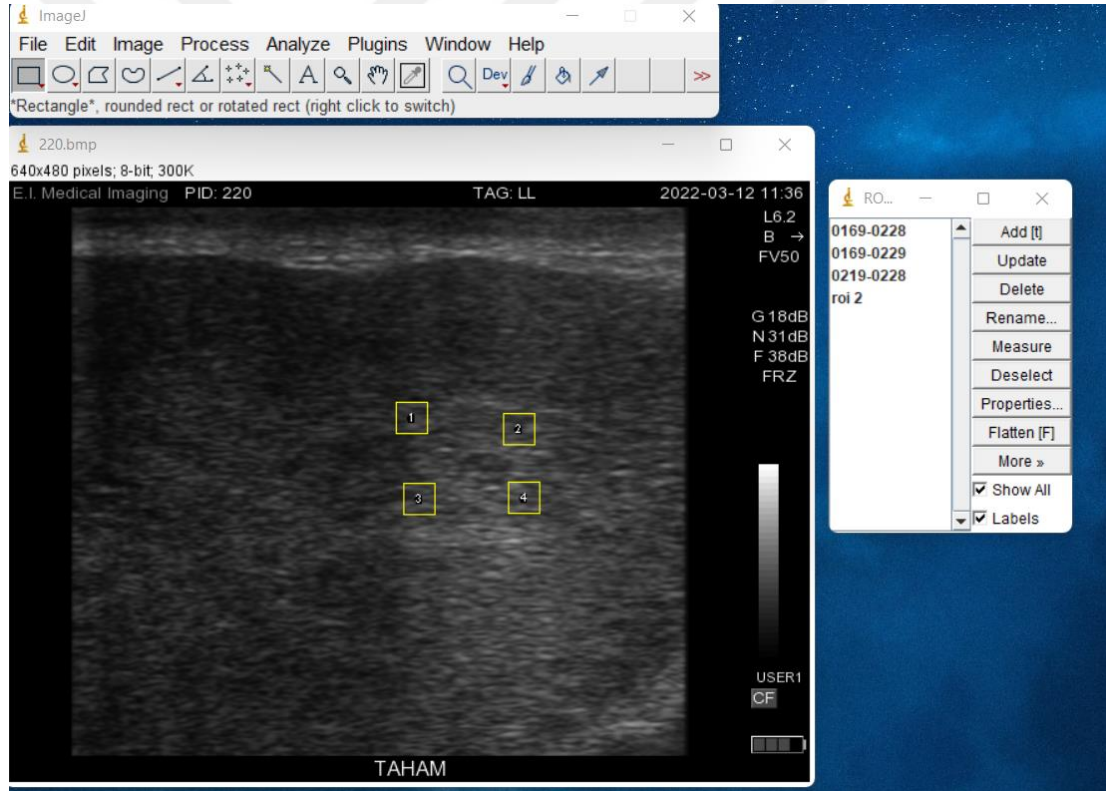
Ortalama Gri Değer; görüntüdeki tüm piksellerin aritmetik ortalama olarak gri değeridir ve görüntünün parlaklığını tanımlar. Ortalama gri değer 0 – 255 arasında değişir (135). Pikseldeki gri ve daha parlak sonografik görüntüler daha yüksek MGL değerleri ile tanımlanmaktadır (128). MGL değeri aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmaktadır:

$$\mu_g = \frac{1}{N} \times \sum_{(x,y)} g_{xy}$$

[μ_g : ortalama gri değer (0 – 255), N: piksel olarak ROI alanının büyüklüğü, x,y: yatay x, dikey y eksenini, g_{xy} : pikseldeki gri seviyesi]

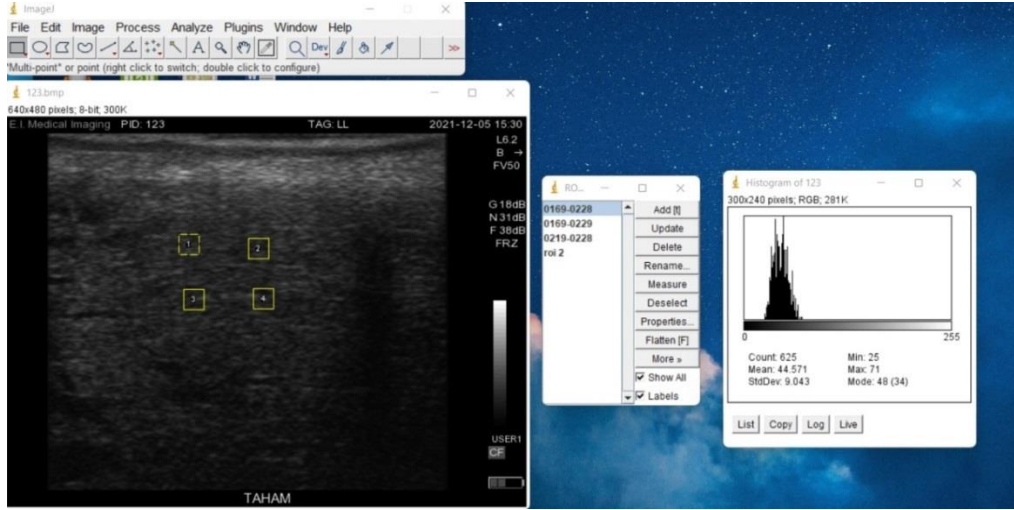
3.1.7.3. Ultrasonografik Görüntülerin Analiz Edilmesi

Görüntülerin analizleri, çalışılacak olan dokunun ultrasonografik görüntüleri alındıktan sonra sıkıştırılmamış olan BMP (bitmap) görüntü formatına dönüştürülerek yapılmaktadır. Bitmap, bilgisayar ekranında bir resmi görüntülemek için gereken tüm renk bilgilerinin ekranı oluşturan her piksel için renk bilgilerinin verildiği resim formatlarına verilen genel addır.

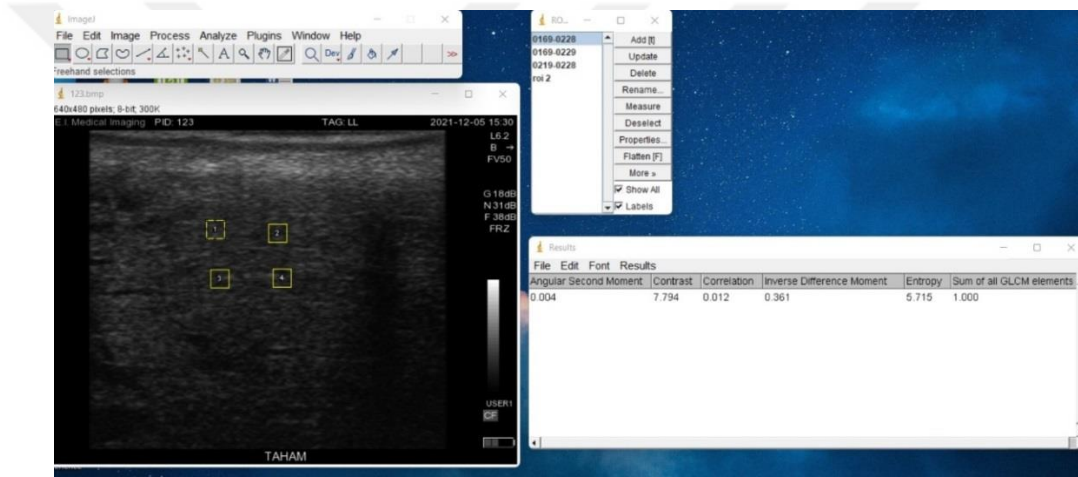


şekil 3. ROI Alanlarının Belirlenmesi.

Analizler için öncelikle görüntüleme bölgesinde ROI belirlenmektedir (şekil 3). İlgili alanlar seçilirken artefakt ve varsa sıvı birikimlerinin alınmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir (127). Elde edilen ilgili alanlardan ise program aracılığı ile ekotekstür analizleri sonuçları alınmaktadır (şekil 4, 5).



Şekil 4. Histogram Analizi.



Şekil 5. Ekotekstür Analizi Değerlerinin Alınması.

Süt veren hayvanların en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul gören mastitis; süt verimin azalmasına, sütün yapısı ve kalitesinin bozulmasına sebep olabilmektedir. Mastitis tanısında çeşitli yöntemlere başvurulmaktadır. Ultrasonografinin veteriner jinekoloji alanına girişiyle beraber meme dokusuyla da ilgili önemli bilgiler elde edilmeye başlanmıştır. Ayrıca gelişen teknolojiyle beraber son yıllarda bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri kullanılmaya başlanmış ve ekotekstür parametreleriyle ilgili araştırma alanları oluşmuştur. Sunulan bu tez çalışmasıyla da ineklerin supramammar lenf yumrusu görüntülerinden elde edilecek ekotekstür parametreleriyle ve süt numunelerinin

CMT, SHS, MAA ve SED değerleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilecek verilerin değerlendirilmesiyle mastitis teşhisine katkı sağlanması hedeflenmektedir.



4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Hayvan Popülasyonu ve Araştırma Bölgesi

Tez çalışmasında, materyal olarak Fırat Üniversitesi Tarım Hayvancılık Araştırma Merkezi (TAHAM) ile Elazığ ili ve çevresindeki onay alınan işletmelerde bulunan 252 inek ve bu ineklerin memeleri materyal olarak kullanıldı. Tez çalışması için Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 22.03.2021-28597 karar numarası ile onay alındı. Çalışmaya dâhil edilen hayvanların laktasyon sayısı, laktasyon dönemi, günlük süt verimi, kuru dönem süresi, sağım şekli, daha önce mastitis geçirip geçirmediği, beslenme şekli, sağım öncesi ve sonrası herhangi bir işleminin (*teat dipping*) uygulanıp uygulanmadığı hakkında bilgiler alındı. Böylece çalışma için seçilen materyalin bir örnek hale gelmesi sağlandı. Cohen'in (138) belirttiği şekilde yapılan istatistiki güç analizi sonucunda bu çalışmada, etki büyüklüğü=0,25, alfa=0,05 ve güç=0,95 alınarak gerekli olan minimum örnek sayısı 252 olarak belirlendi.

4.1.2. CMT Uygulaması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Sunulan çalışma için laktasyonda olan 252 ineğe CMT uygulaması yapıldı ve sonuçlara göre süt numuneleri alındı. Hayvanlardan alınan süt numunelerinin CMT (Kruuse, England) ile muayenesi için CMT kabının dört ayrı bölmesine her bir meme lobundan 2 ml süt sağılarak, test kabı 45°'lik pozisyona getirilerek süt miktarları eşitlendi. Süt miktarı kadar CMT solüsyonu (Şekil 6) eklenerek 10 saniye boyunca dairesel hareket ile karıştırılarak karışımda jel

oluşumu ve jelin yoğunluğu değerlendirildi (61). CMT skorlaması Vural ve ark. (139) belirttiği yöntemle (-), (+), (++) ve (+++) olarak değerlendirildi.



Şekil 6. CMT Ayracı ve Test Kabı.

Tez çalışmasında gruplar, CMT skoruna göre;

1. Grup (n=84) en az bir meme lobu CMT pozitif veren hayvanlar,
2. Grupta (n=84) bir veya birden fazla meme lobunda klinik mastitis belirlenen hayvanlar,
3. Grupta (n=84) ise tüm meme lobları CMT negatif hayvanlardan oluşturuldu.

Meme dokusunda görülen yangı semptomları (sıcaklık, ağrı, kızarıklık, şişlik, fonksiyon kaybı), sütte renk değişikliği, pıhtılaşma gibi değişiklikler ve genel durum bozukluğu klinik mastitis belirtisi olarak kabul edildi.

4.2. Yöntem

4.2.1. Elektrik Direncinin Ölçülmesi

Alınan süt örneklerinin elektrik direnci değerleri Draminski (Olsztyn, Polonya), 4 bölmeli mastitis dedektörü (Şekil 7) kullanılarak ölçüldü (72, 140). Değerler 1,23 katsayısıyla çarpılarak SED ifade eden ohm birimine çevrilerek kaydedildi (72).



Şekil 7. Sütün Elektrik Direncini Ölçmede Kullanılan Draminski Mastitis Dedektörü.

4.2.3. Somatik Hücre Sayısı Ölçümü

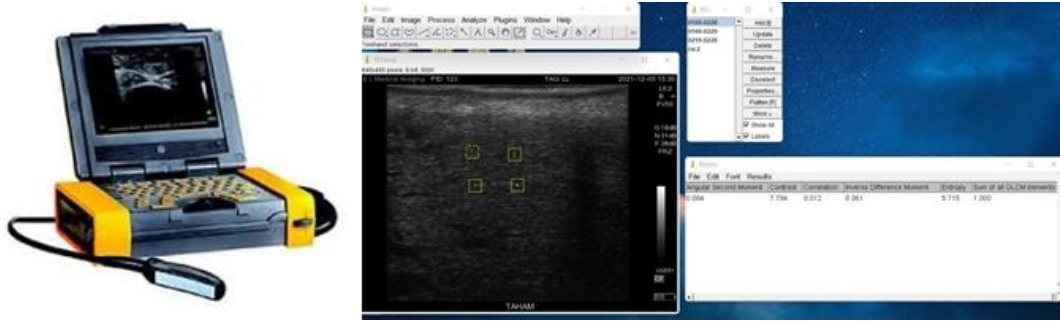
California Mastitis Test uygulanan, CMT (-) ve CMT (+) veren hayvanların meme loblarından karışık olarak, klinik mastitis hangi meme lobundaydı o meme lobundan süt numuneleri toplandı. DeLaval Cell Counter® (DeLaval International, Sweden) (Şekil 8) hücre sayım cihazı kullanılarak SHS'ler tespit edildi (141). Analizler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Buna göre 2 ml süt alınarak ve soğuk zincirde saklanarak en geç bir saat içerisinde 60 µl aspire eden cihaz kasetlerine çekilerek ölçümler yapıldı.



Şekil 8. Delaval SHS Ölçüm Cihazı ve Kaseti.

4.2.4. Supramammar Lenf Yumrusu Görüntülerinin Alınması ve Ekotekstür Analizlerinin Yapılması

Hayvanlardan supramammar lenf yumrusu görüntülerinin elde edilmesinde B mode gerçek zamanlı ultrasonografi cihazı (IBEX, USA) ve 5 Mhz'lik lineer prop kullanıldı. Prop vertikal görüntü (USG jeliyle) alınacak şekilde, bütün ölçümler aynı kişi tarafından aynı USG cihazı ve aynı ayarlarda (Gain, Mhz vb.) yapılarak alındı. Elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı (123). Görüntüler resim düzenleme programı (Adobe Photoshop 2020, Adobe Systems, USA) kullanılarak Bitmap (BMP) formatına dönüştürüldü. *Bitmap* formatına dönüştürülen görüntülerin *Image J* programıyla 4 adet ROI'sı belirlendi (25x25). Bu alanların histogram ve ekotekstür analizleri yapıldı (Şekil 9). Değerlendirmeler sonucu elde edilen ASM, CON, korelasyon, HOM, entropi ve MGL değerleri kaydedildi. Her örnekten elde edilen 4 ilgili alan verilerinin ortalaması alınarak kaydedildi (132).



Şekil 9. USG Görüntülerinin Ibex Pro İle Alınması ve Image J Programıyla Ekotekstür Analizi.

4.2.5.Süt Amiloit A Düzeylerinin Ölçülmesi

İneklerden alınan 5 ml süt örnekleri, ependorflara (1ml) alınarak ölçümler yapılana kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklandı. ELISA ölçümleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı ELISA laboratuvarında yapıldı (Şekil 10). Sütte iyi bir yangı belirteci olduğu bilinen MAA düzeyleri ticari ELISA kiti (TP – 8072, Tridelta Development, Ireland) kullanılarak kitte belirtilen prosedürleri (sulandırma, reaktiflerin, inkübasyon ve stop solüsyonlarının eklenmesi) takiben ELISA okuyucusunda (Bio Tek Instruments, USA) 450 nm dalga boyunda okutularak belirlendi (93). Elde edilen veriler nanograma (ng) çevrilerek kaydedildi.

4.2.6.İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Fırat Üniversitesi Lisanslı SPSS 22.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Meme loblarına ait SED, SHS ve MAA değerleri ile ekotekstür verileri SPSS 22.0 paket programında tek yönlü varyans analizine (One-Way ANOVA) tabi tutulmuştur. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesi için çoklu karşılaştırma testlerinden *Tukey* kullanılmıştır. Bununla birlikte parametrelerin (SHS, SED, MAA, HOM, entropi,

korelasyon, MGL, ASM ve CON) birbiriyle korelasyon ve regresyon analizleri yapıldı. Elde edilen entropi, korelasyon, CON, HOM, MGL ve ASM verilerinin alıcı işlem karakteristikleri (ROC) analizi yapılarak sağlıklı ve mastitisli ayrımı elde etmek için *cut-off* değeri hesaplandı. *Cut-off* değerlerinin özgüllük ve duyarlılık seviyeleri belirlendi. Veriler aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık, $p < 0,05$ olduğunda kabul edildi (142). Verilerde istatistiksel önemlilik, olasılık değerleri $p < 0,05$ olan değerler için anlamlı olarak tanımlandı.



5.BULGULAR

Sunulan bu tez çalışmasında, alınan süt örneklerine ilk olarak CMT uygulanarak gruplara göre dağılımı yapıldı. Elde edilen SHS, MAA ve SED değerlerinin istatistik analizleri tablo 2 de sunulmuştur. Tablo 2’de ki verilere göre gruplar arasında SHS düzeyleri CMT (-) grubuna göre CMT (+) ve klinik mastitis gruplarında daha yüksek ölçüldü ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark belirlendi ($p < 0,001$).

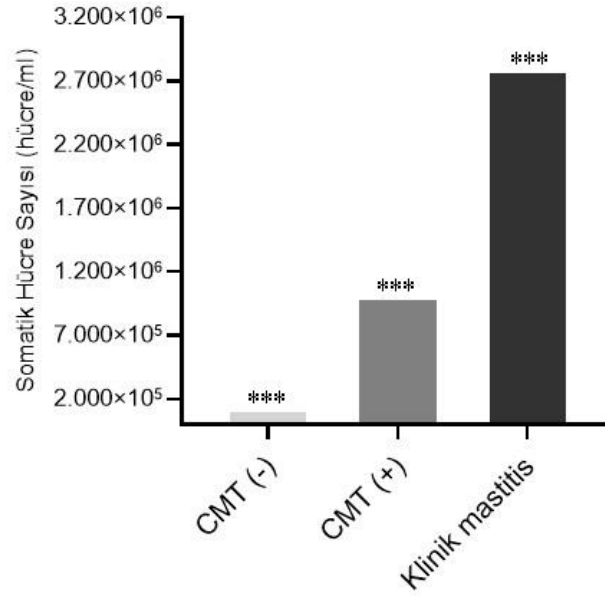
Tablo 2. Gruplara ait SHS, MAA ve SED değerleri. (n=84)

Gruplar	Somatik Hücre Sayısı (hücre/ml) ($\bar{X} \pm \text{SEM}$)	Süt Amiloit A (ng/ml) ($\bar{X} \pm \text{SEM}$)	Sütün Elektrik Direnci (ohm) ($\bar{X} \pm \text{SEM}$)
CMT (-) (n=84)	136.000 \pm 16.364 ^c	27,05 \pm 5,64 ^c	558,85 \pm 13,72 ^a
CMT (+) (n=84)	1.017.154 \pm 138.978 ^b	96,43 \pm 13,67 ^b	490,79 \pm 14,57 ^b
Klinik mastitis (n=84)	2.797.011 \pm 159.619 ^a	227,84 \pm 20,85 ^a	382,46 \pm 11,89 ^c
P değeri	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

^{a,b,c} Aynı sütündeki farklı harfler, gruplar arası farklılığı göstermektedir.

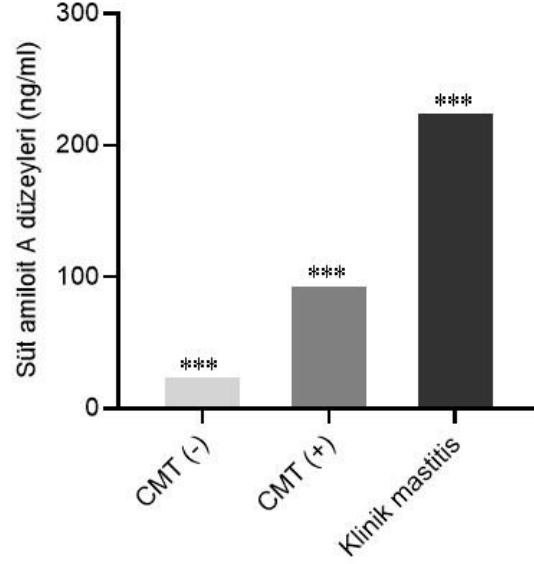
Verilere göre CMT (+) SHS değeri (1.017.154 \pm 138.978 hücre/ml) CMT (-) grubundaki ölçülen SHS (136.000 \pm 16.364 hücre/ml) değerine göre daha yüksek tespit edildi (Şekil 10) ($p < 0,001$).

Klinik mastitis grubunun SHS ($2,797.011 \pm 159.619$ hücre/ml) değeri CMT (-) (136.000 ± 16.364 hücre/ml) ve CMT (+) ($1.017.154 \pm 138.978$ hücre/ml) gruplarına göre önemli ölçüde arttığı belirlendi (Şekil 10) ($p < 0,001$).



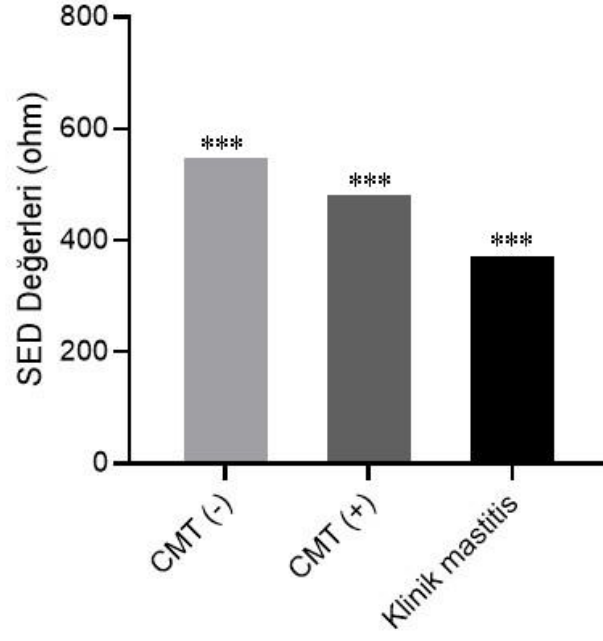
Şekil 10. Gruplar Arası Somatik Hücre Sayısı (hücre/ml) Dağılımı (***: $P < 0,001$).

MAA verilerinin CMT (-) grubuna göre CMT (+) ve klinik mastitis gruplarında istatistiksel olarak farklılık tespit edildi ($p < 0,001$). CMT (+) MAA düzeyi ($96,43 \pm 13,67$ ng/ml) CMT (-) MAA ($27,05 \pm 5,64$ ng/ml) düzeyine göre daha yüksek ölçüldü (Şekil 11) ($p < 0,001$). Klinik mastitis grubu MAA ($227,84 \pm 20,85$ ng/ml) düzeyi CMT (-) MAA ($27,05 \pm 5,64$ ng/ml) düzeylerine göre anlamlı ölçüde daha yüksek olarak tespit edildi (Şekil 11) ($p < 0,001$).



Şekil 11. Gruplar Arası MAA (ng/ml) Düzeyleri (***: $p < 0,001$).

Gruplar bazında SED düzeyleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık belirlendi ($p < 0,001$). Klinik mastitis grubu SED değeri ($382,46 \pm 11,89$), CMT (+) grubu SED değerine göre ($490,79 \pm 14,57$) daha düşük bulundu ($p < 0,001$). CMT (+) grubu SED değeri ise ($490,79 \pm 14,57$), CMT (-) grubu SED değerine ($558,85 \pm 13,72$) göre daha düşük tespit edildi (Şekil 12) ($p < 0,001$).



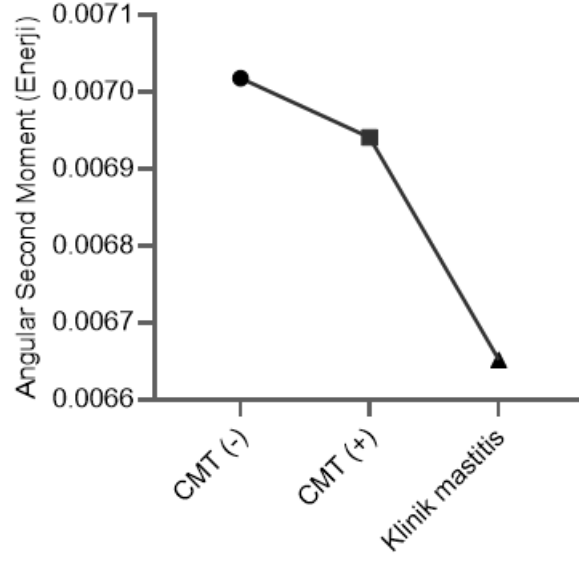
Şekil 12. Gruplar Bazında Sütün Elektrik Direnci (ohm) Düzeyleri (***: p < 0,001).

Supramammar lenf yumrusu görüntülerinin ekotekstür analiz verileri tablo 3' te sunulmuştur. Ekotekstür analiz verileri bakımından gruplar arasında istatistiki anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).

Tablo 3. Supramammar Lenf Yumrusu Ekotekstür Analizi Değerleri.

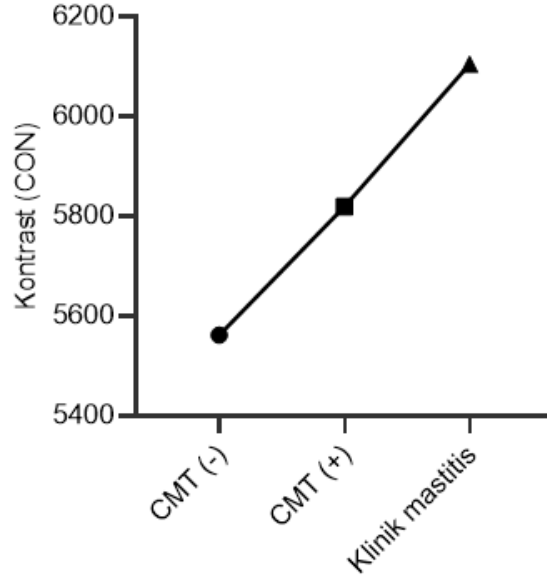
Gruplar	ASM (Enerji) (X±SEM)	CON (Kontrast) (X±SEM)	Korelasyon (X±SEM)	HOM (Homojenite) (X±SEM)	Entropi (X±SEM)	MGL (Ortalama Gri Değer) (X±SEM)
CMT (-) (n=84)	0,0070 ± 0,00034	5561 ± 286	0,017 ± 0,0011	0,42 ± 0,0073	5357 ± 44,39	34,76 ± 1,58
CMT (+) (n=84)	0,0069 ± 0,0004	5819 ± 298	0,017 ± 0,0013	0,41 ± 0,0075	5392 ± 45,59	37,70 ± 1,69
Klinik Mastitis (n=84)	0,0066 ± 0,0003	6104 ± 313	0,017 ± 0,0011	0,41 ± 0,0070	5404 ± 40,50	37,39 ± 1,54
P değeri	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

CMT (-) ASM ($0,0070 \pm 0,00034$) değeri, CMT (+) ($0,0069 \pm 0,0004$) ve klinik mastitis ($0,0066 \pm 0,0003$) ASM verileri arasında istatistiksel olarak fark belirlenmedi ($p > 0,05$) (Şekil 13).



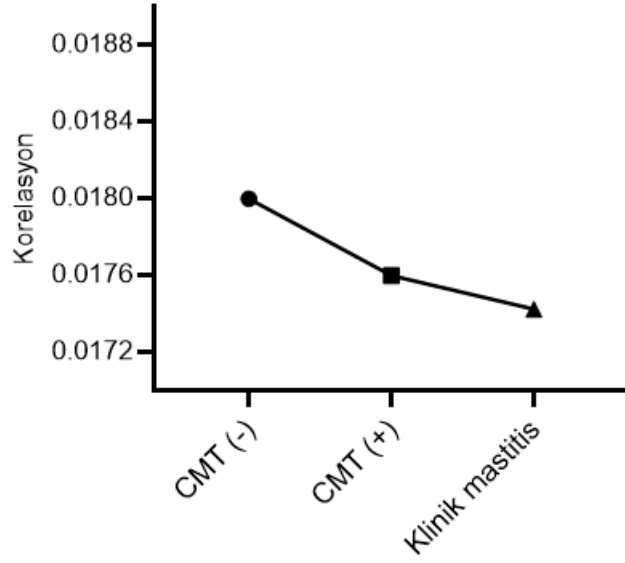
Şekil 13. Gruplar bazında ASM değerleri ($p > 0,05$).

CMT (-) CON (5561 ± 286) değerleriyle CMT (+) (5819 ± 298) ve klinik mastitis (6104 ± 313) grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 14).



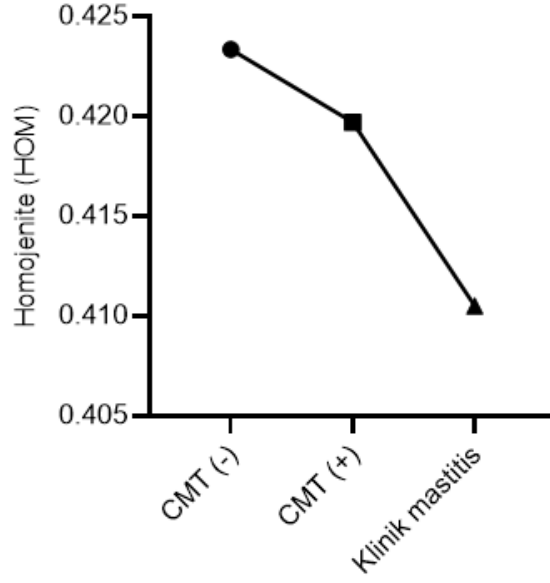
Şekil 14. Gruplar Bazında CON Değerlerinin Dağılımı ($p > 0,05$).

CMT (-) grubu korelasyon ($0,017 \pm 0,0011$) verileriyle CMT (+) ($0,017 \pm 0,0013$) ve klinik mastitis ($0,017 \pm 0,0011$) grubu korelasyon verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 15).



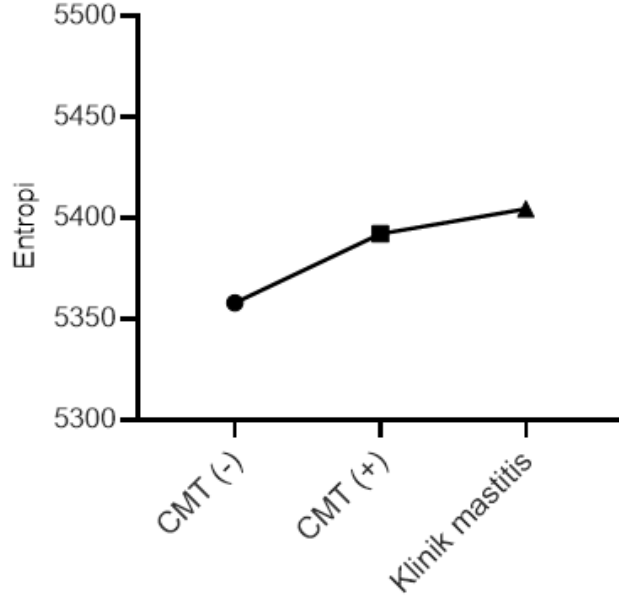
Şekil 15. Gruplar Bazında Korelasyonun Dağılımı ($p > 0,05$).

CMT (-) ($0,42 \pm 0,0073$), CMT (+) ($0,41 \pm 0,0075$) ve klinik mastitis ($0,41 \pm 0,0070$) HOM verileri bakımından da gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$) (Şekil 16).



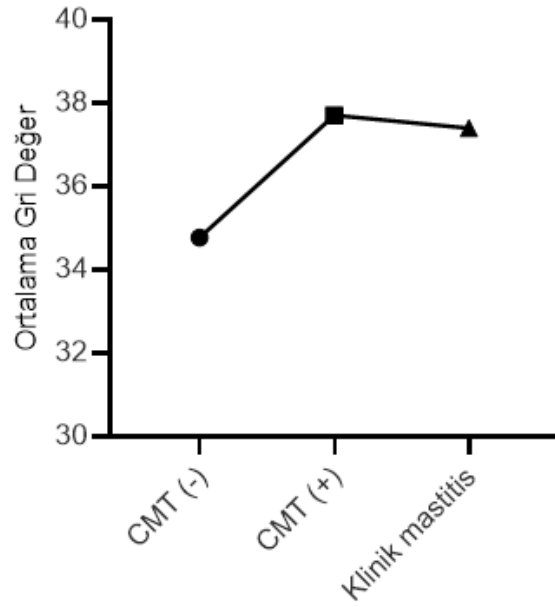
Şekil 16. Gruplar Bazında HOM Dağılımı ($p > 0,05$).

Gruplar bazında entropi değerleri karşılaştırıldığında CMT (-) ($5357 \pm 44,39$), CMT (+) ($5392 \pm 45,59$) ve klinik mastitis ($5404 \pm 40,50$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (şekil 17).



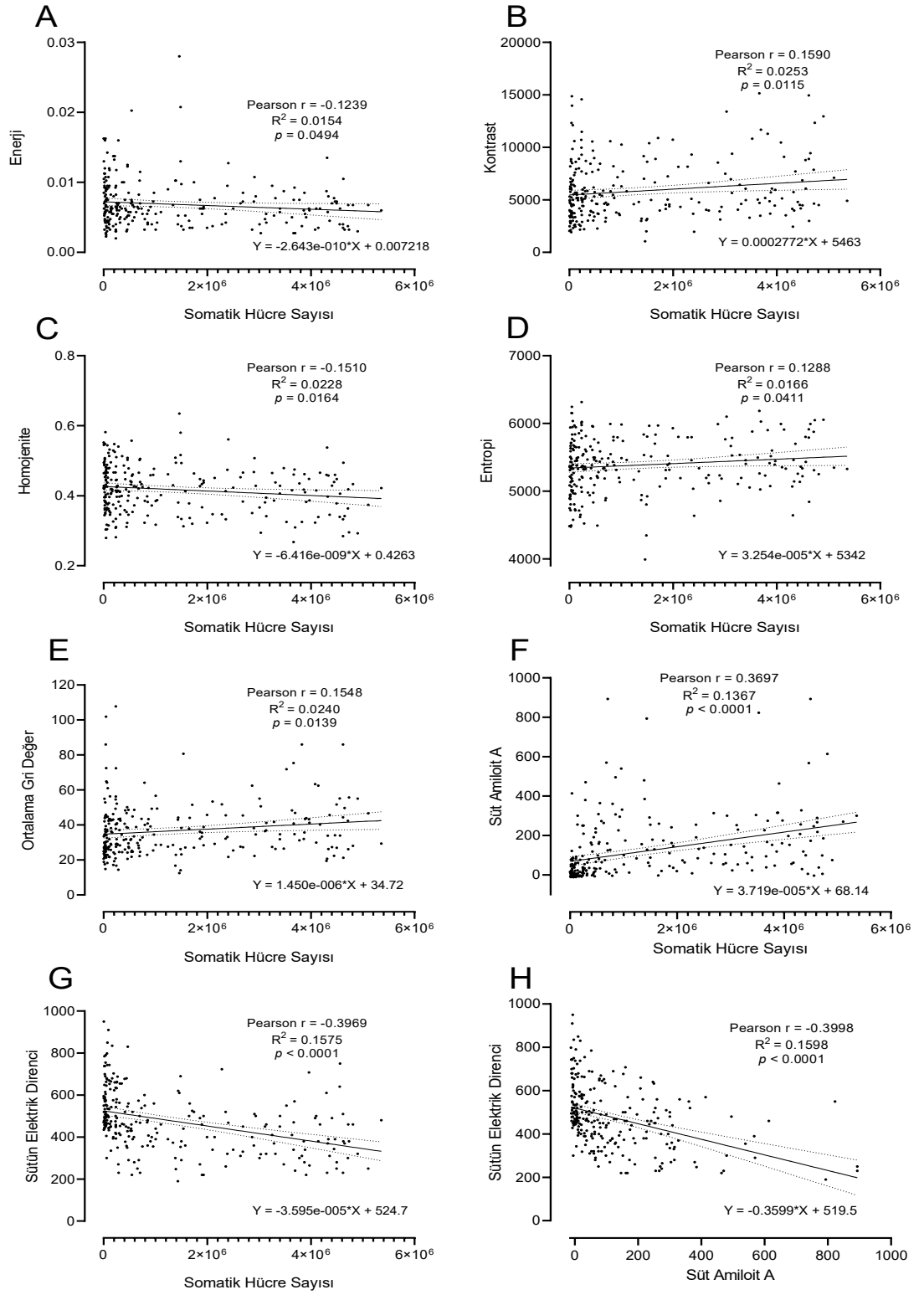
şekil 17. Entropi Verilerinin Gruplar Bazında Dağılımı ($p > 0,05$).

Ortalama gri değer verileri gruplar arasında karşılaştırıldığında CMT (-) ($34,76 \pm 1,58$), CMT (+) ($37,70 \pm 1,69$) ve Klinik Mastitis ($37,39 \pm 1,54$) grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Gruplar bazında en yüksek MGL'ye sahip CMT (+) grubu ($37,70 \pm 1,69$) tespit edildi (şekil 18).



şekil 18. Gruplar Bazında MGL Dağılımı ($p > 0,05$).

Ekotekstür parametreleriyle, SHS, SED ve MAA'nın ilişkileri tablo 4'de verildi. Elde edilen sonuçlarda SHS'nin ASM, HOM ve SED ile negatif, kontrast, MGL ve MAA ile pozitif ilişkili olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Enerji parametresi, CON, entropi ve MGL ile negatif, korelasyon HOM ve SED ile pozitif ilişkili bulundu ($p < 0,05$). Kontrast verisi, korelasyon, HOM ve SED ile negatif, entropi, MGL ile pozitif ilişkili bulundu ($p < 0,05$). Korelasyon değeri, entropi ve MGL ile negatif, HOM ve SED ile pozitif ilişkili tespit edildi ($p < 0,05$). Homojenite verisi, entropi ve MGL ile negatif, SED ile pozitif ilişkili bulundu ($p < 0,05$). Entropi değeri, SED ile negatif, MGL ile pozitif ilişkili bulundu ($p < 0,05$). Ortalama gri değer SED ile negatif ilişkili tespit edildi ($p < 0,05$). Sütün elektrik direnci, MAA ile negatif ilişkili tespit edildi ($p < 0,05$). Tablo 4' de verilen parametrelerden istatistiksel olarak ilişkili bulunanların grafikleri çizildi (Şekil 20). Grafiklerde istatistiksel olarak eğilimler için Pearson katsayıları belirlendi. Elde edilen grafiklerde parametrelerin birbirine göre negatif ve pozitif eğilimleri gösterildi (Şekil 19).



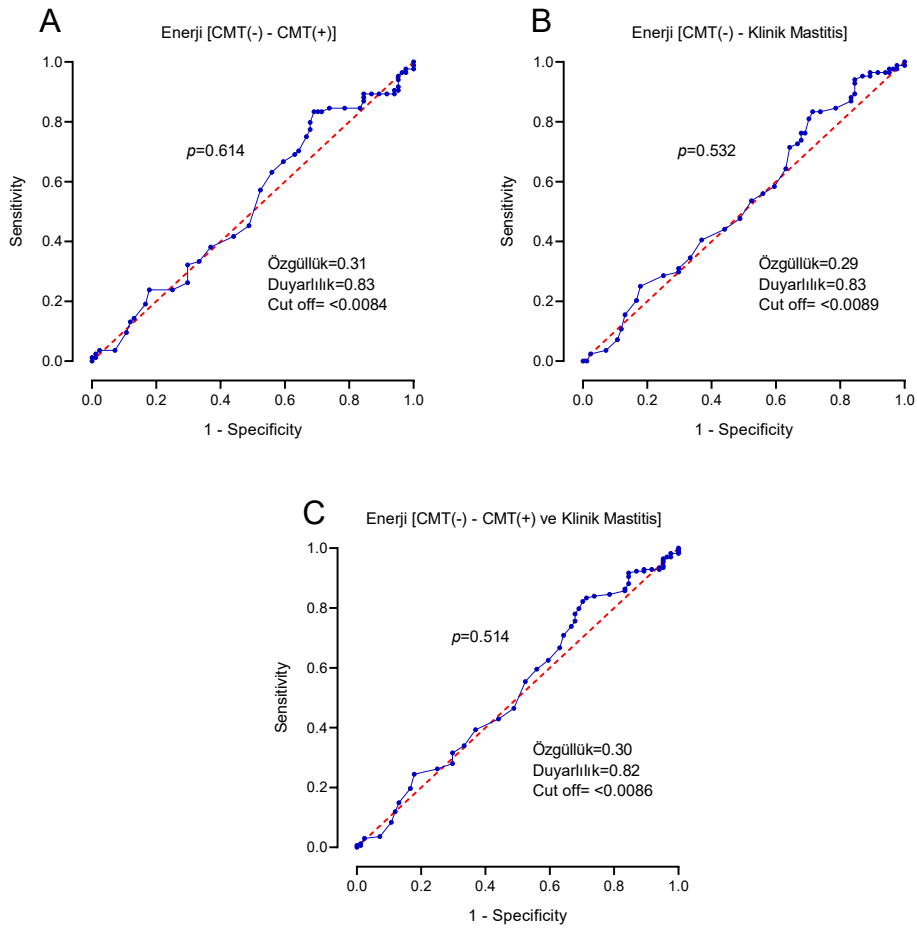
Şekil 19. Ekotekstür parametreleri, SHS, SED ve MAA ilişki grafikleri. A: Enerji – SHS, B: Kontrast – SHS, C: Homojenite – SHS, D: Entropi – SHS, E: Ortalama gri değer – SHS, F: MAA – SHS, G: SED – SHS, H: SED – MAA. Değerler Pearson korelasyon ile değerlendirilmiştir. ($p < 0,05$). SHS: Somatik hücre sayısı; SED: Süt elektrik direnci; MAA: Süt amiloid A.

Tablo 4. Ekotekstür parametreleri, SED, SHS ve MAA'nın korelasyonları.

	Enerji	Kontrast	Korelasyon	Homojenite	Entropi	Ortalama Gri Değer	SED	MAA
SHS	-0,124*	0,159*	-0,099	-0,151*	0,129*	0,155*	-0,397***	0,370***
Enerji		-0,758***	0,963***	0,904***	-0,936***	-0,679***	0,169**	-0,025
Kontrast			-0,706***	-0,936***	0,908***	0,858***	-0,179**	0,020
Korelasyon				0,839***	-0,903***	-0,630***	0,170**	-0,033
Homojenite					-0,971***	-0,794***	0,180**	-0,038
Entropi						0,807***	-0,187**	0,015
Ortalama Gri Değer							-0,136*	0,053
SED								-0,400***

Değerler Pearson korelasyon ile değerlendirilmiştir ($p<0,05$). İstatistiksel anlamlılık * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ olarak bildirilmiştir.

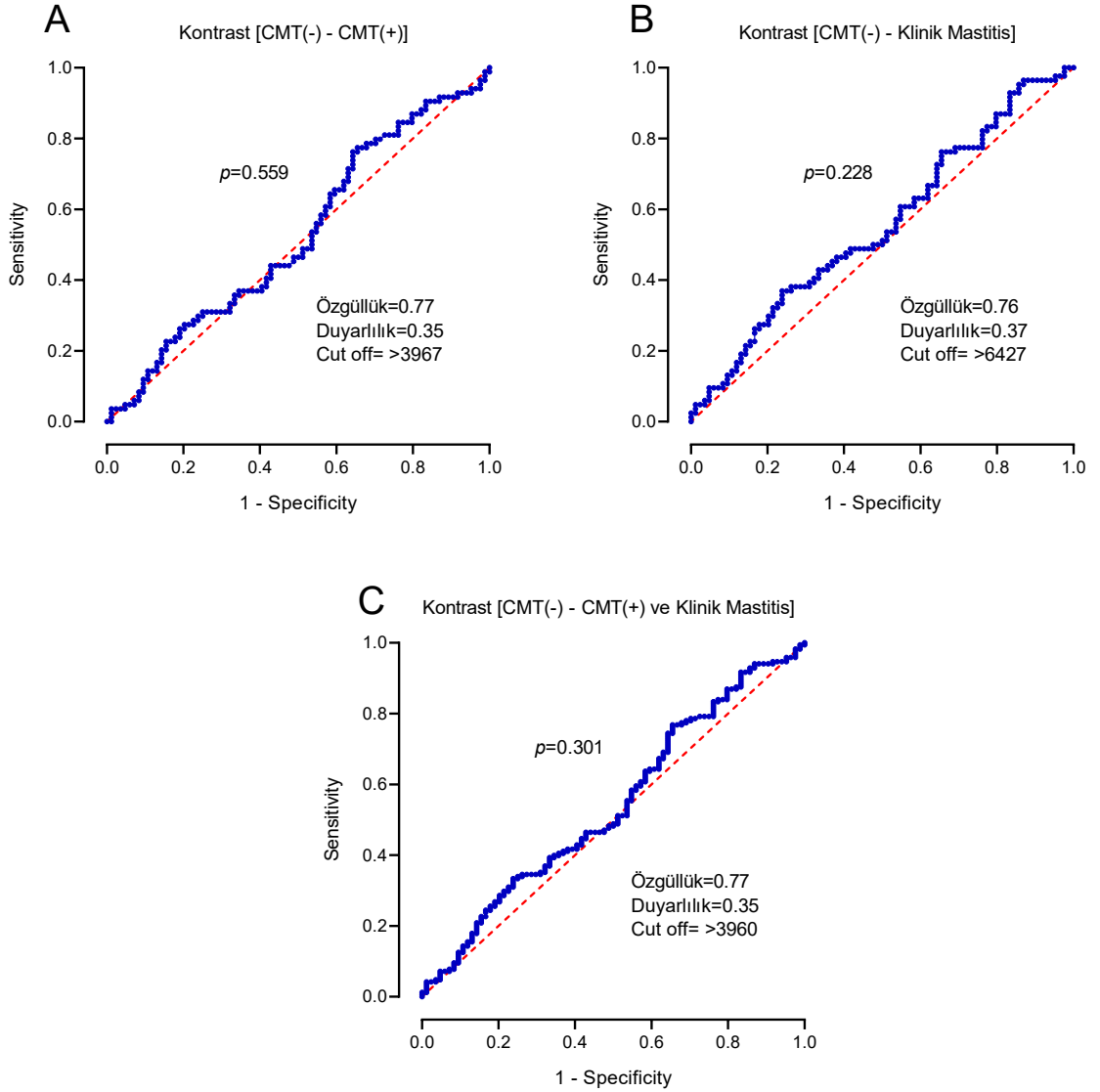
Ekotekstür parametreleri ROC analizine tâbi tutularak sağlıklı ve mastitisli sütlerin ayırımını analiz etmek için *cut-off* değeri oluşturuldu. Elde edilen verilerle parametrelerin özgüllük ve duyarlılık seviyeleri belirlenerek grafiklere eklendi. Enerjinin CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis, CMT (-), CMT(+) ve klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonları değerlendirildi ve ROC eğrileri çizildi (Şekil 20). Veriler arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 20. Enerji için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

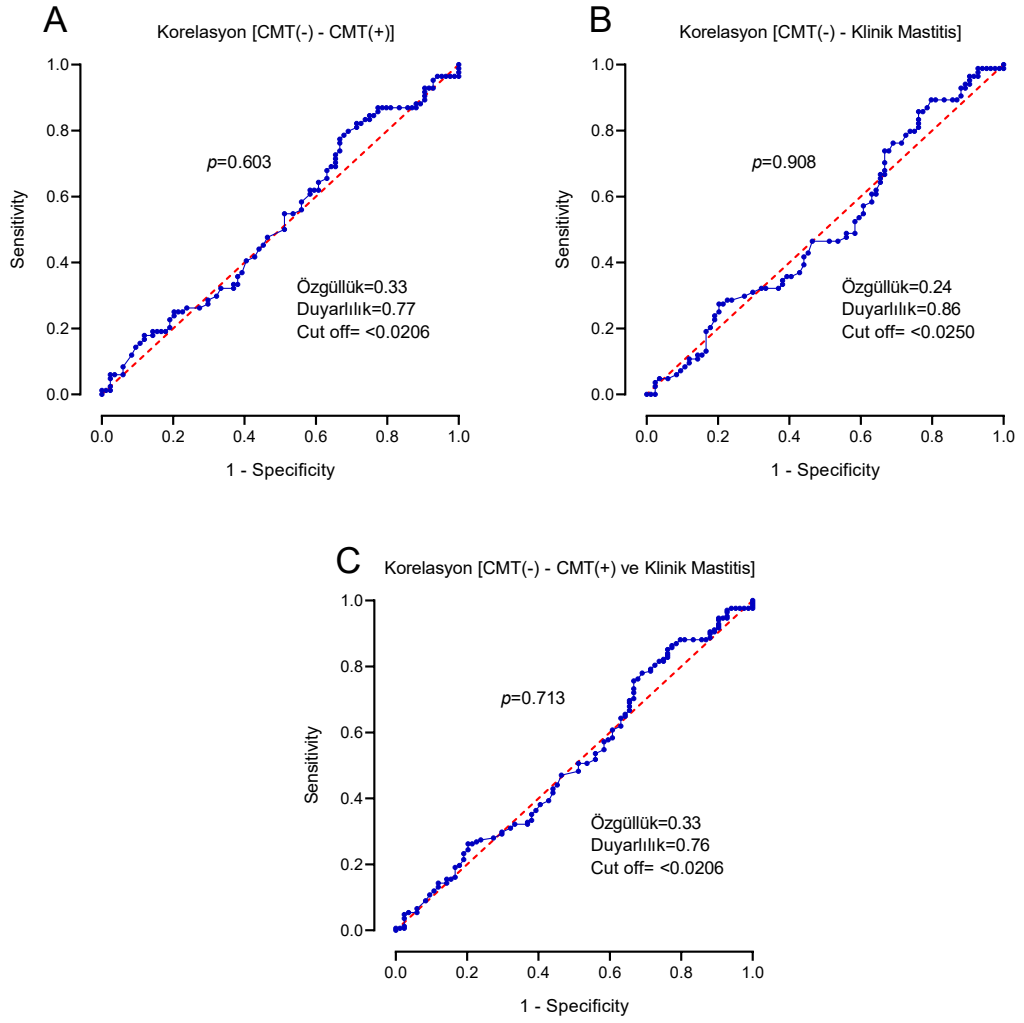
Kontrastın CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis ve CMT (-), CMT (+) ve klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonları değerlendirildi ve

ROC eğrileri çizildi (Şekil 21). Elde edilen verilerden istatistiksel anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



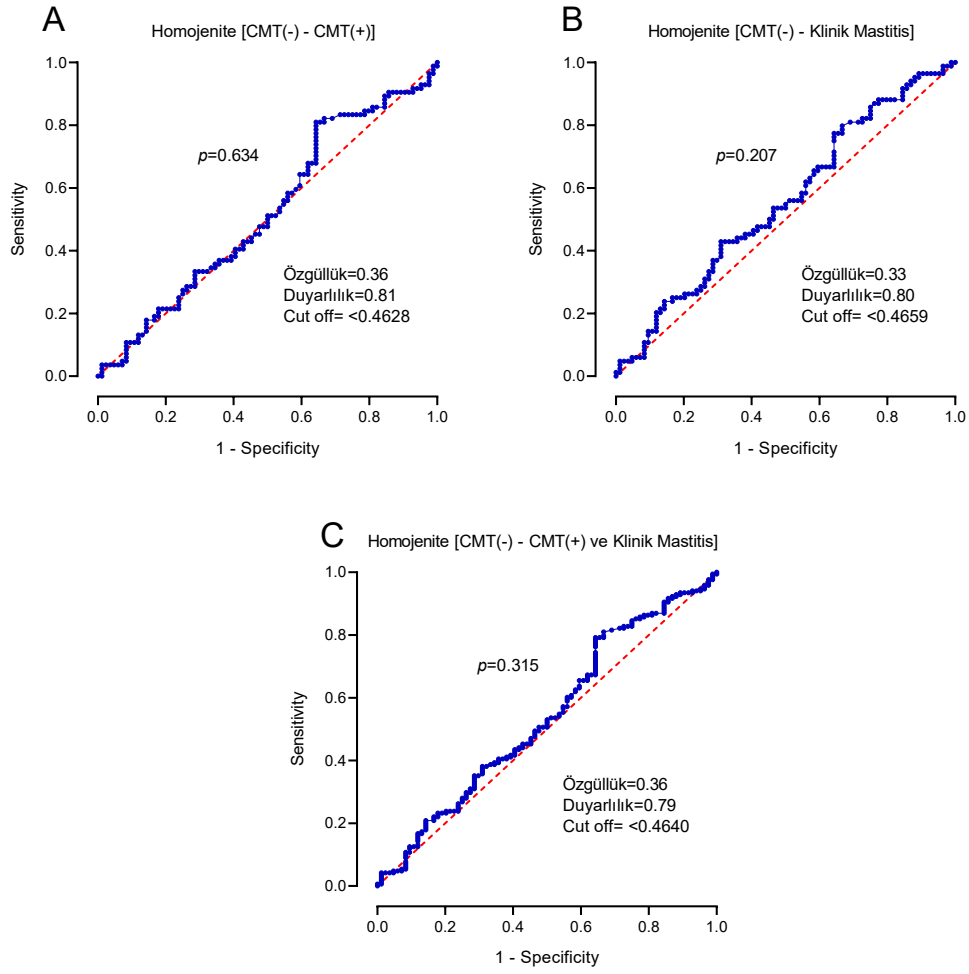
Şekil 21. Kontrast için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

Korelasyonun CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis, CMT (-), CMT(+) ve + klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonları değerlendirildi ve ROC eğrileri çizildi (Şekil 22). Elde edilen verilerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



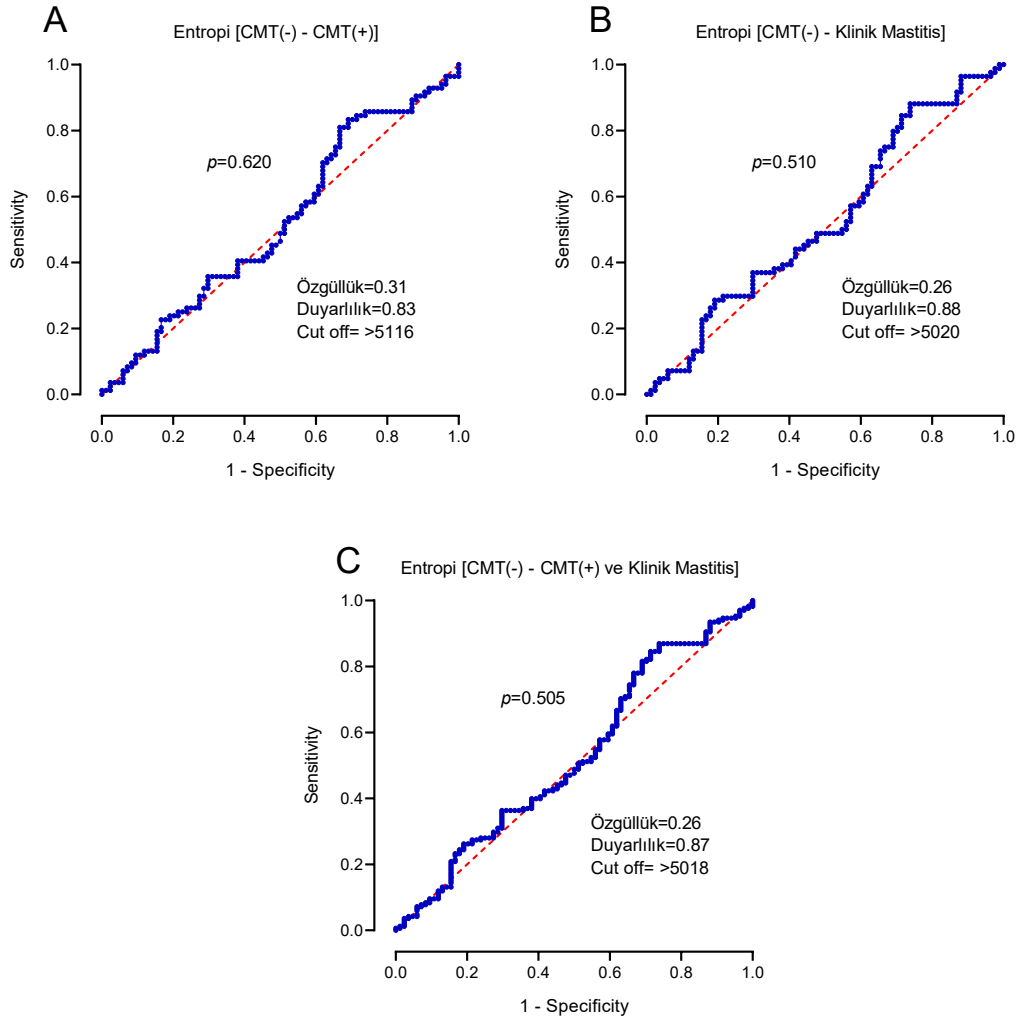
Şekil 22. Korelasyon için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

Homojenitenin CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis, CMT (-), CMT(+) ve klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonları değerlendirildi ve ROC eğrileri çizildi (Şekil 23). Sonuç olarak istatistiksel anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



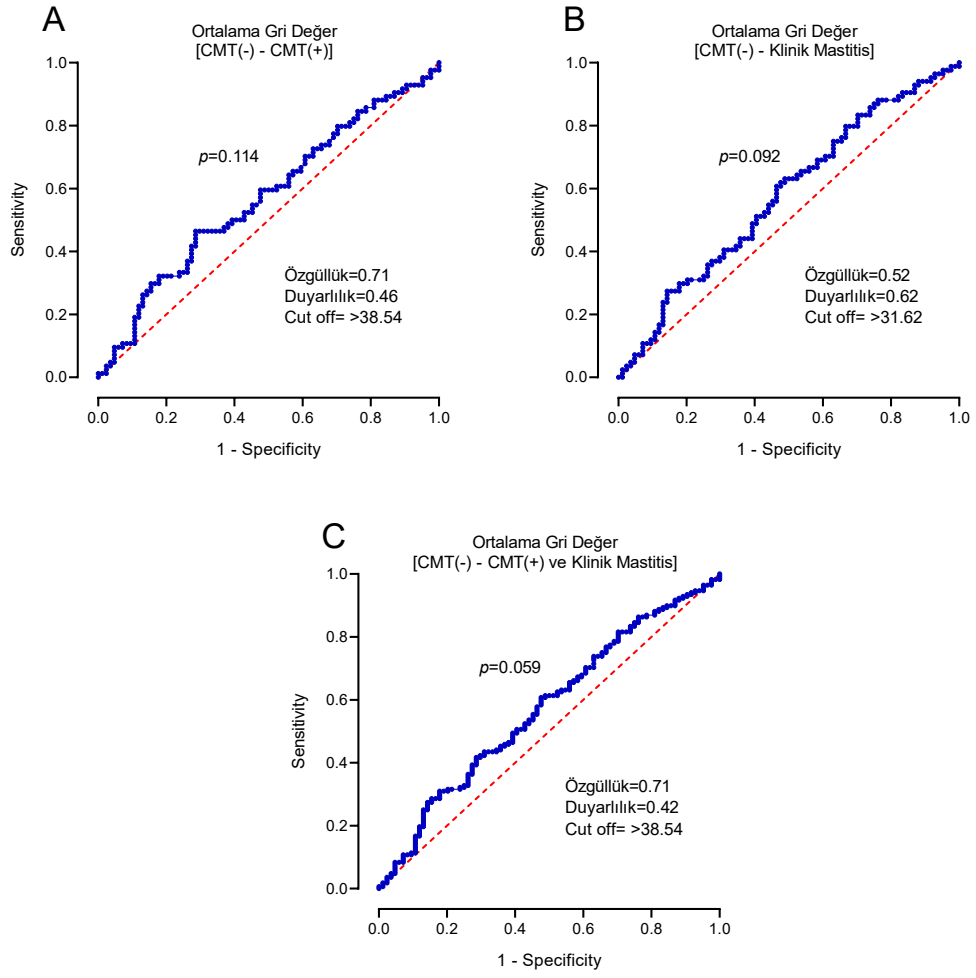
Şekil 23. Homojenite için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

Entropi verileri için CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis, CMT (-), CMT(+) ve klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonlar değerlendirildi ve ROC eğrileri çizildi (Şekil 24). Verilerde istatistiksel anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 24. Entropi için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

Ortalama gri değer için CMT (-) ve CMT (+), CMT (-) ve klinik mastitis, CMT (-), CMT(+) ve + klinik mastitis grupları arasındaki korelasyonları değerlendirilerek ROC eğrileri çizildi (Şekil 25). Verilerde istatistiksel anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 25. Ortalama gri değer için oluşturulan ROC eğrisi. A: CMT (-) – CMT (+); B: CMT (-) – klinik mastitis; C: CMT (-) – CMT (+) + klinik mastitis.

6.TARTIŞMA ve SONUÇ

Mastitis süt sığırcılığında ciddi ekonomik kayıplara yol açabilen bir hastalıktır. İneklerde immün sistemin zayıflığı, sağım hijyeni prosedürlerinin tam olarak uygulanamaması, koruma ve kontrol programlarına dikkat edilmemesi sonucunda mastitis şekillenebilmektedir. Bu nedenlerle ilişkili olarak gerek meme dokusunda gerekse sütte değişiklikler meydana gelmektedir. Bu ve benzer faktörler çiftlikten sofraya kadar giden süt ve süt ürünlerinin kalitesini etkilemektedir. Mastitis olgularının erken teşhis edilmesiyle hem meme sağlığı korunmakta hem de sütün kalitesinin düşmesinin önüne geçilebilmektedir.

Ekotekstür, ultrasonografik görüntü içindeki bir nesnenin parçalarının görünümü, yapısı ve düzenini ifade eder. Ultrasonografik görüntülerin elektronik ortamlarda işlenmesiyle daha objektif veriler elde edilmeye başlanmıştır. Yakın zamanda meme parankiminin ekotekstür analiziyle bunun patolojik koşullar ve süt bileşimiyle ilişkisini değerlendiren çalışmalar yapılmıştır (143, 144). Literatür taramaları sonucunda daha önce supramammar lenf yumrusu görüntülerinden ekotekstür analizi yapıldığı tespit edilmemiştir. Sunulan tez çalışmasında supramammar lenf yumrusunun ekotekstür analizleriyle mastitis arasındaki ilişkisi değerlendirilmiştir. Araştırmada mastitisli meme dokusuna ait supramammar lenf yumrularından alınan USG görüntülerinin ekotekstür analizleri mastitiste kullanılan geleneksel ve laboratuvar yöntemleriyle birlikte değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda ekotekstür verilerinde CMT (-), CMT (+) ve klinik mastitis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p < 0,05$).

Ekotekstür analizi, incelenen anatomik yapılardan elde edilen bilgileri daha detaylı hale getirebilmektedir. Ultrasonografi görüntülerindeki gri seviye değerlerinin incelenmesiyle tanıda daha spesifik olabileceği bildirilmektedir (145). Meme bezi parankiminin ekotekstürü, sütün üretimi aşamasında bazı değişkenlikler gösterdiği için önemli ölçüde etkilenebileceği yapılan bir çalışmada belirtilmiştir (144). İnek sütünün %60-80'i ve koyun sütünün %25-50'si meme parankiminde depolandığı için ekotekstür verilerindeki değişikliklerin olağan olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (146, 147). Bu durumun meme ultrasonografisinin ekotekstür analizinde olası tanı yaklaşımlarında bazı yanlış sonuçlara götürebileceği ifade edilmesine rağmen bir kısım çalışmalarda ekotekstür parametrelerinden MGL ve heterojenite değerlendirilmiştir (143, 144). Schwarz ve ark. (2020), ultrasonografinin tanısal uygulamalarını genişletmek ve meme bezinin B mod ultrasonografisinden derinlemesine bilgi elde etmek amacıyla, meme bezi USG görüntülerinin ekotekstür analiziyle günlük süt verimi ve üretim aşaması hakkında araştırmalar sonucunda sabah ve akşam sağımı aralığında verilerde değişiklik olduğunu bildirmişlerdir (144). Yapılan başka bir çalışmada ise ineklerin sağımından önce ve sonra meme bezi ekotekstüründeki farklılığı araştırılmış ve çalışma sonucunda sağım öncesi ve sonrası ekotekstür değerlerinde değişkenliğin çok az olduğu tespit edilmiştir (109). Sunulan bu tezde ineklerden elde edilen supramammar lenf yumrusu görüntülerinin ekotekstür parametrelerinden HOM, CON, ASM, MGL, entropi ve korelasyon değerlendirildi ve istatistiksel olarak bir farklılığın olmadığı tespit edildi ($p > 0,05$).

Ekotekstür analizleriyle ilgili veteriner hekimlikte çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İnek ve koyun ırkları üstüne yapılan iki farklı çalışmada erken gebeliğin teşhisinde endometriyumun farklı günlerde görüntüleri alınarak analizleri yapılmıştır. Sonuçta gebe ve gebe olmayan hayvanlar arasında MGL, CON ve HOM'un takip edilen günler arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (132, 148). Yapılan başka bir çalışmada ise ineklerde postpartum dönemde uterusun ekotekstür analizlerinin sorunlu involüsyon dönemi geçirenleri belirlemede oldukça etkili olduğu belirtilmiştir (149). Arap kısıraklarının seksüel siklusunda endometriyumdaki ekotekstürel değişikliklerin izlendiği çalışmada ise siklus süresince farklılıklar gösterdiği ancak proöstrüs ve östrüs evrelerinin ayırt edilmesinde yeterli olmadığı belirlenmiştir (150). Doğuma yakın dönemde ineklerin plasentomlarının ekotekstürel olarak yorumlanmasında farklılıklar olduğu ve plasental ayrılma ile ilgili bilgiler vererek retensiyo sekundinarum gibi vakaların ayırt edilmesine katkı sağlayacağı belirtilmiştir (151). Sunulan tez çalışmasıyla da supramammar lenf yumrusu ekotekstüründe istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Bu tezdeki veriler gelecekte yapılacak çalışmalar için örnek oluşturarak daha geniş kapsamlı bir örnekleme mastitisli vakalarının ayırt edilmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan tez çalışmasında supramammar lenf yumrusu USG görüntülerinin ekotekstür parametrelerinde, yapılan başka çalışmalarda değerlendirilen MGL ve heterojeniteye ek olarak daha fazla parametre değerlendirilmiştir. Entropi, ASM, korelasyon ve CON gibi ek parametrelerin değerlendirilmesi sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir ($p > 0,05$). Ekotekstür parametrelerinin SED, SHS ve MAA ile ilişkileri değerlendirildiğinde istatistiksel

olarak negatif ve pozitif yönlü ilişkileri tespit edilmiştir (Tablo 4). Verilerin değerlendirilmesinde SHS'nin ASM ve entropi verileriyle negatif, CON ve MGL ile pozitif ilişkisi saptanmıştır ($p < 0,05$). Diğer bir tanı yöntemi olan SED'in CON, entropi ve MGL ile negatif, enerji, korelasyon ve HOM ile pozitif ilişkisi bulunmuştur ($p < 0,05$). Süt Amiloit A'nın ekotekstür parametreleriyle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Son zamanlarda, farklı koyun genotipleri arasındaki süt verimi ve kimyasal bileşimdeki farklılıkların, meme bezinin ekotekstürel özelliklerindeki farklılıklara neden olabileceği öne sürülmüştür (152). Bir başka çalışmada ineklerden gün içerisindeki sağım zamanlarında alınan süt numuneleri ve USG görüntülerinden ekotekstür verileri değerlendirilmiştir (144). Çalışmada sagittal ve koronal düzlem üzerinde meme lobundan görüntüler toplanmış ve alınan süt numunelerinin komponentleri incelenerek ekotekstür verileriyle ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda komponentler ve ekotekstür verileri bakımından farklılıklar tespit edilmiştir. Araştırmacılar aynı zamanda sagittal ve koronal düzlem üzerinden alınan görüntülerin ekotekstür parametrelerinde değişiklikler olduğunu belirlemişlerdir (144). Sunulan tez çalışmasında mastitis sonucunda sagittal olarak görüntüleri alınan supramammar lenf yumrusunda ekotekstürel bir değişikliğin olup olmayacağı değerlendirilmiş olup gruplar arasında parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Ek olarak ekotekstür parametrelerinin ROC eğrileri çizilerek *cut-off* değerleri elde edilmiştir. *Cut-off* değerlerinden ekotekstür parametrelerinin özgüllük ve duyarlılık seviyeleri ölçümleri yapılmıştır. Veriler sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmediği için *cut-off* aralığı belirlenememiştir ($p > 0,05$). Ancak, bu çalışma

kapsamında elde edilen ekotekstür değerleri SHS, SED ve CMT ile rakamsal olarak pozitif ve negatif yönlü korelasyonlar vermiştir (Tablo 3). Bu veriler göz önüne alındığında da mastitisin tanısı için ekotekstür parametreleriyle ilgili daha kapsamlı çalışmalara ve değer aralıklarının belirlenmesine ihtiyaç duyulduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda yapay zekâ gibi daha ileri tekniklerle desteklenmesinin gerekliliğine de kanaat getirilmiştir.

Sürü ve işletme bazında önemli bir paya sahip olan mastitisin tanısında farklı muayene teknikleri ve yöntemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda süt ve süt ürünlerine verilen önem artmıştır. Teknolojinin gelişmesiyle beraber hastalık tespitinde daha etkili, güvenilir, pratik ve ekonomik yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Sunulan bu çalışmada da veteriner hekimlikte yaygın bir yere sahip olan USG tekniği kullanılmış olup son yıllarda araştırılan dijital görüntü analizi tekniklerinden ekotekstür değerlendirilmesi yapılmıştır.

Sonuç olarak; bu tez çalışmasından elde edilen verilerle şu sonuçlara varılmıştır:

- Supramammar lenf yumrusu ekotekstür verilerinde, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir etki bulunmamıştır. Ancak hem gruplar bazındaki verileri hem de korelasyonları değerlendirildiğinde SHS ve SED sonuçlarının ekotekstür parametrelerinden CON'un SHS ve SED'le negatif, MAA ile pozitif yönde, ASM, SHS ve SED'le negatif, MAA ile pozitif yönde farklılıkları tespit edildi. HOM'un MAA ile farkı bulunmazken, SHS ile negatif, SED'le pozitif yönde farklılıkları bulundu. Korelasyonun, SHS ve MAA ile istatistiki bir farkı bulunmazken, SED'le pozitif yönde farkı bulundu. Ortalama gri değer ve entropinin, MAA ile

anamlı bir ilişkisi olmadığı, SHS ile pozitif, SED'le negatif yönlü ilişkisi olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar ışığında da ekotekstür analizlerinin daha da geliştirilmesi ve örneklem sayılarının arttırılmasıyla mastitis tanısına yardımcı olabileceği,

- Yapılan literatür taramaları sonucunda daha önce bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olması ve sunulan tezdeki veriler arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemesi nedeniyle hastalıklı ve sağlıklı vakalar için belirli bir parametre aralığı (cut-off) belirlenememiştir. Konuyla ilgili bu tezdende elde edilen veriler paylaşılmış olup, parametre aralıklarının belirlenmesi gerektiği,
- Yapılacak daha kapsamlı çalışmalar, gelişen teknoloji ve yapay zekâyla birlikte ekotekstür analizinin ultrasonografiye entegre edilmesinin mastitis tanısına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Bu tezdeki verilerin gelecekte yapılacak olan çalışmalara örnek oluşturması ve katkı sağlaması açısından önemli bir paya sahip olabileceği kanaatine varıldı.

7.KAYNAKLAR

1. Akman N, Tuncel E, Tüzemen N, et al. Türkiye Sığırcılık işletmelerinin Yapısı ve geleceğin Sığırcılık işletmeleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII Teknik Kongresi Bildiriler (II). 2010; 651-65.
2. Lucy M. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J Dairy Sci. 2001; 84(6): 1277-93.
3. De Vliegher S, Fox L, Piepers S, McDougall S, Barkema H. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. J Dairy Sci. 2012; 95(3): 1025-40.
4. Ruegg PL. Investigation of mastitis problems on farms. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2003; 19(1): 47-73.
5. Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. Vet Q. 2007; 29(1): 18-31.
6. Gomes F, Henriques M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. Curr Microbiol. 2016; 72(4): 377-82.
7. Jamali H, Barkema HW, Jacques M, et al. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. J Dairy Sci. 2018; 101(6): 4729-46.
8. Hogeveen H, Huijps K, Lam T. Economic aspects of mastitis: new developments. N Z Vet J. 2011; 59(1): 16-23.
9. Kumari T, Bhakat C, Singh AK. Adoption of management practices by the farmers to control sub-clinical mastitis in dairy cattle. J Entomol Zool Stud. 2020; 8(2): 924-7.
10. Radinović M, Davidov I, Kovačević Z, et al. Transmission of *Coxiella burnetii* to calves from infected cows. Acta Sci. Vet. 2019; 47(1).
11. Sharma N, Singh SG, Sharma S, Gupta S, Hussain K. Mastitis occurrence pattern in dairy cows and importance of related risk factors in the occurrence of mastitis. J Anim Res. 2018; 8(2): 315-26.
12. Sordillo LM. Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2018; 34(3): 507-23.
13. Rişvanlı A, Doğan H, Şafak T, Öcal H. Memenin savunma sistemi: Meme savunmasında meme başı ve meme başı kanalının rolü. Editör: Öcal H. İneklerde Mastitis Dışındaki Meme, Meme Başı ve Meme Derisinin Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2019: 1-10.
14. Kaçar C, Kırşan İ. Memenin Savunma Mekanizmaları. Editörler: Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Medipres. 2016: 41-58.

15. Rainard P, Riollot C. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res.* 2006; 37(3): 369-400.
16. Abbas A, Lichtman A. Hümorale immün yanıtlar: B lenfosit aktivasyonu ve antikor üretimi Çeviri Editörleri: Camcıoğlu Y, Deniz G. *Temel İmmünoloji: İmmün sistemin işlev ve bozuklukları İstanbul Tıp Kitabevi.* 2007: 123-42.
17. Adlerova L, Bartoskova A, Faldyna M. Lactoferrin: a review. *Vet Med.* 2008; 53(9): 457-68.
18. Mehrzad J, Janssen D, Duchateau L, Burvenich C. Increase in *Escherichia coli* inoculum dose accelerates CD8+ T-cell trafficking in the primiparous bovine mammary gland. *J Dairy Sci.* 2008; 91(1): 193-201.
19. Sordillo LM. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livest Prod Sci.* 2005; 98(1-2): 89-99.
20. Şendağ S, Emre B. Memenin Morfolojisi. Editörler: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A. *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Medipres.* 2016: 1-17.
21. Guan R, Xu W, Yuan L, et al. Immunomodulatory effect of thymopentin on lymphocytes from supramammary lymph nodes of dairy cows. *Immunol Lett.* 2019; 216: 1-8.
22. Michel G. Anatomie der Milchdrüse in: Wendt, Bostedt, H.; Mielke, Fuchs, FH: *Euter und Gesäugekrankheiten. Fischer Verlag, Jena Stuttgart;* 1994.
23. Xu W, Du A, Hu S. Transcriptome analysis of bovine lymphocytes stimulated by *Atractylodes macrocephalae* Koidz. polysaccharides in vitro. *Vet Immunol Immunopathol.* 2018; 196: 30-34.
24. İlhan Z. Mastitiste Teşhis ve İmmünoprolaksi. Editör: Şendağ S. *Mastitis. Ankara: Türkiye Klinikleri;* 2018: 1-6.
25. Arda M. Özel Mikrobiyoloji: Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. 1992.
26. Waage S, Ødegaard S, Lund A, Brattgjerd S, Røthe T. Case-control study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2001; 84(2): 392-9.
27. Bergonier D, De Crémoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res.* 2003; 34(5): 689-716.
28. Contreras A, Sierra D, Sánchez A, et al. Mastitis in small ruminants. *Small Rumin Res.* 2007; 68(1-2): 145-53.
29. İlhan Z, Ekin İH, Koltas S, et al. Occurrence of fungal agents in mastitis in dairy goats. *J Anim Plant Sci.* 2016; 29(3): 4691-700.

30. Bergonier D, Berthelot X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livest Prod Sci.* 2003; 79(1): 1-16.
31. Ekin IH, Gurturk K. Characterization of bovine and human group B streptococci isolated in Turkey. *J Med Microbiol.* 2006; 55(5): 517-21.
32. Stuhr T, Aulrich K. Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforschung.* 2010; 60(4): 267-79.
33. İlhan Z, Taşal İ, Sağcan S, Solmaz H. Subklinik mastitisli keçi sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 2011; 22(2): 89-91.
34. Vural R, Ergün Y, Özenç E. Büyük Ruminantlarda Mastitis. Editörler: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A. *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Medipres.* 2016: 149-259.
35. Sarma O, Hussain J. Bovine Mastitis: An Overview. *Vigyan Varta.* 2021; 2: 54-9.
36. Tomita G, Hart S. The mastitis problem. *Proc 16th Ann Goat Field Day Langston University, Langston, Oklahoma.* 2001: 6-9.
37. Argaw A. Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. *Food Sci Qual Manag.* 2016; 52(6): 56-65.
38. Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol.* 2009; 27(8): 486-93.
39. Zecconi A. Contagious mastitis control program: the *Staphylococcus aureus* case. *Cattle Practise.* 2006; 14(2): 67-75.
40. Hogan J, Smith K. A practical look at environmental mastitis. *The compendium on continuing education for the practicing veterinarian, USA.* 1987.
41. Bytyqi H, Zaugg U, Sherifi K, et al. Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosova. *Veterinarski arhiv.* 2010; 80(2): 173-83.
42. Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. Mastitis In: *Veterinary Medicine, A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.* Edn 9th publ Book power with Saunders, London. 2000; 611-3.
43. McDonald J. Streptococcal ve Staphylococcal Mastitis. 269-286. Ed. JJ Jarett In: "The Veterinary Clinics of North America". WB Saunders Com., Philadelphia; 1984.
44. Matthews K, Harmon R, Langlois B. Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *J Dairy Sci.* 1992; 75(7): 1835-9.
45. Quinn P, Carter M, Markey B, Carter G. *Clinical Veterinary Microbiology, Mosby Year Book.* Europe, London and England. 1994.

46. Şahin A, Yıldırım A. Mandalarda Mastitis Olgusu. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 2015; 3(1): 1-8.
47. Lam T, Olde Riekerink R, Sampimon O, Smith H. Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach. *Ir Vet J*. 2009; 62(4): 1-6.
48. Boutinaud M, Jammes H. Potential uses of milk epithelial cells: a review. *Reprod Nutr Dev*. 2002; 42(2): 133-47.
49. Emanuelson U, Olsson T, Holmberg O, et al. Comparison of some screening tests for detecting mastitis. *J Dairy Sci*. 1987; 70(4): 880-7.
50. Radostits O, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. *Veterinary medicine*. 2000; 9: 603-700.
51. Sharma N, Singh N, Bhadwal M. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2011; 24(3): 429-38.
52. Sangam S, Singh V, Ramachandra B. Bovine mastitis: an overview of detection methods. *Vigyan Varta*. 2021; 2: 54-59.
53. Federation ID. Guidelines for the use and interpretation of bovine milk somatic cell counts (SCC) in the dairy industry. *Bulletin of the International Dairy Federation*. IDF Belgium; 2013.
54. Piccinini R, Binda E, Belotti M, Dapra V, Zeconi A. Evaluation of milk components during whole lactation in healthy quarters. *J Dairy Res*. 2007; 74(2): 226-32.
55. Schwarz D, Diesterbeck US, König S, et al. Microscopic differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *J Dairy Res*. 2011; 78(4): 448-55.
56. Zeconi A, Vairani D, Cipolla M, Rizzi N, Zanini L. Assessment of subclinical mastitis diagnostic accuracy by differential cell count in individual cow milk. *Ital J Anim Sci*. 2019; 18(1):460-5.
57. Rivas AL, Quimby FW, Blue J, Coksaygan O. Longitudinal evaluation of bovine mammary gland health status by somatic cell counting, flow cytometry, and cytology. *J Vet Diagn Invest*. 2001; 13(5): 399-407.
58. Pilla R, Schwarz D, König S, Piccinini R. Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *J Dairy Res*. 2012; 95(8): 4410-20.
59. Pilla R, Malvisi M, Snel G, et al. Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. *J Dairy Res*. 2013; 96(3): 1653-60.

60. Damm M, Holm C, Blaabjerg M, Bro MN, Schwarz D. Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. *J Dairy Res.* 2017; 100(6): 4926-40.
61. Seker I, Risvanli A, Yuksel M, Saat N, Ozmen O. Relationship between California Mastitis Test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. *Aust Vet J.* 2009; 87(12): 480-3.
62. Fosgate GT, Petzer I-M, Karzis J. Sensitivity and specificity of a hand-held milk electrical conductivity meter compared to the California mastitis test for mastitis in dairy cattle. *Vet J.* 2013; 196(1): 98-102.
63. Ferronato JA, Ferronato TC, Schneider M, et al. Diagnosing mastitis in early lactation: use of Somaticell®, California mastitis test and somatic cell count. *Ital J Anim Sci.* 2018; 17(3): 723-9.
64. Lam T, Van Den Borne B, Jansen J, et al. Improving bovine udder health: A national mastitis control program in the Netherlands. *J Dairy Sci.* 2013; 96(2): 1301-11.
65. Middleton JR, Hardin D, Steevens B, Randle R, Tyler JW. Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. *J Am Vet Med Assoc.* 2004; 224(3): 419-23.
66. Leach K, Green M, Breen J, et al. Use of domestic detergents in the California mastitis test for high somatic cell counts in milk. *Vet Rec.* 2008; 163(19): 566-70.
67. Kathiriya J, Shah N. A comparative study of different tests for diagnosis of sub-clinical mastitis in camels. *Indian J Animal Res.* 2009;43:6703-22.
68. Sangam S, Singh V, Ramachandra B. Bovine mastitis: an overview of detection methods. *International Research Journal.* 2021; 3(4): 686-99.
69. Hamann J, Zecconi A. Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. *International Dairy Federation.* 1998.
70. Kaşıkçı G, Çetin Ö, Bingöl EB, Gündüz MC. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences.* 2012; 36(1): 49-55.
71. Timurkan H. İneklerde california mastitis testi ve sütün elektrik iletkenliğinin karşılaştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi.* 2014; 28(3): 135-6.
72. Saydan M, Kalkan C. Malatya Arguvan Yöresinde Süt İneklerinde Sublinik Mastitis Prevalansı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi.* 2017; 31(3): 193-200.

73. Kitchen BJ. Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *J Dairy Res.* 1981; 48(1): 167-88.
74. Korhonen HJ, Kaartinen L. Changes in the composition of milk induced by mastitis. *The Bovine Udder and Mastitis/Editors Markus Sandholm et al.* 1995.
75. Biggadike H, Ohnstad I, Laven R, Hillerton J. Evaluation of measurements of the conductivity of quarter milk samples for the early diagnosis of mastitis. *Vet Rec.* 2002; 150(21): 655-8.
76. Jensen NE, Knudsen K. Interquarter comparison of markers of subclinical mastitis: somatic cell count, electrical conductivity, N-acetyl- β -glucosaminidase and antitrypsin. *J Dairy Res.* 1991; 58(4): 389-99.
77. Hamann J. Relationships between somatic cell count and milk composition. *Bulletin of the International Dairy Federation.* 2002.
78. Galfi A, Radinović M, Milanov D, et al. Electrical conductivity of milk and bacteriological findings in cows with subclinical mastitis. *Biotechnology in Animal Husbandry.* 2015; 31(4): 533-41.
79. Nielen M, Deluyker H, Schukken Y, Brand A. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. *J Dairy Res.* 1992; 75(2): 606-14.
80. Pyörälä S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res.* 2003; 34(5): 565-78.
81. Issaq HJ, Blonder J. Electrophoresis and liquid chromatography/tandem mass spectrometry in disease biomarker discovery. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 2009 ;877(13): 1222-8.
82. Singh M, Sharma A, Mittal D, Yadav P, Charaya G. Assessment of lactate dehydrogenase enzyme activity in milk as a marker for detection of subclinical mastitis. *J Anim Res.* 2016; 6(2): 113-6.
83. Persson Y, Larsen T, Nyman A-K. Variation in udder health indicators at different stages of lactation in goats with no udder infection. *Small Ruminant Research.* 2014; 116(1): 51-6.
84. Abdel-maged AD, El Sheita WA, Abdelwahab MG. Biochemical study of DNA markers for Bacterial infection in bovine mastitis. *Benha Veterinary Medical Journal.* 2016; 31(2): 93-100.
85. Abdelmegid S, Murugaiyan J, Abo-Ismael M, et al. Identification of host defense-related proteins using label-free quantitative proteomic analysis of milk whey from cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Int J Mol Sci.* 2017; 19(1): 78.

86. Ryskaliyeva A, Henry C, Miranda G, et al. Combining different proteomic approaches to resolve complexity of the milk protein fraction of dromedary, Bactrian camels and hybrids, from different regions of Kazakhstan. *PloS one*. 2018; 13(5): e0197026.
87. Raynes JG. The acute phase response. *Biochem Soc Trans*. 1994; 22(1): 69-74.
88. Pannen B, Robotham J. The acute-phase response. *New Horiz*. 1995; 3(2): 183-97.
89. Eckersall P, Conner J. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun*. 1988; 12(2): 169-78.
90. Tamura K, Yatsu T, Itoh H, Motoi Y. Isolation, characterization, and quantitative measurement of serum. ALPHA. 1-acid glycoprotein in cattle. *Jpn J Vet Sci*. 1989; 51(5): 987-94.
91. Boosman R, Niewold TA, Mutsaers CW, Gruys E. Serum amyloid A concentrations in cows given endotoxin as an acute-phase stimulant. *Am J Vet Res*. 1989; 50(10): 1690-4.
92. Eckersall P, Young F, McComb C, et al. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet Rec*. 2001; 148(2): 35-41.
93. Hussein HA, Abd El KAE-H, Gomaa AM, et al. Milk amyloid A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. *Vet World*. 2018; 11(1): 34.
94. Thomas F, Geraghty T, Simões P, et al. A pilot study of acute phase proteins as indicators of bovine mastitis caused by different pathogens. *Res Vet Sci*. 2018; 119: 176-81.
95. Szczubial M, Dabrowski R, Kankofer M, Bochniarz M, Komar M. Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different pathogens. *Pol J Vet Sci*. 2012; 15(2).
96. Bu R, Wang J, DebRoy C, et al. Development of an indirect ELISA for bovine mastitis using Sip protein of *Streptococcus agalactiae*. *Iran J Vet Res*. 2015; 16(3): 283.
97. Jaeger S, Virchow F, Torgerson PR, et al. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. *J Dairy Sci*. 2017; 100(9): 7419-26.
98. Fox L, Adams D. The ability of the enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibody against *Staphylococcus aureus* in milk following experimental intramammary infection. *J Vet Med. Series B*. 2000; 47(7): 517-26.
99. Duarte CM, Freitas PP, Bexiga R. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *J Vet Diagn Invest*. 2015; 27(6): 665-72.
100. Vreugdenhil AC, Dentener MA, Snoek AP, Greve J-WM, Buurman WA. Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J Immunol*. 1999; 163(5): 2792-8.

101. Miller AJ, Luheshi GN, Rothwell NJ, Hopkins SJ. Local cytokine induction by LPS in the rat air pouch and its relationship to the febrile response. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1997; 272(3): R857-R61.
102. Nielsen B, Jacobsen S, Andersen P, Niewold TA, Heegaard PM. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Vet Rec*. 2004; 154(12): 361-5.
103. McDonald TL, Larson MA, Mack DR, Weber A. Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001; 83(3-4): 203-11.
104. Chakraborty S, Dhama K, Tiwari R, et al. Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population—A review. *Vet Q*. 2019; 39(1): 76-94.
105. Franz S, Floek M, Hofmann-Parisot M. Ultrasonography of the bovine udder and teat. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2009; 25(3): 669-85.
106. Haskell SR. *Blackwell's five-minute veterinary consult: ruminant*: John Wiley & Sons; 2011.
107. Dinç DA, Musal B. *Meme Cerrahisi*. Editörler: Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları*. Medipres. 2016: 359-92.
108. Ayadi M, Caja G, Such X, Knight CH. Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. *J Dairy Res*. 2003; 70(1): 1-7.
109. Szencziová I, Strapák P. Ultrasonography of the udder and teat in cattle: perspective measuring technique. *Slovak Journal of Animal Science*. 2012; 45(3):9 6-104.
110. Fasulkov I. Ultrasonography Of The Mammary Gland In Ruminants: A Review. *Bulg J Vet Med*. 2012; 15(1).
111. Çelik HA. İneklerde Meme Ultrasonografisi. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2018; 4(1): 35-42.
112. Cartee R, Ibrahim A, McLeary D. B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *J Am Vet Med Assoc*. 1986; 188(11): 1284-7.
113. McDonald J. Radiographic method for anatomic study of the teat canal: changes between milking periods. *Am J Vet Res*. 1975; 36(08): 1241-2.
114. Seyfried G. The sonographic measurement of teat structures and the significance for udder health of "Braun-and-Fleckvieh" cows: thesis, University of veterinary Medicine vienna, austria; 1992.

115. Lacy-Hulbert SJ, Hillerton JE. Physical characteristics of the bovine teat canal and their influence on susceptibility to streptococcal infection. *J Dairy Res.* 1995; 62(3): 395-404.
116. Klein D, Flöck M, Khol JL, et al. Ultrasonographic measurement of the bovine teat: breed differences, and the significance of the measurements for udder health. *J Dairy Res.* 2005; 72(3): 296-302.
117. Khol JL, Franz S, Klein D, et al. Influence of milking technique and lactation on the bovine teat by means of ultrasonographic examination. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2006; 119(1/2): 68.
118. Rovai M, Kollmann M, Bruckmaier R. Incontinentia lactis: Physiology and anatomy conducive to milk leakage in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2007; 90(2): 682-90.
119. Prayer L, Winkelbauer H, Gritzmann N, et al. Sonography versus palpation in the detection of regional lymph-node metastases in patients with malignant melanoma. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1990; 26(7): 827-30.
120. Grimm H, Hamper K, Binmoeller K, Soehendra N. Enlarged lymph nodes: malignant or not? *Endoscopy.* 1992; 24(S 1): 320-3.
121. Bruneton J-N, Balu-Maestro C, Marcy P-Y, Melia P, Mourou M-Y. Very high frequency (13 MHz) ultrasonographic examination of the normal neck: detection of normal lymph nodes and thyroid nodules. *J Ultrasound Med.* 1994; 13(2): 87-90.
122. Bradley K, Bradley A, Barr F. Ultrasonographic appearance of the superficial supramammary lymph nodes in lactating dairy cattle. *Vet Rec.* 2001; 148(16): 497-501.
123. Khoramian B, Vajhi A, Ghasemzadeh-Nava H, Ahrari-Khafi M, Bahonar A. Ultrasonography of the supramammary lymph nodes for diagnosis of bovine chronic subclinical mastitis. *Iran J Vet Res.* 2015; 16(1): 75.
124. Risvanli A, Dogan H, Safak T, Kilic MA, Seker I. The relationship between mastitis and the B-mode, colour Doppler ultrasonography measurements of supramammary lymph nodes in cows. *J Dairy Res.* 2019; 86(3): 315-8.
125. Rogers K, Landis M, Barton C. Canine and feline lymph nodes. I. Anatomy and function. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA).* 1993.
126. Nakamura K, Sasaki N, Yoshikawa M, et al. Quantitative contrast-enhanced ultrasonography of canine spleen. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009; 50(1): 104-8.
127. Cengiz M, Kanca H, Salar S, et al. Endometrial echotexture parameters in Turkish Saanen Goats (Akkeci) during oestrus and early pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 2014; 146(1-2): 27-33.

128. Cengiz M, Çolak A, Polat B, Asgar MF. Veteriner Jinekolojide Genital Organların Ultrasonografik B-Mode Ekotekstür Analizi. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi. 2018; 4(1): 55-61.
129. Küçükaslan İ. Kronik endometritisli ineklerde Lotagen® uygulaması sonrası endometriyumdaki ekostruktur değişikliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, 2010.
130. Griffin P, Ginther O. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. J Anim Sci. 1992; 70(3): 953-72.
131. Kot K, Ginther O. Ultrasonic characterization of ovulatory follicular evacuation and luteal development in heifers. Reproduction. 1999; 115(1): 39-43.
132. Cannazik O. Holstein ırkı ineklerde suni tohumlama sonrası farklı günlerde endometriyal ekotekstürün değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Kars: Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
133. Küçükaslan I, Kaya D, Emre B, et al. Evaluation of endometrial echotexture and cervical cytology in cows during and after treatment of endometritis. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 2014; 42(06): 343-50.
134. Raut MA, Patil MMA, Dhondrikar MCP, Kamble MSD. Texture Parameters Extraction of Satellite Image. IJSTE-International Journal of Science Technology & Engineering. 2016; 2(11).
135. Raeth U, Schlaps D, Limberg B, et al. Diagnostic accuracy of computerized B-scan texture analysis and conventional ultrasonography in diffuse parenchymal and malignant liver disease. J Clin Ultrasound. 1985; 13(2): 87-99.
136. Lefebvre F, Meunier M, Thibault F, Laugier P, Berger G. Computerized ultrasound B-scan characterization of breast nodules. Ultrasound Med Biol. 2000; 26(9): 1421-8.
137. Delorme S, Weisser G, Zuna I, et al. Quantitative characterization of color Doppler images: reproducibility, accuracy, and limitations. J Clin Ultrasound. 1995; 23(9): 537-50.
138. Cohen J. The analysis of variance and covariance. Statistical power analysis for the behavioural sciences. 1988.
139. Vural R, Ergün Y, Özenç E. Büyük Ruminantlarda Mastitis. Editörler: Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Medipres. 2016: 197-200.
140. Shahid M, Sabir N, Ahmed I, et al. Diagnosis of subclinical mastitis in bovine using conventional methods and electronic detector. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. 2011; 6(11): 18-22.

141. Saat, N., A. Risvanli, I. Seker, E. Kaygusuzoglu and A. Koseman, Optimization of the estrus synchronization method and determining its effect on bulk tank milk somatic cell count in dairy cattle farming. *Int J Agric Biol.* 2017; 19: 801–804.
142. Karagöz Y. *SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik, Güncellenmiş 2. Basım*, Nobel Yayınevi, Ankara. 2015.
143. Santos V, Simplício K, Sanchez D, et al. B-Mode and Doppler Sonography of the Mammary Glands in Dairy Goats for Mastitis Diagnosis. *Reprod Domest Anim.* 2015; 50(2): 251-5.
144. Schwarz T, Scheeres N, Małopolska MM, et al. Associations between mammary gland echotexture and milk composition in cows. *Animals.* 2020; 10(11): 2005.
145. Castellano G, Bonilha L, Li L, Cendes F. Texture analysis of medical images. *Clin Radiol.* 2004; 59(12): 1061-9.
146. Olechnowicz J, Jaśkowski JM. Ultrasound examination of mammary glands in ruminants. *Med Weter.* 2009; 65: 147-50.
147. Makovický P, Nagy M, Makovický P. Comparison of external udder measurements of the sheep breeds Improved Valachian, Tsigai, Lacaune and their crosses. *Chilean journal of agricultural research.* 2013; 73(4): 366-71.
148. Gümüş S. İvesi Irkı Koyunlarda Erken Gebelik Teşhisinde Uterus Endometriyumunun Ekotekstürel Olarak Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2022.
149. Chacher MFA. İneklerde postpartum ekotekstür değişikliklerinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018.
150. Aydemir FG. Arap Kısıraklarda Seksüel Siklus Döneminde Endometriyal Ekotekstür Değişiminin İzlenmesi. Yüksek lisans Tezi, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2022.
151. Demir MC. İneklerde Gebeliğin Son Döneminde Plasentom Perfüzyonu Ve Ekotekstür Bulguları İle Endokrin Değişiklikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Kars: Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2021.
152. Murawski M, Schwarz T, Jamieson M, Ahmadi B, Bartlewski PM. Echotextural characteristics of the mammary gland during early lactation in two breeds of sheep varying in milk yields. *Animal Reproduction.* 2019; 16: 853-8.