



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SPEED MAM COLOR™ TESTİ'NİN İNEKLERDE ÖNEMLİ
MASTİTİS PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE SPESİFİTE VE
SENSİTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuğba OĞUZ

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SPEED MAM COLOR™ TESTİ'NİN İNEKLERDE ÖNEMLİ
MASTİTİS PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE SPESİFİTE VE
SENSİTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuğba OĞUZ

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN**

**ANKARA
2023**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Speed Mam Color TM Testi ‘nin İneklerde Önemli Mastitis Patojenlerinin Teşhisinde Spesifite ve Sensitivitesinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel etik ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda

Tuğba OĞUZ tarafından hazırlanan

“Speed Mam Color™ Testi ‘nin İneklerde Önemli Mastitis Patojenlerinin Teşhisinde

Spesifite ve Sensitivitesinin Araştırılması” adlı

tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS /DOKTORA TEZİ olarak OY
ÇOKLUĞU/ OY BİRLİĞİ ile kabul/red edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/ 11/ 2023

Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL
Gazi Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK
Ankara Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Seçkin SALAR
Ankara Üniversitesi
(Raportör)

Dr. Öğr. Üyesi Taha Burak ELİFOĞLU
Kırıkkale Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Speed Mam Color™ Testi'nin İneklerde Önemli Mastitis Patojenlerinin Teşhisinde Spesifite ve Sensitivitesinin Araştırılması

Mastitis, meme bezinin yangısı olarak bilinen, süt inekçiliğinde yaygın olarak gözlenen ve en fazla ekonomik kayba neden olan bir hastalıktır. Hastalık etkenlerinin saha koşullarında hızlı teşhis edilmesi, hastalığa neden olan patojenlerin belirlenerek tedaviye erken başlanmasıyla birlikte tedavi başarı şansı artmakta ve antibiyotiklerin daha etkin kullanımı sağlanmaktadır. Sunulan bu tez çalışmasının amacı Speed Mam Color™ testinin ineklerde önemli mastitis patojeni olarak bilinen *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Streptococcus uberis* ve *Escherichia coli*'nin teşhisinde güvenilirliğinin araştırılmasıdır. Çalışma kapsamında testin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivite çalışmalarında kullanılmak üzere anamnezi alınmış sağlıklı sürülerden; en az bir kez doğum yapmış, laktasyonun 5. ve 200. günleri arasında, sağlıklı ve klinik herhangi bir belirti göstermeyen meme loblarından, 15 gün öncesine kadar antibiyotik veya nonsteroidal bir ilaç tedavisi uygulanmamış ineklerden toplanan sütler kullanılmıştır. Referans suşlar kullanılarak kontamine edilen süt örnekleriyle hedef her bir bakteri için 7 farklı dilüsyon hazırlanarak dilüsyon oranlarının kontrolü için test kitine paralel olarak her bir bakteri dilüsyonu mikrobiyolojik kültüre ekilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 10 katlı azalan bakteri üremelerinin gözlenmesi dilüsyonun doğru şekilde yapıldığını göstermiştir. Test kiti ile pozitif sonuç alınan en düşük konsantrasyon kitin deteksiyon limiti olarak belirlenmiştir. Buna göre yapılan testler sonucunda 48 saatin sonunda Speed Mam Color™ kitine ait tespit limiti sonuçları *Staphylococcus* spp. için 10^1 CFU/ml; *Streptococcus* spp. için 10^3 CFU/ml; *S. uberis* için 10^3 CFU/ml; *E. coli* için 10^1 CFU/ml olarak bulundu. Duyarlılık ve özgüllüğün belirlenmesi amacıyla her bir hedef bakterinin referans suşu, kültür yöntemiyle *nutrient broth* sıvı besi yerinde üretilerek konsantrasyonları *McFarland* 0.5'e göre ayarlanmış ve Speed Mam Color™ prospektüsünde belirtilen tespit limitinin üzerinde olmak üzere farklı konsantrasyonları ($>10^3$) sağlıklı süt içeren 5 tüpte dilüe edilerek elde edilen farklı konsantrasyonlar bu tüplerden 1'er ml alınıp 4 ml sağlıklı süt içeren 25 adet tüpe rastgele dağıtıldı. Bu sayede her hedef için elde edilen 25 kontamine 25 sağlıklı süt numunesi mikrobiyolojik kültür yöntemi ve Speed Mam Color™ ile test edilmiştir. Speed Mam Color™ testinin spesifitesi *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* için %100 iken, sensitivite ise *Staphylococcus* spp. %100, *Streptococcus* spp., için %92, *S. uberis* için %92 ve *E. coli* %96 olarak bulundu. Pozitif prediktif değeri (PPV) değeri *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* için %100 iken, negatif prediktif değeri (NPV) değeri ilgili bakteriler için sırasıyla %100, %93, %93 ve %96; kesinlik (Ac) değeri ise sırasıyla %100, %96, %96 ve %98 olarak hesaplandı. Çalışmanın diğer aşaması olan testin doğrulanmasında, yukarı belirtilen kriterler göz önünde tutularak ineklere CMT uygulanmış ve CMT sonuçlarına göre pozitiflik gösteren 318 süt numunesi toplandı. Speed Mam Color™ testinin doğrulanması amacıyla toplanan CMT pozitif olan 318 adet subklinik mastitisli süt numunesini karşılaştırmada altın standart yöntem olarak kabul edilen mikrobiyolojik kültür yöntemi kullanılmıştır. Kültür yöntemi ile test edilen sütler, Speed Mam Color™ testinde analiz edilen bakteri sonuçları karşılaştırıldı. Süt örneğinde 3'ten fazla koloni tespit edilmesi kontaminasyon olarak kabul edilirken; 2-3 koloni tespit edildiğinde miks enfeksiyon olarak olarak tanımlandı. Subklinik mastitisli süt örnekleri yapılan araştırmada hedef bakterilerin 5 farklı farklı kombinasyonu elde edilirken, bazı hedef bakterilerin Speed Mam Color™ ve mikrobiyolojik kültürde üreme durumları incelendiğinde verifikasyon çalışmasının sonucunda Speed Mam Color™ testinin spesifitesi *Staphylococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* için %100 iken, *Streptococcus* spp., için %95, sensitivite ise *Staphylococcus* spp. %96, *Streptococcus* spp., için %83, *S. uberis* ve *E. coli* için %100 olarak bulundu. PPV değeri *Staphylococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* için %100 iken, *Streptococcus* spp. için %94 olarak hesaplandı. NPV değeri ilgili bakteriler için sırasıyla %95, %87, %100 ve %100; Ac değeri ise sırasıyla %98, %90, %100 ve %100 olarak hesaplandı. Sonuç olarak Speed Mam Color™ testinin saha koşullarında mastitise neden olan önemli mastitis patojenlerini teşhis etmede kullanılabilecek bir test olabileceği düşünüldü.

Anahtar Sözcükler: Bakteri, hızlı test, mastitis, mikrobiyolojik yöntem, Speed Mam Color™

SUMMARY

Investigation of the Specificity and Sensitivity of the Speed Mam Colour™ Test in the Diagnosis of Important Mastitis Pathogens in Cows

Mastitis, known as inflammation of the mammary gland, is a disease that is widely observed in dairy farming and causes the highest economic loss. Rapid diagnosis of the disease agents in field conditions, identification of the pathogens causing the disease and early initiation of treatment increases the chance of success and more effective use of antibiotics. The aim of this thesis is to investigate the reliability of Speed Mam Colour™ test in the diagnosis of *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli*, which are known as important mastitis pathogens in cows. Within the scope of the study, milk collected from healthy herds, which had given birth at least once, between the 5th and 200th days of lactation, healthy, without any clinical symptoms, without udder abnormalities, without antibiotic or nonsteroidal drug treatment until 15 days ago were used for the determination of the detection limit of the test, specificity and sensitivity studies. With milk samples contaminated with reference strains, 7 different dilutions were prepared for each target bacteria and each bacterial dilution was added to the microbiological culture in parallel with the test kit to control the dilution rates and left for incubation. The observation of 10-fold decreasing bacterial growth at the end of incubation showed that the dilution was performed correctly. The lowest concentration at which positive results were obtained with the test kit was determined as the detection limit of the kit. As a result of the tests performed accordingly, the detection limit results of the Speed Mam Colour™ kit at the end of 48 hours were 10¹ CFU/ml for *Staphylococcus* spp.; 10³ CFU/ml for *Streptococcus* spp.; 10³ CFU/ml for *S. uberis*; 10¹ CFU/ml for *E. coli*. In order to determine the sensitivity and specificity, the reference strain of each target bacterium was grown in nutrient broth liquid medium by culture method, the concentrations were adjusted according to McFarland 0.5 and different concentrations (>10³ CFU/ml) above the detection limit specified in the Speed Mam Colour™ package insert were diluted in 5 tubes containing healthy milk and the different concentrations obtained were randomly distributed to 25 tubes containing 4 ml of healthy milk by taking 1 ml each from these tubes. In this way, 25 contaminated 25 healthy milk samples obtained for each target were tested by microbiological culture method and Speed Mam Colour™. The specificity of the Speed Mam Colour™ test was 100% for *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S.uberis* and *E. coli*, while the sensitivity was 100% for *Staphylococcus* spp., 92% for *Streptococcus* spp., 92% for *S.uberis* and 96% for *E. coli*. The positive predictive value (PPV) value was 100% for *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S. uberis* and *E. coli*, while the negative predictive value (NPV) value was 100%, 93%, 93% and 96%, and the accuracy (Ac) value was 100%, 96%, 96% and 98%, respectively. In the other stage of the study, which was the verification of the test, CMT was applied to the cows considering the above mentioned criteria and 318 milk samples showing positivity according to CMT results were collected. Microbiological culture method, which is accepted as the gold standard method, was used to compare 318 CMT positive milk samples with subclinical mastitis collected for the verification of Speed Mam Colour™ test. Milk samples tested by culture method were compared with the bacterial results analysed in the Speed Mam Colour™ test. Detection of more than 3 colonies in the milk sample was considered as contamination; when 2-3 colonies were detected, it was defined as mixed infection. While 5 different combinations of target bacteria were obtained in the study of milk samples with subclinical mastitis, when the growth status of some target bacteria in Speed Mam Colour™ and microbiological culture was examined, the specificity of the Speed Mam Colour™ test was determined as *Staphylococcus* spp, *S.uberis* and *E. coli* was 100%, for *Streptococcus* spp. 95%, sensitivity was 96% for *Staphylococcus* spp. 96%, for *Streptococcus* spp. 83%, for *S.uberis* and *E. coli* 100%. PPV value was calculated as 100% for *Staphylococcus* spp., *S.uberis* and *E. coli* and 94% for *Streptococcus* spp. NPV values were 95%, 87%, 100% and 100% for the related bacteria, and Ac values were 98%, 90%, 100% and 100%, respectively. As a result, it was thought that the Speed Mam Colour™ test could be a test that can be used to diagnose important mastitis pathogens causing mastitis under field conditions.

Keywords: Bacteria, mastitis, microbiological method, rapid test, Speed Mam Colour™

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiii

1.GİRİŞ	1
1.1. Mastitis	3
1.1.1. Mastitisin Önemi	4
1.1.2. Mastitislerin Sınıflandırılması	8
1.1.2.1. Klinik Mastitisler	9
1.1.2.1.1. Perakut Mastitis	9
1.1.2.1.2. Akut Mastitis	9
1.1.2.1.3. Subakut Mastitis	10
1.1.2.1.4. Kronik Mastitisler	10
1.1.2.2. Subklinik Mastitisler	10
1.2. Mastitise Neden Olan Mikroorganizmalar	11
1.2.1. Bulaşıcı Mikroorganizmalar	12
1.2.1.1. <i>Staphylococcus</i> spp.	12
1.2.1.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
1.2.1.1.2. <i>Streptococcus agalactiae</i>	13
1.2.1.1.3. <i>Mycoplasma bovis</i>	15
1.2.1.1.4. <i>Corynebacterium bovis</i>	16
1.2.2. Çevresel Mikroorganizmalar	16
1.2.2.1. Çevresel Streptokoklar	17
1.2.2.1.1. <i>Streptococcus uberis</i>	18
1.2.2.1.2. <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	19
1.2.2.2. Koliformlar	21
1.2.2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	21
1.2.2.2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
1.2.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar	24
1.2.3.1. Koagülaz Negatif Staphylococlar (KNS)	24
1.2.3.2. Diğer Mikroorganizmalar	25
1.2.3.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
1.2.3.2.2. <i>Arcanobacterium pyogenes</i>	27
1.2.3.2.3. Algler (Prototheca)	28
1.2.3.2.4. Mayalar	28
1.3. Mastitislerin Tanısı	28
1.3.1. Mastitisin Genel Göstergeleri	29
1.3.1.1. Fizikokimyasal Teşhis	30
1.3.1.2. Somatik Hücre Sayısı (SHS)	30
1.3.1.3. California Mastitis Test (CMT)	30
1.3.1.4. Otomatik Dijital Teşhis Sistemleri	31

1.3.1.5. İnfra-Red Termografi (IRT)	31
1.3.1.6. Sensör Tabanlı Mastitis Tespit Sistemleri	32
1.3.2. Mastitiste Kullanılan Spesifik Tanı Testleri	32
1.3.2.1. Mikrobiyolojik Kültür	33
1.3.2.2. Çiftliklerde Kullanıma Uygun Hızlı Tanı Yöntemleri (On- Farm Culture, OFC)	35
1.3.2.2.1. Hızlı Kültür Plakaları	37
1.3.2.2.2. Petrifilm Sistemi	39
1.3.2.2.2. Besi Yerlerindeki Renk Değişimleri Esaslı (Kolorimetrik) Testler	41
1.3.2.3. PCR Bazlı Metodlar	42
1.3.2.4. Prob Tabanlı ve Nanopartikül Tabanlı Analiz	43
1.3.2.5. Protein Bazlı Teşhisler	44
1.3.2.6. Proteomik Yaklaşımlar	44
1.3.2.7. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyonu (MALDI)	45
1.4. Mastitiste Etken Bilmek Neden Önemlidir?	45
2. GEREÇ VE YÖNTEM	51
2.1. Gereç	51
2.1.1. Süt Örnekleri	51
2.1.2. Referans Bakteri Suşları	51
2.1.3. Besiyeri	51
2.1.4. Hızlı Tanı Kiti	52
2.1.5. Kullanılan Diğer Malzemeler	52
2.2. Yöntem	52
2.2.1. Süt Örneklerinin Alınması	52
2.2.2. Tespit Limitinin Belirlenmesi	53
2.2.3. Spesifite ve Sensitivite Belirlenmesi	54
2.2.3.1. Spesifite Hesaplanması	54
2.2.3.2. Sensitivite Hesaplanması	55
2.2.4. Testin Doğrulaması (Verifikasyon)	55
2.2.4.1. Speed Mam Color™ ile Süt Örneklerinin Test Edilmesi	55
2.2.4.2. Mikrobiyolojik Kültür	56
3.BULGULAR	58
3.1. Tespit Limitinin Belirlenmesi	58
3.2. Spesifite ve Sensitivite Belirlenmesi	59
3.3. Testin Doğrulaması (Verifikasyon)	61
4. TARTIŞMA	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	87

ÖNSÖZ

Mastitis, süt veriminde azalmaya neden olan, veteriner hekim, laboratuvar, ilaç giderleri vb. ekonomik kayıpların son derece yüksek olduğu bir enfeksiyondur. Süt veriminde düşmeye ve ekonomik kayba neden olan önemli bir hastalık olan mastitise çeşitli mikroorganizmalar neden olmaktadır.

Süt kalitesinin bozulması, süt veriminin azalması, tedavi masrafları, hayvanın sürüden çıkarılması gibi nedenlerle mastitis, ülke hayvancılığı adına büyük bir önem arz etmektedir. Sağlıklı ve yeterli miktarda süt alınamayan işletmelerde ekonomik karlılıktan söz etmek mümkün değildir. Ayrıca mastitisli sütler halk sağlığı göz önüne alındığında sütte kalıntı problemleri nedeniyle de gelecekte antibiyotik dirençliliğine neden olabilecek potansiyel bir risk unsurudur. Hastalığın kökenini etkileyen faktörlerin belirlenmesi, gerekli önlemlerin uygulanması ve kaliteli süt üretiminin sağlanması, insan ve hayvan sağlığının yanı sıra ülke ekonomisi açısından da oldukça önemlidir.

İneklerde mastitise 140'tan fazla mikroorganizma neden olmakla birlikte mastitislerin önemli bölümünden Stafilokok ve Streptokok türü bakteriler ile koliformlar izole edilmektedir. Bu patojenlerin oluşturdukları mastitisin dinamiği, bulaşma yolu ve tedaviye yanıtı birbirinden oldukça farklıdır. Mastitis etkenlerinin saha koşullarında hızlı teşhis edilmesi ve hastalığa neden olan patojenlerin belirlenerek tedaviye erken başlanması, başarı şansını arttırmakta ve antibiyotiklerin daha etkin kullanımını sağlamaktadır. Antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç geliştirmesi ve yoğun antibiyotik kullanımlarının getirdiği kalıntı riski nedeniyle halk sağlığı üzerinde de ciddi bir tehdit olarak oluşmaktadır. Mastitisi önlemek için yaygın olarak kullanılan antibiyotikler, dirençli suşların ortaya çıkma riskini artırarak gıda zincirini kontamine edebilir ve insan sağlığı için bir risk oluşturabilir. Bu bağlamda, süt ineklerinde yaygın olarak mastitise neden olan patojenlerin doğru bir şekilde teşhis edilmesi ve tedavi için uygun antibiyotiklerin seçilmesi büyük önem taşır. Mastitis tanısında kullanılan geleneksel tanı yöntemleri zaman alıcı, yavaş ve de pratik değildir. Bu nedenle, hızlı ve saha şartlarında doğru bir teşhis yönteminin geliştirilmesi, mastitisin önlenmesi ve etkili tedavi yöntemlerinin belirlenmesi için büyük ilgi görmektedir.

Bu çalışmanın konusunun belirlenmesinde ve çalışmaların yürütülmesinde lisans eğitimimden itibaren tüm öğrenciliğim sürecince yardım ve desteklerini esirgemeyen çok

değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN olmak üzere, Tez İzleme Komitesi'ndeki hocalarım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. H. Kaan MÜŞTAK'a, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Seçkin SALAR'a, katkılarını her zaman gördüğüm Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve yardımcılara ve de Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. İnci Başak MÜŞTAK'a ve özellikle laboratuvar analizlerinde önemli yardımları olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Uzman Biyolog Dr. Ebru TORUN'a, tezim süresince desteklerini daima yanımda hissettiğim çok değerli yöneticim Hasvet Medikal A.Ş. Yönetim Kurulu Başkanı Sayın Vet. Hekim Hidayet ŞİMŞEK'e ve Hasvet Medikal A.Ş.'deki tüm değerli çalışma arkadaşlarıma, Pi Farma ve FDN İlaç. A.Ş. Koordinatörü kıymetli abim Vet. Hekim Atakan ERSÖZ'e, Pi Farma İlaç A.Ş.'nin değerli çalışanlarına, daima motive eden ve inancımı artıran kadim dostum Yasemin KORK'a, saha çalışmalarım sırasındaki yardımları için Vet. Hekim Deniz KURTULUŞ, Vet. Hekim Kaan YILDIRIM'a ve Vet. Hekim Yasin TUNÇEL'e, sonsuz özverisi ve bana olan inancı ile daima yanımda olan hayattaki en büyük varlıklarım ve destekçilerim annem Necmiye OĞUZ'a ve büyükannem Saniye OĞUZ'a, teşekkürleri bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
€	Euro
°C	Santigrat Derece
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AC	Aerobik Sayım
ALP	Alkalın Fosfataz
API	Analitik Profil İndeks
CAMP	Christine–Atkinson–Munch–Peterson testi
CC	Koliform Sayım
CFU	Koloni Oluşturan Birim
CMT	Kalifornya Mastitis Testi
dk.	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EC	Elektriksel İletkenlik
FISH	Floresan <i>in-situ</i> hibridizasyon
gr	Gram
IL	İnterlökin
INR	Hindistan Rupisi
IRT	İnfr-red Termografi
ISHS	Somatik Hücre Sayısının Hat İçi İzlenmesi
kg	Kilogram
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokoklar
LAMP	Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LPS	Lipopolisakkaritler
LTA	Lipoteikoik Asit
MALDI	Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyonu
ml	Mililitre
NF-kappa B	Nükleer Faktör
NMC	Ulusal Mastitis Konseyi
NO	Nitrik Asit
OFC	Çiftlikte Hızlı Süt Kültürü
Ör.	Örneğin
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PFGE	Darbeli Alan Jel Elektroforezi
pH	Asitlik Sabiti
PMN	Polimorfonükleer Lökositler
SHS	Somatik Hücre Sayısı
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
USD	Amerikan Doları
WBC	Beyaz Kan Hücreleri



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Enfekte bir memede mastitis gelişiminin şematik gösterimi (Viguiet vd., 2009).	4
Şekil 1.2. Streptokok türlerinin neden olduğu mastitislerin sıklığı ve dağılımı (Kabelitz vd.,2021)	14
Şekil 1.3. Agarların 2,3 ve 4 sektörlü halleri (Dairy Australia Guide, 2020)	37
Şekil 1.4. Hızlı test kitlerinin karakteristiği (Ashraf ve Imran, 2018).	37
Şekil 1.5. 3M Petrifilm Sistem Plakaları (Lago ve Godden, 2018).	40
Şekil 1.6. a) API şeritlerinin manuel yorumlanması, Gram-pozitif koklar, koliform bakteriler ve üreme olmaması arasında ayırım yapabilen pembe test ortamı içeren 2 test tüpündeki renk değişikliğinin (b) renk değişikliği ve (c) renk değişimi olmayan gösterilmesi, d)Vite2 yönetimiyle kolometrik olarak otomatik yorumlama (Dairy Australia Guide, 2020).	41
Şekil 1.7. Mevcut literatürün gözden geçirilmesine dayalı olarak klinik mastitin seçici tedavisi için önerilen protokol. Gram-negatif vakaların <i>E. coli</i> dışındaki patojenlerden (<i>Klebsiella spp.</i> gibi) kaynaklandığı çiftliklerin, <i>Klebsiella spp.</i> için antimikrobiyal tedavinin değerlendirilmesini sağlamak üzere türe özgü bir tanı testi kullanmaları önerilir. Gram pozitif vakalarda bakteriyolojik tedavi olasılığını tahmin etmek için çiftliklerin klinik mastitis geçmişi ve son SHS kayıtlarını gözden geçirmeleri önerilir. SUP = nonsteroid antiinflatuvar ilaçlarla destekleyici tedavi; SYS = sistemik antimikrobiyalleri düşünün; NO = antimikrobiyal yok; IMM = meme içi antimikrobiyaller (Jong vd., 2023)	50

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Mastitis patojenlerinin sınıflandırılması (Haxhij vd., 2022).	12
Çizelge 2.1. Spesifite ve sensitivitenin hesaplanması tablosu	55
Çizelge 2.2. Mikrobiyolojik kültür yöntemiyle teşhis edilen bakterilerin ayrıcı tanısında kullanılan testler	57
Çizelge 3.1. Referans suşlar ile yapılan farklı dilüsyonlar sonucunda her bir etken için Speed Mam Color™ kitine ait tespit limiti sonuçları ve kontrol grubu sonuçları	58
Çizelge 3.2. <i>Staphylococcus</i> spp. pozitif ve negatif numune sonuçları	60
Çizelge 3.3. <i>Streptococcus</i> spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları	60
Çizelge 3.4. <i>Streptococcus uberis</i> için pozitif ve negatif numune sonuçları	60
Çizelge 3.5. <i>E. coli</i> için pozitif ve negatif numune sonuçları.	61
Çizelge 3.6. Testin doğrulanması kapsamında süt örneklerinin mikrobiyolojik kültür ve Speed Mam Color™' sonuçlarının karşılaştırılması.	
Çizelge 3.7. <i>Staphylococcus</i> spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları.	61
Çizelge 3.8. <i>Streptococcus</i> spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları.	62
Çizelge 3.9. <i>Streptococcus uberis</i> için pozitif ve negatif numune sonuçları.	62
Çizelge 3.10. <i>E. coli</i> için pozitif ve negatif numune sonuçları.	63

1.GİRİŞ

İneklerde enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz etiyolojiye sahip mastitis, meme bezlerinin yangısı olarak tanımlanır ve meme bezi içinde yer alan süt kanalları ile bağ dokunun yangısını da kapsamaktadır (Bradley, 2002). Enfeksiyöz, kimyasal ve travmatik etkenlerin neden olduğu mastitis olguları tek bir inekte yangıya neden olabileceği gibi bütün sürüyü veya sürünün bir kısmını da etkileyebilmektedir (Alpay ve Yeşilbağ, 2009). Mastitiste meme dokusunda fiziksel ve kimyasal değişimler görülmekte, glandüler dokuda ise patolojik değişimler meydana gelmektedir. Bunlardan farklı olarak memede hassasiyet, şişkinlik, süt morfolojisindeki gözle görülebilir değişiklikler ile birlikte süt veriminde azalma gibi değişiklikler dikkati çekmektedir. Sütte görülen belirgin değişiklikler; pıhtı oluşumu, renk değişimi ve yangı hücrelerinden lökositlerin artışıdır (Wellenberg vd., 2002).

Staphylococcus spp. ve *Streptococcus* spp. gibi gram pozitif bakteriler, mastitise neden olan başlıca mikroorganizmalardır. Mastitis, dünya genelinde süt inekçiliği yetiştiriciliğinde en büyük ekonomik kayba neden olan hastalıktır. Mastitis, ineklerde yaygın olmasının yanı sıra ekonomik kayıplara da yol açan önemli bir sorundur. Bu hastalık klinik ve subklinik karakterde görülebilir, akut veya kronik seyredebilir ve ineklerde süt veriminde düşüş ve neden olduğu tedavi masraflarıyla ekonomik kayıplara yol açar. Ayrıca halk sağlığı açısından da önemli bir risk oluşturur. Mastitis, süt endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olur, çünkü süt kalitesi ve verimi düşer ve tedavi maliyetleri artar. Hastalığın tedavisi oldukça maliyetlidir. Ayrıca, enfeksiyonun tedavisinde kullanılan antibiyotikler sütte kalıntı problemlerine neden olmaktadır ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı antibiyotik direncine yol açarak tedavi seçeneklerini sınırlar (Ayvazoğlu ve Eşki, 2019; Ferguson vd., 2007; Savaşan vd., 2004; Taponen ve Myllys, 1995; Meiri-Bendek vd., 2002).

İneklerde özellikle klinik mastitise neden olan *E. coli* ve *S. uberis* iki önemli etken olarak bildirilmiştir (Ferguson vd., 2007; Bradley, 2002). Klinik mastitis ile ilişkili veteriner ve ilaç maliyetler olmasına rağmen, laktasyondaki ineklerde süt üretimi ve süt kalitesi düşmekte, antibiyotik kullanımına bağlı olarak süt kullanılamamaktadır (Heringstad vd., 2000). Örneğin hayvanların erkenden kesime gönderilmesi ve süt üreticilerinin yetersiz süt üretimi gibi önemli kayıplar nedeniyle gelir kaybı gibi durumlar da kendini göstermektedir (Göncü, 2000). Mastitis, Türkiye’de ve birçok ülkede yetiştiricilikte büyük yer tutabilen süt endüstrisinin ve süt çiftçilerinin en önemli sorunlarından biridir (Savaşan vd., 2004). Türkiye

inek sayısı bakımından Avrupa Birliği (AB) ülkeleri arasında 3'üncü, dünyada ise 27'nci sırada yer almaktadır. İneklerin süt üretimindeki payı her geçen yıl artmaktadır. Hem klinik hem de subklinik mastitis, ilaç ve diğer maliyetlerin yanı sıra ciddi süt kaybına neden olur. Subklinik mastitis, klinik mastitise göre üç kat daha fazla üretim kaybına neden olur; bu nedenle bulaşıcı mastitisle ilişkili tüm ekonomik kayıpların %70'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Orta Hindistan'da subklinik mastitisin görülme sıklığını ve ekonomisini değerlendiren bir çalışmada, mastitisten kaynaklanan kayıpların yaklaşık %1'i süt değerinin azalmasından, %7'si ise veteriner masraflarından kaynaklandığı rapor edilmiştir. Hayvan bakımı maliyetleri arasında ilaç (%31) ve veterinerlik hizmetleri (%5,5) ön planda yer almaktadır. Bu kayıp, yüksek süt üretimine sahip mastitise duyarlı melez ırklarda daha fazla olabilmektedir (Haxhij vd., 2022; Khan vd., 2021).

Mastitis, Hindistan, Kanada, Almanya, Birleşik Krallık, Hollanda gibi ülkeler dahil olmak üzere dünya çapında önemli bir ekonomik sorundur, başlangıcından sonraki ilk iki hafta boyunca günlük 1,0 ila 2,5 kg süt kaybına neden olur ve oluşum zamanına bağlı olarak tüm laktasyon boyunca toplam 110 ila 552 kg süt kaybı ile ilişkilidir. İnekler laktasyonun geri kalan kısmında en yüksek süt verimini geri kazanamayacakları için mastitisin süt verimi üzerinde uzun süreli bir etkisi de bulunmaktadır (Rajala-Schultz vd., 1999). Tüm bunların sonucunda mastitis, inek başına yıllık yaklaşık 159 USD kayba neden olmaktadır (Kurt ve Eşki, 2021). Mastitis klinik ve subklinik formlarda ortaya çıkar ve ortalama insidensleri sırasıyla %14,2 ve %30 olarak bildirilmiştir (Dalanezi vd., 2020).

Veteriner hekimlerin mastitis kontrol programlarına katılımlarını artırmak için pek çok ekonomik ve toplumsal neden vardır. Mastitis süt üretimini azaltır, atılan süt miktarını, sürüden erken çıkartma ve üretim maliyetlerini artırır. Ek olarak hem klinik hem de subklinik mastitisin döl verimliliğini de azalttığı bilinmektedir. Mastitis tedavisinin amacı, hastalığı önlemek, hayvan refahını iyileştirmek ve süt ürünlerindeki karlılığın devamlılığını sağlamaya yardımcı olmaktır (Ruegg, 2011). Mastitisin yeni enfeksiyonların önlenmesi ve mevcut enfeksiyonların ortadan kaldırılmasıyla kontrol altına alınabileceği bilinmektedir. Beş nokta planının (sağım sonrası meme başı dezenfeksiyonu, laktasyon döneminde meme içi antimikrobiyal tedavinin kapsamlı kullanımı, klinik vakaların uygun tedavisi, kronik olarak enfekte ineklerin süreden çıkarılması ve düzenli sağım makinesi bakımının yapılması) bulaşıcı mastitis patojenlerini başarılı bir şekilde kontrol ettiği gösterilmiştir ve bu plan çevresel patojenlere maruz kalmayı azaltan yönetim prosedürlerini içeren 10 noktalı bir plana

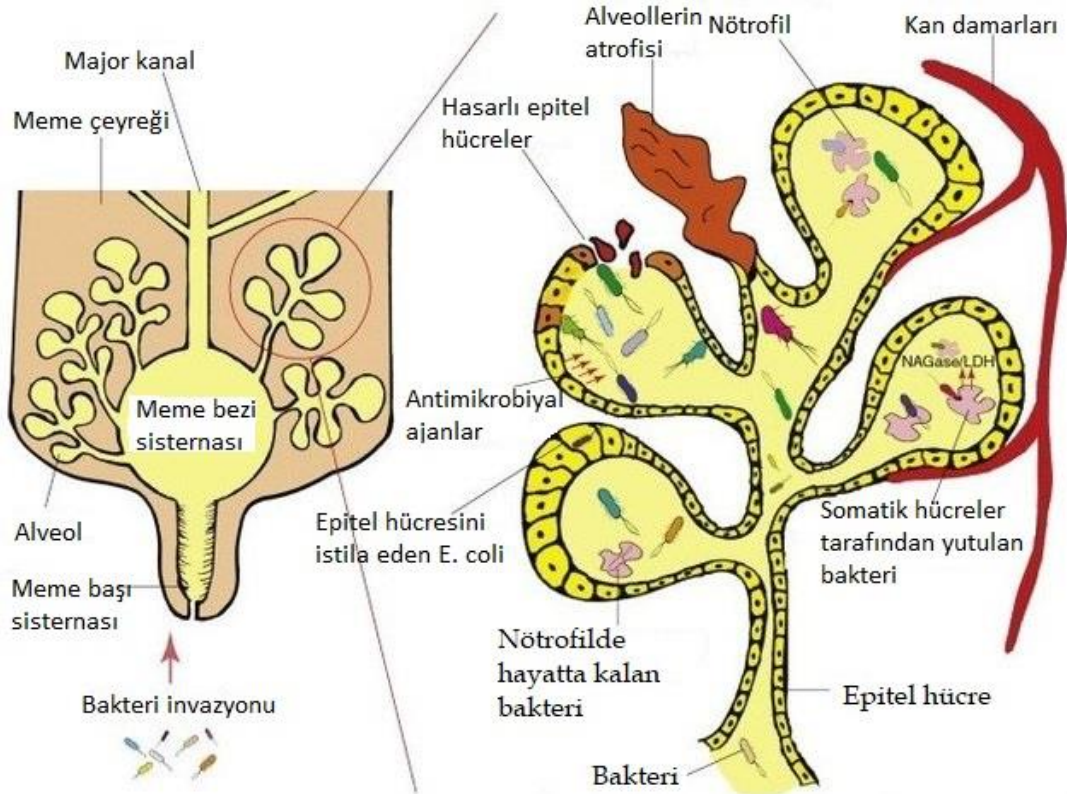
genişletilmiştir. Sürüler modernleşip bu uygulamaları benimsedikçe bulaşıcı patojenlerin yaygınlığı azalmıştır (NMC, 2009).

1.1. Mastitis

Mastitis, meme alveollerinin yangısı ve süt veriminin azalması ile karakterize, farklı patojenlerinin sebep olduğu klinik ve subklinik seyreden bir hastalıktır. Mastitisin hazırlayıcı sebepleri olarak, çevre şartları, sağıım hataları, ahır hijyeni, kötü bakım ve beslenme, çevre yönetimi, genetik yapı, süt verimi, yaş, laktasyon sayısı ve meme anomalileri gibi faktörler sayılabilmektedir (Abebe vd., 2016; Baştan, 2013; Dalanezi vd., 2020; şahin vd., 1997).

Mikroorganizmalar, meme bezi içerisine meme başı kanalı veya kan yoluyla yerleşerek mastitise neden olabilmektedir. Birçok mikroorganizma mastitis nedeni olmasına karşın, ineklerde mastitis etkeni olarak en sık izole edilen bakterilerin, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* olduğu, ayrıca *Escherichia coli*, *Corynebacterium*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *Mycoplasma bovis* gibi bakterilerle, mantar ve virüslerin de mastitis oluşturduğu bildirilmiştir (Ak, 2000; Garcia, 2004; Haxhij vd., 2022; Khan vd., 2021).

Meme bezinin yangısı sonucu, meme dokusunda nötrofil lökositlerin sayısı artarken, kanda ise çeşitli protein düzeyleri artmaktadır. Mikroorganizmalar memeye girdikten sonra memenin savunma sistemi hızla aktive olmakta ve bakterileri yok etmeye çalışmaktadır. Süt salgılayan epitel hücrelerinin bakterilerce yıkımı sonucunda, bazı enzimler ortaya çıkar ve kan dolaşımına girdiklerinde meme savunma sistemi alarına geçer (Haxhij vd., 2022; Khan vd., 2021). Önce lökositler bakterileri fagosite etmeye başlar, ardından savunma sistemini oluşturan diğer faktörler devreye girer. Meme dokusundaki bu reaksiyon, enfeksiyona verilen inflamatuvar yanıtı azaltır, hasarlı dokuyu onarır ve memenin normal fonksiyonunu geri kazandırır. Meme bezinde oluşan bu savunma mekanizmasının üç farklı işlevi vardır. Bunlar; bulaşıcı mikroorganizmayı meme dokusundan uzaklaştırır, üretilen toksinleri nötralize eder ve hasar görmüş süt üreten dokuların onarılmasına yardımcı olur, böylece meme bezinin normal işleyişini geri kazandırır (Rajala-Schultz vd., 1999; Pedersen vd., 2003; Baştan, 2013).



Şekil 1.1. Enfekte bir memede mastitis gelişiminin şematik gösterimi (Viguiet vd., 2009).

Mikroorganizmaların neden olduğu mastitisler enfeksiyöz, travmalar nedeniyle oluşan mastitisler ise enfeksiyöz olmayan (non-enfeksiyöz) mastitis olarak sınıflandırılmaktadır. Mastitislerin en önemli nedeni patojenlerdir. Memedeki enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz nedenlere karşı oluşan yangının şiddeti, yangının derecesi açısından önemlidir. Bununla birlikte, memenin irkiltici etkiyi nötralize etmek, yıkmak, kendini yenilemek ve normal fonksiyonlarına yeniden dönebilmek için gösterdiği fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve patolojik değişiklikler çeşitli mastitis formlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Barkema vd., 1998; Murphy vd., 2016).

Mastitis, meydana gelen yangının şiddetine göre subklinik ve klinik mastitis olmak üzere sınıflandırılır. Mastitis patojene göre hayvandan hayvana kolaylıkla bulaşır. Bu tip mastitis süt çiftliklerinde büyük sorundur ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Sürüde subklinik mastitisi kontrol etmek için, sürüdeki subklinik mastitisli inekleri taramak ve enfekte inekleri derhal tedavi etmek için her 7-15 günde bir Kaliforniya Mastitis Testi (CMT) yapılmaktadır. Mastitisin klinik formları gözle görülür değişiklikler olarak tanımlanabilir. Hastanın memesinde de şişlik, ağrı, vücut ısısında artış ve kızarıklık görülür, süt üretimi azalır ve bazı durumlarda tamamen durur. Sütte sulanma ve pıhtılaşma gibi

bozukluklar görülür. Hayvan genellikle depresiftir, ateşi vardır ve iştahı yoktur. Bütün bu değişiklikler mikroorganizmaların memeye girip orada çoğalması sonucu meydana gelir. Hastalığın fark edildiği anda tedavi edilmesi gerekmektedir. Bunun için acilen bir veteriner hekime başvurulması gerekmektedir. Zamanında tedavi, memeyi kurtarma şansını artırır, ancak bunun yapılmaması meme körlüğüne neden olabilir. Tedavi edilmeyen bazı hayvanlarda, ineğin salgıladığı toksinler nedeniyle yüksek derecede virülen bakterilerin memeyi istila ederek ölüme neden olduğu gözlemlenmiştir (Pantoja vd., 2009; Baştan, 2013).

1.1.1. Mastitisin Önemi

Mastitis, kayıplar (mastitis nedeniyle üretimin azalması) ve harcamalar (mastitisi azaltmak için ek girdiler) nedeniyle maliyetli bir hastalıktır. Dünya çapında, klinik mastitisin ekonomik kayıplarına ilişkin yayınlanmıştır. Bu kaynaklara dair tahminler, bir çiftlikteki inek başına 61 ila 97 € arasında değişmektedir ve çiftlikler arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin Hollanda'da, klinik ve subklinik mastitisten kaynaklanan kayıplar inek başına yıllık 17 ila 198 € arasında değişmektedir. Üreticiler bu maliyetleri düşük tahmin etme eğiliminde olduklarından bu durum, çiftliklerin büyük bir kısmında önlenemez birçok kayıp olduğunu göstermektedir. Süt üreticilerinin mastitis tedavi ve kontrol programlarına karar vermesine iyi bir destek sağlamak için, mastitisi sadece hastalık açısından değil, insidens aynı zamanda maliyetleri ve finansal yükü olarak da tanımlamak önemlidir. Yapılan çalışmalardan çıkan 18 önleyici tedbirden altısının pozitif net faydaya sahip olduğu görülmüştür, bunlar; kuru inek tedavisinin etkenin belirlenerek yapılması, ineklerin sağımından sonra ayakta tutulması, klinik mastitisli bir ineğin sağımından sonra sağım başlıklarının yıkanması, bir tedavi protokolünün uygulanması, kirli memelerin yıkanması ve sağımçı eldivenlerinin kullanılması vb. gibi tedbirlerdir. Büyük miktarda rutin işçilik veya yatırım içeren bu önlemler için yapılan harcamalar, mastitis nedeniyle ortaya çıkan kaybın çok altında kalmıştır (Hogeveen vd., 2011).

Mastitis, özellikle sütün genel kalitesini ve miktarını etkileyerek süt üreticileri için büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Sharma vd.,2011). Mastitis, küresel yıllık kaybı yaklaşık 35 milyar USD olan süt endüstrisinin önemli bir hastalığıdır (Sathiyabarathi vd., 2016). Ayrıca atılan süt, etkilenen hayvanların bir kısmının kesime gönderilmesi, ek tedavi maliyetleri ve ekstra işçilik maliyetleri nedeniyle ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Hindistan'da mastitisin (subklinik ve klinik mastitis) neden olduğu öngörülen yıllık ekonomik kaybın 98.228 milyon USD olduğu rapor edilmiştir (Kour vd., 2023; Sharma vd., 2011). Klinik

mastitisle karşılaştırıldığında 3 kat daha fazla üretim kaybına neden olan subklinik mastitis nedeniyle oluşan toplam kayıpların %60 ila 70'inin önemli ölçüde gözden kaçırıldığı rapor edilmiştir. Melez ırklarda daha yüksek süt üretim seviyelerine bağlı olarak daha yüksek kayıplar olduğunu, bunun yaklaşık %49'unun sütün değerinden ve %37'sinin veteriner giderlerinden kaynaklandığını, bunu tedavi (%31) ve hizmetlerin (%5,5) maliyetinin izlediğini bildirmiştir (De Vlieghe vd., 2012; Sinha vd.,2014; Khan vd.,2021).

Bir meta-analizde, Hindistan'da ineklerdeki subklinik ve klinik mastitis prevalansı sırasıyla %41 ve %27 olarak bulunmuştur ve bu da subklinik mastitis önemine işaret etmektedir (Krishnamoorthy vd., 2017). Rathod (2017) yaptığı bir çalışmada, Hindistan'da subklinik mastitise bağlı ekonomik maliyetin laktasyon döneminde hayvan başına yaklaşık 21.677 INR ile 88.340 INR arasında olduğunu tahmin etmiştir.

Yapılan bir çalışmada, Hindistan'ın kuzey ve güney bölgelerinin, bu bölgelerde sığır popülasyonu daha fazla olduğundan, *Streptococcus* spp. (%13) ve *E. coli* (%14) ile karşılaştırıldığında, *Staphylococcus* spp.'nin (%45) neden olduğu subklinik ve klinik mastitis prevalansının daha yüksek olduğunu öne sürmüştür (Krishnamoorthy vd., 2017).

Krishnamoorthy vd. (2021) güncellenmiş bir meta-analizinde, subklinik mastitis'in genel prevalansı %45 olarak bulunmuştur. Bölgesel prevalans göz önüne alındığında, Madhya Pradesh ve Chhattisgarh'da (Hindistan'ın merkez bölgeleri) subklinik mastitis prevalansının daha yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla %63 ve %48). Mastitisin ekonomik analizi 59 süt çiftliğinde izlenmiş ve mastitis sırasında süt veriminde ortalama 9-10 kg'dan 6-7 kg'a kadar bir düşüş saptanmıştır. Bu sonuç, mastitisin inek başına günlük 413-458 INR'den 306-335 INR'ye kadar ortalama gelir kaybına neden olduğunu göstermektedir.

Arjantin'deki Holstein ineklerinde *S. aureus*'un neden olduğu mastitisin toplam maliyetini araştıran, farklı müdahale senaryoları altında mastitis kontrolünün ekonomik bir değerlendirmesi Richardet vd. (2023) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yılda her 100 inekte *S. aureus*'un neden olduğu toplam 97,5 mastitis vakası tahmin edilmiştir ve klinik mastitislere bağlı kayıpların 221,0 USD ve subklinik mastitislere bağlı kayıpların ise 151,7 USD olduğu bulunmuştur.

Mastitisin yaygınlığı ve ekonomik etkisi üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, günümüzde çeşitli hayvan sağlığı iyileştirme çabalarının formüle edilmesinde son derece

kapsamlı bir ekonomik değerlendirmeye ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Kour vd., 2023). Mevcut hayvan sağlığı ve süt sağlığı kayıtlarını kullanan retrospektif bir çalışma Puerto vd. (2021) tarafından yürütölmüştür. Araştırmacılar, 2003 ile 2014 yılları arasında 120 sürüdeki Holştayn ineklerinin ilk laktasyonundan elde edilen verileri kullanmış ve üretim performansını genel süt, yağ ve protein verimi açısından ve ekonomik performanslarını sütün ekonomik değeri, yem üzerindeki marj açısından, maliyet ve brüt kar üzerinden değerlendirmiştir. Araştırmacılar mastitisli ineklerde toplam süt veriminde 382 kg'dan 989 kg'a kadar belirgin bir düşüş olduğunu da ortaya koymuştur.

Son yıllarda mastitis ile üreme arasında negatif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. İneklerde mastitis, süt üretim kapasitesinin yanı sıra daha birçok olumsuz etkiye de neden olmaktadır. Doğum sonrası ilk kızgınlığın, yeniden gebe kalma aralıklarının uzamasının ve anovulasyonun nedenleri arasında mastitise bağlı yüksek ateş, GnRH-LH salgısının inhibisyonu ve negatif enerji dengesi olduğu söylenmektedir. Ayrıca ateş ve inflamatuvar mediatörlerin gelişimi, düşük kaliteli oosit ve embriyo üretimine yol açabilir. Bahsedilen olumsuz faktörler embriyo/fötal kayıp veya abortus ile sonuçlanabilmektedir (Chebel, 2007). 1990'ların başında yapılan ilk çalışmalar, klinik koliform mastitis vakalarının ineklerde tohumlama aralıklarını değiştirdiğini ve bunun doğurganlığın azalmasına yol açtığını göstermiştir. Gram negatif mastitis patojenlerinin neden olduğu klinik mastitis vakalarının, süt ineklerinde luteal fazın kışalmasına ve hayvanın östrus fazında değişikliklere neden olarak dolaylı olarak döl veriminin azalmasına neden olduğu bilinmektedir. Gram-negatif mastitis patojenlerinin prostaglandin F2 alfa üretimini uyarabildiğini ve bunun daha sonra korpus luteumun lizisine neden olduğunu belirtmektedirler (Moore vd., 2005). Daha sonraki bir çalışma, meme içi enfeksiyon ile fertilitenin azalması arasında bir ilişki olduğunu bulunmuştur (Barker vd., 1998). Ayrıca, Culler (1990) endotoksinin luteolizise neden olabileceğini ve inflamatuvar mediyatörlerin salınması yoluyla gebeliği ve erken embriyonik yaşamı etkileyebileceğini öne sürmüştür. İlk tohumlama öncesi klinik ve subklinik mastitis şekillenen ineklerin, kontrol grubu ineklere göre ilk tohumlama ve gebe kalmadığı günlerin sayısı ile her bir gebelik için tohumlama/servis sayılarının artış gösterdiğini, subklinik mastitisin de klinik mastitiste olduğu kadar reproduktif performans üzerinde olumsuz etkiye neden olduğu bildirilmektedir (Schrick vd., 2001).

Yapılan bir çalışmada, tohumlamadan sonraki 30 gün içerisinde klinik mastitis olgularının şekillendiği ineklerde gebe kalma oranının %31, buna karşılık aynı dönem

içerisinde enfeksiyon şekillenmemiş inekler için gebe kalma oranının %47 olduğunu belirtmişlerdir (Kelton vd., 2001).

Yapılan çalışmalarda, suni tohumlamadan 2 hafta önce ve 3 hafta sonra mastitis geçiren ineklerin gebelik oranlarının düştüğü gözlenmiştir. Üreme kayıpları olasılığının klinik mastitisli inekler için %50 (Hertl vd., 2010), subklinik mastitisli ineklerde %15 (Pinedo vd., 2009) oranında arttığı ve mastitis nedeniyle üreme sikluslarının uzadığı rapor edilmiştir.

Mastitiste süt nitrik oksit (NO) ve prostaglandin F2 α (PGF2 α) düzeyleri arasında bir korelasyon rapor edilmiştir ve PGF2 α metabolitleri, mastitisli ineklerin kanındaki artan oksitosin seviyeleriyle birlikte ortaya çıkar. Bu bulgular meme bezi enfeksiyonlarının sistemik bir yanıt ortaya çıkardığını göstermektedir. Bu, vücutta bu tür bileşiklerin üretiminin gebeliği olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Süt ineklerinin doğru yönetimi mastitis vakalarını azaltır, antibiyotik kullanımını ve atılan süt miktarını azaltır, sütün kalitesini ve üreme performansını artırır. Ayrıca çeşitli uygulamalarla (aşılama vb.) mastitisin önlenmesi, hastalıktan bağımsız sitokinlerin etkilerini en aza indirerek gebelik oranını arttırabilmektedir (Hansen vd., 2004; Chebel, 2007).

1.1.2. Mastitislerin Sınıflandırılması

Meme bezi patojenlerin çoğalması için uygun bir ortamdır. Enfeksiyon sırasında patojenlerin salgıladığı toksinler veya iritan özellikteki maddeler nedeniyle süt kanalları, süt depoları ve alveollerde çeşitli derecelerde tahribatlar görülür. Mastitis belirtileri ineğin bağışıklık sisteminin durumuna, etken mikroorganizmanın doğasına ve mastitisin subklinik mi yoksa klinik mi olduğuna bağlı olarak değişir. Mastitis inflamasyonun derecesine göre subklinik ve klinik olmak üzere iki tipe ayrılır. Daha önce de belirttiğimiz gibi subklinik mastitisin süt ve meme dokusunda gözle görülür bir semptomu yoktur. Klinik mastitiste sütte (sütün rengi ve akışkanlığı değişir, içinde pıhtı ve kabarcıklar bulunur) ve meme dokusunda (memelerde şişlik, kızarıklık, sıcaklık artışı ve dokunulduğunda ağrı) belirgin klinik farklılıklar gözlemlenebilir. Şiddetli klinik mastitis vakalarında vücut ısısında artış, iştah azalması, bakteriyemi ve sepsis gibi sistemik semptomlar ve bazen ölüm meydana gelebilir (Blowey ve Edmondson, 1995).

1.1.2.1. Klinik Mastitisler

Klinik mastitis süt ineklerini etkileyen en önemli hastalıklardan biridir. Klinik mastitis, memede şişlik, kızarıklık ve/veya ağrı ve sistemik ateş gibi belirgin dış belirtilerle kendini gösterir. Süt ve bileşenlerinde de saptanabilir değışiklikler vardır (Leslie ve Wolfe, 2012). Sütte renk, kıvam, pıhtı varlığı, kan ve kimyasal değışikliklerdeki farklılıklar meydana gelebilir. Diğler değışiklikler, artan iletkenlik, artan süt pH'ı ve su içeriğindeki değışikliklerdir. Klinik mastitis, süresine (subakut, akut veya perakut) ve şiddetine (hafif, orta veya şiddetli) göre sınıflandırılır (Adkins ve Middleton, 2018). Hafif/subakut klinik mastitisler ile çoğ değışiklik sütün rengine ve kıvamında bulunur. Orta/akut klinik mastitisler, kızarıklık, şişme, ısı ve ağrı dahil olmak üzere süt ve meme bezindeki değışikliklerle karakterizedir. Şiddetli/perakut klinik mastitisler, anormal süt ve meme bezi ile birlikte ateş, iştah kaybı ve hareket edememe veya isteksizlik gibi sistemik belirtilerle karakterizedir (Ruegg, 2011).

1.1.2.1.1. Perakut Mastitis

Bu az görülen bir mastitis şeklidir. Meme dokusunun ani şişmesi, güçlü yangı belirtileri ve seröz süt ile diğler mastitislerden ayırt edilebilir. Ciddi vakalarda inek sütü üretimi tamamen durabilir. Klinik mastitiste toksisite ve vücut ısısındaki artışı bağılı olarak sistemik semptomlar ortaya çıkar. Perakut mastitis inekler için çok tehlikelidir ve bazı inekler perakut mastitis nedeniyle ölmektedir. Perakut mastitiste sistemik bulgular şiddetlidir ve bu nedenle acilen destekleyici tedavi gerekmektedir. Bu tip mastitiste ineklerde vücut ısısında, nabız ve solunum sayısında artış, halsizlik, iştahsızlık ve işkembe hareketlerinin durması, uzuvlarda soğuma, gzbebeğı refleksinin zayıflaması, dehidrasyon ve ishal sık görülen bulgulardır. Bazen inekler yatar. Hastalığın bu formuna perakut sistemik mastitis veya perakut toksik mastitis de denir. Perakut toksik mastitisin en önemli nedeninin *E. coli* olduğu rapor edilmiştir (Stalberger ve Kesting, 1988).

1.1.2.1.2. Akut Mastitis

Belirtileri perakut mastitise benzer ancak ateş, yorgunluk gibi sistemik bulgular daha az görülür. Mastitisin derecesi orta ila şiddetli arasında değışir, 12-24 saat içinde meme dokusu şişer, süt üretimi azalır ve sütün rengi değışir. Sütün yapısı serzdr ve fibrin veya pıhtı içerir (Baştan, 2019).

1.1.2.1.3. Subakut Mastitis

Yangı orta düzeydedir ve memede gözle görülür bir değişiklik yoktur. Sütte genellikle küçük pıhtılar bulunur ve bazen sütün rengi değişebilir. Bu tip mastitiste meme bezindeki değişiklikler belirgin değildir ve sistemik bulgular görülmez, yangı yalnızca meme dokusuyla sınırlıdır (Baştan, 2019).

1.1.2.1.4. Kronik Mastitisler

Kronik mastitis, meme bezinin uzun süren yangısıdır. İneğin genel durumunda herhangi bir değişiklik olmaksızın, meme dokusunun tahrip olmasına, hacminin değişmesine ve sütün azalmasına neden olan bir mastitis formudur. Klinik yangı belirtileri aylarca sürebilir ve bir laktasyondan diğerine devam edebilir. Kronik mastitisin bir diğer özelliği de parankim dokusunun yerini bağ dokusunun almasıdır. Bu nedenle kronik mastitisli meme lobu sert ve atrofiktir (Blowey ve Edmondson, 1995).

1.1.2.2. Subklinik Mastitisler

Subklinik mastitis, enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın meme dokusunda bulunmasına rağmen meme bezi ile süt arasında görünür bir farkın olmadığı bir mastitis şeklidir. Subklinik mastitis, ineklerde en sık görülen mastitistir ve çiftlikte klinik mastitisten 15-40 kat daha sık görülür. Bu mastitiste meme dokusunda ve sütte önemli bir inflamatuvar değişiklik görülmez ancak süt somatik hücre sayısı (SHS) artar, süt üretimi ve kalitesi düşer (Baştan, 2019).

Subklinik mastitis meme dokusunda gözle görülür bir değişiklik olmadığından kolaylıkla tespit edilemez ve bu nedenle sürüde inekten ineğe çok hızlı yayılır. Yayılma özellikleri nedeniyle mastitisin en önemli formu olarak kabul edilirler. Subklinik mastitisin tanısı sütte somatik hücre sayısındaki artış ve bakteriyolojik izolasyon gibi laboratuvar yöntemleriyle konur (Ott, 1999).

Subklinik mastitis, sürünün %50'ye kadarını etkileyebileceğinden, bir süt ineği işletmesi için oldukça önemli olabilir. Subklinik mastitisler ve meme içi enfeksiyonlar, sütte sürekli SHS ölçümleriyle izlenmektedir. SHS, 200.000 hücre/ml eşiğinin altındaysa, memenin dörtte birinin enfekte olmadığı kabul edilebilir. Bu nedenle, bir sürü için optimal SHS değeri

100.000 hücre/ml süttten fazla olmamalıdır çünkü bu, sürünün çoğunun enfekte olmadığını gösterir (Rhoda ve Pantoja, 2012).

Bu tip mastitislerin bir başka özelliği de klinik mastitise dönüşebilmesi veya subklinik şekilde meme içerisinde çok uzun süre devam edebilmesidir. Subklinik mastitisleri somatik hücre sayımı veya bakteri izolasyonu yapmadan ortaya çıkarabilmek mümkün değildir (Cantekin vd., 2014; Saidi vd., 2015). Subklinik mastitis genellikle fark edilmez ve süt verimindeki uzun süreli düşüşler nedeniyle en büyük ekonomik sonuca sahiptir. Subklinik mastitise bağlı üretim kayıplarının ABD süt endüstrisine yılda 1 milyar USD kayba neden olduğu tahmin edilmektedir (Ott, 1999).

Yapılan bir çalışmada (Mutluer, 2001), Türkiye’de ineklerin %30’unun mastitisli olduğu, bir diğer çalışmada (Özdemir, 2005) ise Türkiye’de görülen mastitislerin %21,4’ünün klinik, %78,6’sının subklinik olarak seyrettiği bildirilmiştir.

1.2. Mastitise Neden Olan Mikroorganizmalar

Watts 1988’de, mastitise neden olan 137 mikroorganizmayı listelemiştir. Daha sonra Zadoks vd., (2011) 200’den fazla patojenin bu patoloji ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. İneklerde çoğu mastitis vakasının bulaşıcı, çevresel patojenlerden veya Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) gibi fırsatçı mikroplardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Aşağıda, Çizelge 1.1.’de sunulan, meme içi enfeksiyona neden olan en önemli ajanların bazıları sunulmuştur (Haxhiaj vd., 2022).

Çizelge 1.1. Mastitis patojenlerinin sınıflandırılması (Haxhiaj vd., 2022).

Bulaşıcı	Çevresel	Fırsatçı
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Koagülaz Negatif Stafilokoklar</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Staphylococcus chromogens</i>
<i>Mycoplasma spp.</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	
	<i>Corynebacterium pyogenes</i> (<i>Arcanobacterium pyogenes</i>)	

1.2.1. Bulaşıcı Mikroorganizmalar

Enfeksiyöz patojenlerin en yaygın özelliği, enfekte ineklerden veya memelerden enfekte olmayan memelere transfer yoluyla inekleri enfekte etmeleridir. Bulaşıcı hastalıkların ana kaynağı ineklerdir. İneklerde *S. agalactiae*'nın bir kaynağı enfekte olan meme bezidir. *S. agalactiae*, meme dokusunun zorunlu paraziti olarak adlandırılır. *S. aureus*'un kaynakları enfekte meme bezleri haricinde ineklerdir. Ancak *S. aureus*'un ana kaynağı da enfekte meme bezleridir. Diğer kaynaklar arasında insanlar, sinekler, atlık, streptokok kaynaklı hasarlar, inek dışındaki hayvanlar ve ekipmanlar yer alır. İzleme programlarında başarı için diğer kaynakların da dikkate alınması gerekir. Enfekte olmayan meme bezleri, sağım esnasında patojenlere karşı duyarlıdır ve özellikle son sağımdan sonra birçok meme başı kuru dönem sırasında enfekte olabilir. Kuru dönem tedavisi yapılmazsa, kuru dönemin ilk iki haftasında bulaşıcı hastalıkların neden olduğu yeni enfeksiyonların oranı önemli ölçüde artmaktadır. Doğuma ve düzenli sağımın başlamasına ve meme dokusunun patojenlere maruz kalmasına kadar yeni enfeksiyon oranı oldukça düşüktür (Smith ve Hogan, 1999).

1.2.1.1. *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus spp. ilk kez Rosenbach tarafından irinli yaralardan 1884 yılında izole edilmiştir (Akan, 2006). Stafilocok türleri, patojenite kriteri olarak kabul edilen koagülaz enzimi sentezleme özelliklerine göre Koagülaz Pozitif Stafilocoklar (KPS) ve Koagülaz Negatif Stafilocoklar (KNS) olarak ikiye ayrılmaktadır. Koagülaz Negatif Stafilocoklar *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus intermedius* ve *Staphylococcus hyicus*'i içine almaktadır (Akan, 2006). *S. aureus* dahil diğer *Staphylococcus* türleri ve Koagülaz Negatif Stafilocoklar (KNS), subklinik mastitis ile ilişkili en yaygın patojenlerdir (Harmon, 1994; Djabri vd., 2002).

Stafilocoklar, Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve üzüm salkımı şeklinde 0,5-1,5 cm çapında koklardan oluşmaktadırlar. Laboratuvarlarda rutin besi yerlerinde kolayca ürer ve 37°C'de 24-48 saat içinde 2-4 mm çapında koloniler oluştururlar. Stafilocoklar karotenoidlerden dolayı pigment meydana getirirler ki *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* ise beyaz renkte koloni oluşturmaktadır. Stafilocokların neden olduğu toksinler, enzimler, yüzey proteinleri, kapsül gibi virülans faktörler mastitislerin patogeneğinde rol oynamaktadır (Akan, 2006).

Özellikle *Staphylococcus* spp.'nin epidemiyolojisi, yaygınlığı ve insidensinin sürveyansı süt üreticileri için ekonomik kayıpların önlenmesi ve ayrıca “Tek Sağlık” politikasına dayalı olarak insan sağlığının korunması için de mastitis koruma programı ve stratejilerin geliştirilmesi önemlidir. Tayland’da süt ineklerinde subklinik mastitis prevalansı kuzeydoğudaki Khon-Kaen’de yaklaşık %62,8 ve kuzeydeki Chiang-mai’de yaklaşık %54’tür (Pumipuntu vd., 2019).

1.2.1.1.1. *Staphylococcus aureus*

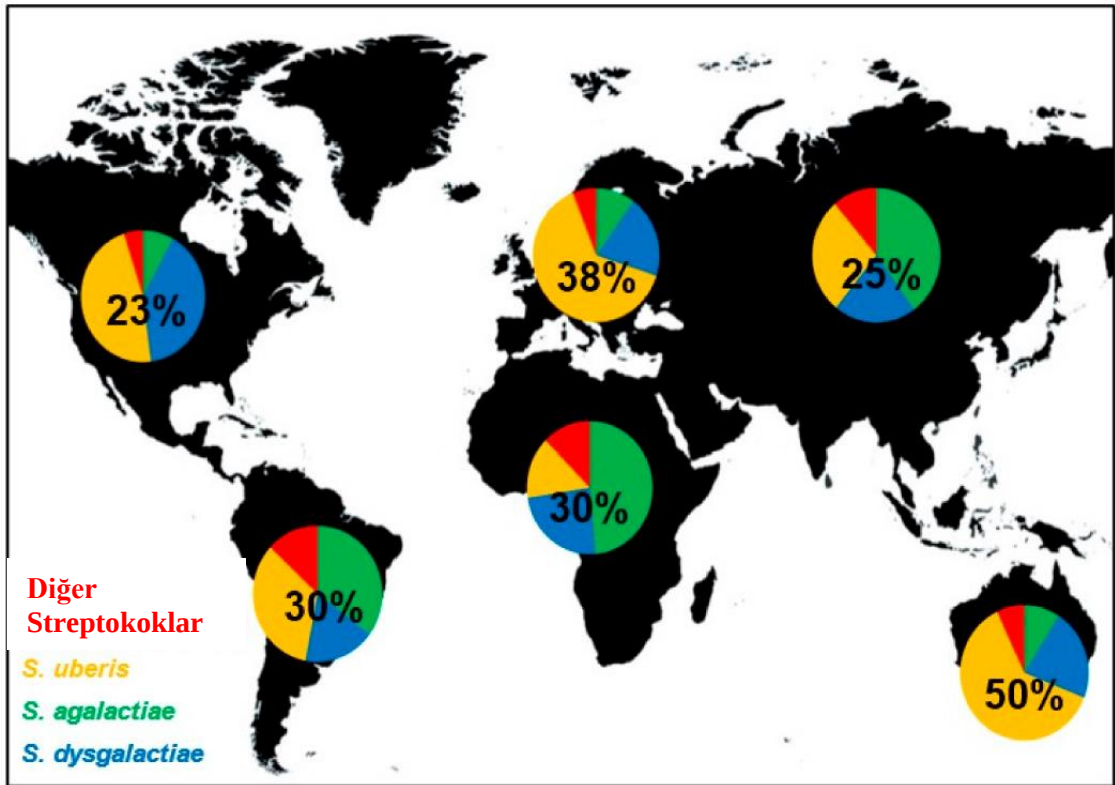
Gram pozitif olan bakteri mastitisin oluşumunda %60-70 oranında etkilidir. Etken, enfekte olmuş meme lobundan diğerine sağım başlıkları ve bakıcıların elleri gibi faktörlerle geçmektedir (Ergün vd., 2004; Baştan, 2007). *S. aureus* şu anda en çok mastitise neden olan patojenlerden biridir. Hastalığın kronik veya subklinik formlarında daha baskındır ve ani ölüme neden olabilecek hafif, orta ve şiddetli enfeksiyonlara neden olur. Meme dokularını istila eder ve meme bezinin interstisyel dokusuna lipoteikoik asit (LTA) salarak nekroza neden olur. *S. aureus*, konakçının bağışıklık tepkisine karşı bir bariyer olarak biyofilmler de üretebilir. Bu enfeksiyonlar erken laktasyonda daha sık görülür ve süt üretimindeki sürekli kayıplarla ilişkilidir. *S. aureus* gibi Gram-pozitif bakterilerin LTA’sı, daha zayıf bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarma eğilimindedir. Bunun nedeni, *S. aureus*’un güçlü bir proinflatuar sitokin ekspresyonu ortaya çıkarmadan NF-kB sinyal yolunun aktivasyonunu azaltabilmesidir. İnek yaşı, enfeksiyonun yayılması ve tedavi süresi gibi diğer değişkenler nedeniyle, bu enfeksiyonlar tek başına antimikrobiyal tedavilerle tamamen kontrol altına alınamaz olabilmektedir (Haxhiaj vd., 2022; Khan vd., 2021).

S. aureus’un neden olduğu mastitis, in vitro olarak çeşitli antibiyotiklere duyarlıdır, stafilokokların kendine özgü biyolojisi ve inek konak ortamına adaptasyonları, mikro apselerin gelişimi ve biyofilm oluşumu nedeniyle, bazı antibiyotik ajanlar klinik olarak etkisizdir. Kültür ve duyarlılığa dayalı antibiyotik seçimi, klinik vakalarda %100 etkililiği garanti edemez. Bunun nedeni, in vitro antibiyotik duyarlılığı sonuçlarındaki eşitsizlik ve bu duyarlı antibiyotiklerin klinik vakalardaki başarısızlığıdır (Rainard vd., 2018).

1.2.1.1.2. *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae bulaşıcı bir patojendir ancak aynı zamanda süt ineklerinin gastrointestinal kanalında da bulunur. *S. agalactiae* ineğin meme derisinde bulunur. Bununla

birlikte, son araştırmalar, sığır gastrointestinal sisteminin ve ineklerin yaşadığı ortamın (zeminler, yatak takımları ve içme suyu) *S. agalactiae*'nın diğerk rezervuarları olduğunu göstermektedir. Meme bezlerinde *S. agalactiae* biyofilmler oluşturarak süresiz olarak hayatta kalabilir ve subklinik mastitis ile yoğun bir şekilde ilişkilidir (Cheng ve Han, 2020). *S. agalactiae* Lancefield grup B sınıflandırmasındadır. Bakteri genellikle beta-hemolitik olarak kabul edilir, ancak bazı hemolitik olmayan suşlar gözlemlenmiştir ve CAMP pozitifdir. *S. agalactiae*'nın Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII ve VIII olarak etiketlenmiş dokuz farklı serotipi vardır ve 2007'de keşfedilen IX etiketli onuncu bir serotip ile *S. agalactiae*'nın patojenitesi serotipine göre değişir. Süt ürünlerinin yanı sıra bu tür, yeni doğanlarda bakteriyel menenjitin en yaygın nedenleri arasında yer aldığından, erken yaşlarda oldukça ilgili bir insan patojenidir (Kabelitz vd., 2021).



Şekil 1.2. Streptokok türlerinin neden olduğu mastitislerin küresel sıklığı ve dağılımı (Kabelitz vd.,2021).

S. agalactiae'nın 1927'de tüm mastitis vakalarının %90'ından sorumlu olduğu düşünülüyordu (Ruegg, 2017). 1960'larda beş noktalı hijyen planının getirilmesiyle, bulaşıcı patojenlerin neden olduğu mastitis sıklığı büyük ölçüde azaldı. Bu plan, enfekte ineklerin hızlı bir şekilde tanımlanmasını ve tedavisini, bütün bir sürü antibiyotiğı kuru dönem tedavisini, sağım sonrası meme başı dezenfeksiyonunu, kronik olarak etkilenen ineklerin kesimini ve sağım makinesinin rutin olarak dezenfekte edilmesini içeriyordu. Bu önlemlerin uygulanması,

özellikle *S. agalactiae* gibi bulaşıcı patojenler için mastitis oranlarında güçlü bir genel düşüşe (%75) yol açtı. Şu anda, mastitis vakalarının çoğunluğu (yaklaşık %90) çevresel patojenlerden kaynaklanmaktadır (Benic vd., 2018). Yapılan bir çalışmada Güney Amerika’da *S. uberis* (%34) ve *S. agalactiae* (%35) en yüksek ve benzer frekanslarda ortaya konulmuştur. Tüm mastitis vakaları içinde streptokok mastitis oranı da eşit olarak dağılmamıştır. Streptokokların neden olduğu mastitis, özellikle Avustralya’da (%50) ve ardından Avrupa’da (%38) sık görülmektedir. Diğer kıtalarda *Streptococcus* spp. kaynaklı mastitis daha az sıklıkta görülür ve tüm mastitislerin %23-30’undan sorumludur. Tabii ki, tüm bu değerlerin büyük bölgelere göre ortalaması alınır ve çevresel faktörler, yerel salgınlar veya çiftliğe özgü uygulamalar nedeniyle kısıtlı konumlar için önemli ölçüde farklı olabilir (Kabelitz vd., 2021).

1.2.1.1.3. *Mycoplasma bovis*

Mycoplasma spp. kaynaklı mastitisler, hayvan sağlığını ve süt üretimini önemli ölçüde etkileyen, bulaşıcı ve maliyetli bir hastalıktır. *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma* spp. ile ilişkili mastitisin en yaygın nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri’nin çeşitli yerlerinde süttan 11 farklı türü izole edilmiştir (Moroni vd., 2018). *Mycoplasma* spp. kronik enfeksiyonlara dönüşen akut mastitisin sürü endemiklerine neden olmaktadır. Akut ataklardan sonra, inekler kronik mastitis veya aralıklı akut alevlenmeler gösterebilir veya mikrobiyolojik kültürle teşhisi gerektiren subklinik enfeksiyona neden olabilir. Mastitis sadece bir meme lobunda meydana gelebilir, ancak sıklıkla etkilenen her ineğin iki veya daha fazla meme lobunda görülebilir (Gelgie vd., 2022; Moroni vd., 2018; Penterman vd., 2022). Mevcut çalışmaların çoğu, sürü salgınlarının büyük olasılıkla asemptomatik taşıyıcılardan yatay bulaşma yoluyla meydana geldiğini göstermektedir. Asemptomatik bir inekte diğer iç organlardan memeye lateral bulaşma olasılığı, *Mycoplasma*’nın tamamen inekten ineğe bulaşıcı olduğu ve *S. aureus* ve *S. agalactiae* gibi mastitisin diğer bulaşıcı nedenleriyle aynı şekilde yayıldığı görüşüne ters düşmektedir. Ağırlıklı olarak sağım sırasında yayılan *S. agalactiae* ve *M. bovis*, mukoz membranlarda ve solunum ve ürogenital yollardan gelen sekresyonlarda bulunabilir. Kısa bir süre içinde birkaç inekte meydana gelen birden fazla meme lobu şişmiş, ağrılı eklemeleri tutan akut mastitis, veteriner hekime artan *Mycoplasma* mastitisi olasılığı konusunda fikir verebilir. *Mycoplasma* mastitisinin kesin tanısı süttan izolasyonu gerektirmektedir (Gelgie vd., 2022).

M. bovis, diğer bakteriyel patojenleri tanımlamak için rutin olarak kullanılan kültür ortamlarında gelişmemektedir. Bu nedenle, mastitis *Mycoplasma* şüpheli ise bakteri kültürü negatif sonuçlar verdiğinde ve antibiyotik tedavisi belirtileri iyileştirmede başarısız olduğunda

Mycoplasma spp. mastitisinden şüphelenilmelidir. 37 °C' de inkübe edilen ve %10 CO₂ içinde tutulan *Hayflick* besiyeri gibi özel besiyerleri *Mycoplasma* spp. kültürü için gereklidir. *Mycoplasma* büyük miktarlarda süte dökülür ve sonuç olarak tank sütü kültürü, yalnızca birkaç inekte enfeksiyonun erken teşhisi için hassas bir yöntem olarak kullanılabilir (Gelgie vd., 2022; Moroni vd., 2018; Penterman vd., 2022).

1.2.1.1.4. *Corynebacterium bovis*

Son yıllarda mastitisleri kontrol etmek için çeşitli stratejilerin benimsenmesi, majör patojenlerin neden olduğu klinik ve subklinik mastitis sıklığının azalmasıyla sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, minör patojenlerin neden olduğu subklinik mastitis sıklığı süt çiftçileri için hala bir sorundur. *Corynebacterium bovis*, subklinik mastitis vakalarından sıklıkla izole edilen bulaşıcı bir mikroorganizmadır. Yüksek izolasyon sıklığına rağmen, *Corynebacterium* spp. mastitisin minör patojenleri olarak kabul edilir. *Corynebacterium* spp. 'nin süt verimi ve bileşimi üzerindeki etkileri büyük ölçüde bilinmemektedir. *C. bovis*, inek meme bezlerinin bir kommensali olarak tanımlanmıştır ve bu bakteri ile enfekte olan bölmeler, diğer mastitis patojenlerinin neden olduğu meme içi enfeksiyonlara daha az duyarlı olabilmektedir. *C. bovis*'in sadece süt ineklerinin meme kanalında kolonize olduğu ve bu nedenle sağım hijyeninin bir göstergesi olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Ancak *C. bovis*'in meme başı sarnıcında, bez sarnıcında ve meme parankiminde de kolonize olduğu da bildirilmiştir (Gonçalves vd., 2016).

1.2.2. Çevresel Mikroorganizmalar

Çevresel patojenlerin önemli bir kaynağı enfekte olmamış meme lobları ve ineklerin yaşadığı ortamdır. Sağım sonrası dezenfeksiyon yöntemleri çevresel patojenlerin kontrolü üzerinde çok az etkiye sahiptir. Çevresel streptokok ve koliformların prevalansı genellikle doğumda yüksektir. Laktasyon dönemi ilerledikçe azalır. Kuruya çıkma birçok patojenik çevresel enfeksiyonun kaynağıdır (Blowey ve Edmondson, 1995).

Kuru dönemde ortamda bulunan streptokoklar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, kuru dönemin ilk 2 haftası ve doğumdan önceki 2 hafta boyunca yeni enfeksiyon oranının önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Kuru dönemde yeni koliform bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların sayısı laktasyondaki ineklerde görülme olasılığı 4-5 kat daha fazladır. Kuru dönemde bu hız sabit değildir. Kuru dönemin başlangıcından sonraki 2 hafta ve

doğumdan önceki 2 hafta içinde artar. Kuru dönemin ortasında meme bezinin koliform bakterilere karşı direnci yüksektir. Kuru dönemin ortasında meme bezi tamamen açılır. Tamamen tutulmuş bir meme bezinin salgılanmasında bağışıklık faktörlerinin konsantrasyonları artar ve meme kanalında keratin plaklarının konsantrasyonlarının oluşması, mikroorganizmaların meme başından meme bezine göçünü engeller. Kuru dönemin başlangıcında ineklerde keratin tabakası henüz gelişmemiştir. Birçok inekte doğumdan önce keratin tabakası görülür ve sonra kaybolur. Bu aynı zamanda bu dönemde yeni enfeksiyonların artmasına da katkıda bulunur ve tamamen involü olmuş meme dokusunda yüksek konsantrasyonda immunoglobulinler ve demir bağlayıcı protein olan laktoferrin bulunur böylece laktoferrin koliform bakterilerin çoğalmasını engeller. Çalışmalar antikorların ve laktoferrinin sinerjik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Bradley, 2002; Baştan, 2019).

İneklerde mastitise neden olan koliform bakteriler *E. coli* ve *K. pneumoniae*'dir. İnvolü olmuş meme dokusu yeni *E. coli* enfeksiyonlarına karşı yüksek dirence sahiptir. Bu durum, yüksek konsantrasyonda laktoferrin ile ilişkilidir. Ancak doğumdan önce meme bezinin yeni *E. coli* enfeksiyonlarına karşı duyarlılığı artar. Laktoferrin konsantrasyonu laktogenez sırasında hızla düşer. Kuru dönemin sonunda *Klebsiella* türlerinin neden olduğu yeni enfeksiyonların görülme sıklığı, epidemiyolojik olarak *E. coli* 'den farklı diğer Gram-negatif bakterilere göre daha yüksektir (Shim vd., 2008).

1.2.2.1. Çevresel Streptokoklar

Streptokoklar, inek mastitisine neden olan başlıca patojenler arasında yer alır. Bulaşıcı patojenler, hayatta kalmak için konakçıya adapte olmuştur ve genellikle sağım sırasında hayvandan hayvana yayılır. Bulaşıcı bakterilerin kolayca ve geniş çapta yayılma potansiyeli vardır. Çevresel patojenler ise hayatta kalabilen ve inek çevresindeki normal mikroflora parçalarıdır. Çevresel streptokoklarla temas, sağım sırasında, arasında, kuru dönemde veya düvelerin doğumundan önce gerçekleşebilir. Patojen maruziyeti, çevresel faktörlerin etkisi altında, örneğin nem ve sıcaklık gibi etmenlerle ilişkilidir. Çevresel patojenler, sağım sonrası veya meme başı kanalının hasar gördüğü durumlarda meme dokusunu istila eder. Süt endüstrisinde mastitis, en yaygın ve maliyetli hastalıktır. *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* ve *S. uberis*'in ineklerde mastitise neden olan önemli türler olduğu belirtilmektedir. Bu türlerin rezervuarları ve sıklığı ayrıca konakçı ve çevresel faktörlerin mastitis duyarlılığını ve enfeksiyon oranlarını nasıl etkilediği üzerinde duran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda enfeksiyon sonrasında ineklerin immün reaksiyonları ve *Streptococcus* spp.

virölans faktörlerindeki farklılıklar araştırılmaktadır. Standart bir tedavi yaklaşımı olarak β -laktam antibiyotiklerin kullanıldığı belirtilmektedir. Aşılama, hijyen planları ve diğer müdahaleler de kontrol ve önleme tedbirleri bu türün neden olduğu mastitisler açısından önemli bulunmuştur (Kabelitz vd., 2021).

1.2.2.1.1. *Streptococcus uberis*

Streptococcus uberis 'in neden olduğu mastitislerde ise kronik hafif seyirli, süte hafif değişikliklere neden olan bir yangı şekli gözlenmektedir (Akan, 2006). *S. uberis* Gram pozitif bir koktur ve çevresel bir patojen olarak kabul edilir. Dünyanın bazı bölgelerinde, *S. uberis* 'in baskın ve ekonomik açıdan en önemli çevresel mastitis patojeni olduğu düşünülmektedir. *S. uberis* 'in dünya çapında artan bir prevalansı bildirilmiştir ve Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Birleşik Krallık ve Hollanda'da klinik mastitisin %14 ila %26'sına neden olduğu bildirilmiştir. Bu patojenin prevalansındaki artışın bir açıklaması, bulaşıcı patojenlerin kontrolünün, kısmen *S. uberis* tarafından doldurulan bir boşluk bırakmasıdır. *S. uberis* çevresel streptokokların en yaygın türü olarak kabul edilse de araştırmalar, diğer Streptokok türlerinin yanlışlıkla *S. uberis* olarak tanımlanma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir, bu da bu enfeksiyonun sıklığına ilişkin bazı fazla tahminlere yol açabilmektedir (Moroni vd., 2018).

S. uberis çevresel bir streptokok olarak bilinmesine rağmen, ancak bulaşma vakaları gözlemlenmiştir. Tür çoğunlukla alfa-hemolitik, kısmi hemoliz yapabilir, ancak bazı durumlarda hemolitik olmadığı da gösterilmiştir. Biyokimyasal tanımlama, değişken bir CAMP (Christine-Atkinson-Munch-Peterson Testi) fenotipinin yanı sıra eskülin, sodyum hippurat ve inülin degradasyonu ile kolaylaştırılır. Bazı suşların *Lancefield* E, G, P veya U pozitif olduğu gösterildiğinden, *S. uberis*'in küresel *Lancefield* sınıflandırması oldukça zordur. 1932'de bir inek mastitis vakasından *S. uberis*'in ilk izolasyonundan bu yana, patojen laktasyondaki inekler, kurudaki inekler, düveler ve çok sayıda doğum yapan inekler gibi çeşitli konak enfeksiyonlarında tespit edilmiştir (Kabelitz vd., 2021; Oliver ve Pighetti, 2002).

S. uberis çevresel bir mikroorganizma olarak klinik mastitisli ineklerden yüksek miktarda izole edilirken, subklinik mastitis vakalarında ve kuru dönemde majör bir etken olarak izole edilmektedir. *S. uberis* 'in neden olduğu mastitislerde sürü içerisinde enfeksiyon oranında artış görülür. *S. uberis* düve mastitislerinde laktasyonun ilk 5 gününde görülen enfeksiyonlarda sık izole edilmektedir. *S. uberis* 'in neden mastitislerin diğer streptokokal mastitislerden farkı, etkenin meme yüzeyinde ve ineğin vücudunda bulunmasıdır. Bu yüzden

S. uberis nedenli mastitis olgularının büyük oranda nedeni, meme başı dezenfeksiyonu ve kuru dönem antibiyotik tedavisinin yetersiz ve uygun olmayışı olarak bildirilmiştir (Khan vd., 2003).

Bir ineğin diğer ineğin memesini yalaması ya da sinekler aracılığıyla da etkenin inekten ineğe geçişi olabilir. Sağlıklı hayvanların enfekte hayvanlarla aynı yere yatması da bakteri yükünü artırmaktadır (Blowey ve Edmondson, 1995). *S. uberis*'in neden olduğu mastitis oranı, küresel ortalamada üçte birinden fazlasına ulaşmıştır (Benic vd., 2018).

S. uberis etkenleri, özellikle altlıkta ve dışkı ile kontamine olan yerlerde sıkça olarak bulunur. Etkenin aynı zamanda ineklerde sindirim sistemine, genital organlarda ve meme dokusuna kolonize olabildiği bildirilmiştir (Khan vd., 2003).

S. uberis'in neden olduğu mastitis aniden başlar. Meme dokusunda şişlik, sütte flakonlar, genel durum bozukluğu ve ateş oluşabilir. Meme bezindeki bakterilerin direnci zayıf olduğundan fagositoz sırasında lökositler tarafından yok edilmeleri zorlaşır. Antibiyotik tedavisi çok önemlidir ve bazı vakalarda prognoz iyi görünse de bazı vakalarda enfeksiyon tekrarlayabilir. Hayvanlarda enfeksiyona neden olan patojene karşı tedavi genellikle kuru dönemin ilk iki ve son 2 haftasında önem taşır ve özellikle son 2 haftada tedavi başarısını artırır. Bazı *S. uberis* suşlarının lökosit fagositozuna diğer suşlara göre daha dirençli olması *S. uberis* 'in kazeine karşı fagositik direnci ile açıklanabilir (Oliver vd. 1998). Çalışmalarda *S. uberis* patojenlerinin kazein ve kazein içermeyen ortamlarda fagositoza karşı direnci incelenmiş ve kazein varlığında fagositoza direncin daha fazla olduğu görülmüştür (Blowey ve Edmondson, 1995; Khan vd., 2003).

1.2.2.1.2. *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae, ineklerde mastitise neden olan en önemli patojenlerden biridir. *S. dysgalactiae* akut mastitisin nedenidir ve bu patojen streptokokların genel özelliklerine sahiptir. *S. dysgalactiae*, bulaşıcı hastalıkların en yaygın üçüncü nedeni olarak kabul edilir (Oliver vd., 1998). Çoğu zaman meme derisinden, özellikle sağım ekipmanlarının hijyenik kullanılmaması durumunda sağım ekipmanının yüzeylerinden, meme derisindeki yaralardan izole edilir. Meme bezleri enfeksiyon taşıyıcısı olarak daha az önemlidir. *S. dysgalactiae* tonsillerde de bulunduğu için memelerin yalanması esnasında da bakterinin meme kanalına geçişi mümkündür. Bu durum *S. dysgalactiae*'nın düve mastitislerinde ve kuru

dönemdeki hayvanlarda görülme nedenini açıklamaktadır. Meme irritasyonuna neden olan maddeler, soğuk hava etkisi gibi durumlar, memelerin yalanması klinik belirtiler oluşuncaya kadar etkenin özellikle meme kanalına kolonize olmasına neden olabilmektedir (Blowey ve Edmondson, 1995).

Çevresel bir etken olarak tanımlanmasına karşın yarı bulaşıcı yarı çevresel bir etken olarak da kabul edilmektedir (Oliver vd., 1998). Güncel olarak bu patojenin bulaşıcı mı yoksa çevresel mi olduğu hakkında tartışmalar devam etmektedir. Bu konuda daha fazla bilgi elde etmek için çiftlik düzeyinde izole edilen mikroorganizmaların genetik çeşitliliğinin bilinmesi yararlı olabilir (Krömker ve Went, 2020).

İneklerde enfeksiyonlara neden olan *Streptococcus dysgalactiae* bakterileri, hemolitik olmayan veya alfa-hemolitik grup streptokoklardır ve homojen bir yapıya sahip olup özellikleri bakımından L grubu, insan grubu G streptokoklar ve *S. equalis* grubunun beta-hemolitik suşlarından farklılık göstermektedir. *S. dysgalactiae*'nin sığırların tonsillerinde, ağız ve vagina mukozasında bulunduğu ve kuru dönemde herhangi bir *S. dysgalactiae* enfeksiyonu bulunmadığı halde laktasyon döneminde enfeksiyonun görülmesinin, etkenin çevresel bulaşma yolunu daha çok kullandığını göstermiştir (Oliver vd., 1998).

Almanya'da *S. dysgalactiae* (tüm klinik mastitis vakalarının %2,8-5,5'i), *S. uberis* 'in (tüm klinik mastitis vakalarının %29-30,5'i) ardından mastitiste en sık karşılaşılan ikinci streptokok türüdür (Went vd., 2020). Yapılan bir çalışmada (Krömker ve Went, 2020) Almanya'daki 16 çiftlikten 93 izolat üzerinde suş tiplendirmesini yapmıştır. Farklı inek sürülerindeki suş çeşitliliğini gözlemlemek için, *S. dysgalactiae* izolatlarını değerlendirmek için farklı çiftliklerdeki klinik mastitisli örnekler toplanmıştır ve suşlar, darbeli alan jel elektroforezi (PFGE) yöntemi kullanılarak tiplendirilmiştir. Her çiftlikte *S. dysgalactiae* 'nın bulaşıcılık derecesini tanımlamak bir indeks (CI) kullanılmıştır. Bu çalışmadaki indeks, 14 aylık süredeki klinik mastitis vakalarının süte bulunan suş sayısına bölünmesiyle elde edilen izolat sayısını temsil etmektedir. Sonuçlar çiftlikler arasında farklılık göstermiştir. Bir çiftlikte, çalışma süresi boyunca meydana gelen altı *S. dysgalactiae* vakasının hepsine tek bir suş neden olurken (CI = 6), başka bir çiftlikte meydana gelen altı vakaya beş farklı suşun neden olduğu gözlemlenmiştir (CI = 1,2). Diğer tüm çiftlikler bu iki değer arasında yer almıştır. Bu, *S. dysgalactiae* enfeksiyonlarının çeşitli bulaşma yolları yoluyla ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

S. dysgalactiae enfeksiyonlarının epidemiyolojisini anlamak, mastitisin önlenmesi ve kontrol edilmesinde esastır. Bir çiftlikte yüksek vaka sıklığı durumunda uygun önlemleri belirlemek için, bu patojenin inekler arasında mı yoksa çevreden ineğe mi bulaştığını anlamak önemlidir. *S. dysgalactiae* oldukça bulaşıcı bulaşma şekli hakkında net kanıtlar şimdiye kadar mevcut değildir. Bazı araştırmalar bu türü inekle ilişkili (Barkema vd., 1999) olarak tanımlarken, bazıları da çevreyle ilişkili (Todhunter vd., 1995) olarak tanımlamıştır. Streptococcus izolatlarını karşılaştıran İsveç'teki bir çalışma da, klinik mastitisli örneklerindeki *S. dysgalactiae*, birkaç süt ineği çiftliğinde özdeş izolatlar şeklinde görülmüştür. Bu, bulaşmanın çiftlikten çiftliğe gerçekleştiği hipotezini desteklemektedir (Lundberg vd., 2014).

S. dysgalactiae'nın kontrol stratejileri enfekte hayvanlara ve sağım sürecine dayanmalıdır, çiftlikte hijyenin genel olarak iyileştirilmelidir. Bir sürüdeki suşların yüksek çeşitliliğinin çevresel bulaşmaya işaret ettiği, düşük suş çeşitliliğinin ise bulaşıcı bir suş davranışına işaret ettiği varsayılmaktadır. *S. dysgalactiae*, inekle ilişkili veya çevresel olarak ilişkili bir mastitis patojeni olarak ortaya çıkabilir (Krömker ve Wentz, 2020).

1.2.2.2. Koliformlar

Bu bakteriler Gram negatiftir. Bu bakteriler gübrede, kirli sularda, toprakta ve atıklarda bulunurlar. Koliform patojeni olarak bilinen *E. coli* hayvan kökenli, *K. pneumoniae* ise toprak kökenlidir. *E. coli*, ineklerin normal bağırsak florasının bir parçası olduğundan gübrede büyük miktarlarda bulunur. *E. coli* genellikle klinik mastitise neden olur ve mastitise neden olan temel özelliği salgıladığı endotoksindir ve bu endotoksinler subakut ve akut etkilerle ciddi klinik mastitise neden olur. *K. pneumoniae* toprakta, suda, bitkilerde ve hayvan bağırsaklarında bulunur. Saman ve talaş gibi kolayca kirlenen altlıklardan memeye aktarılır (Hulsén vd., 2013).

1.2.2.2.1. Escherichia coli

E. coli, çoğunlukla yüksek verimli süt ineklerinde mastitise neden olur ve lokal bazen ciddi sistemik semptomlarla birlikte genellikle doğumda veya erken laktasyon döneminde mastitise neden olur. Çevresel mastitis olarak da bilinen bu durum, yüksek verimli süt ineklerinde süt üretimini ve kalitesini etkileyebilmekte, ciddi enfeksiyonlarda ölüm meydana gelebilmektedir (Burvenich vd., 2003).

Koliform mastitis bazen sporadik veya bulaşıcı olabilir. Enzootik vakalar genellikle verimliliğin yüksek olduğu ve diğer mastitis vakalarının kontrol altında olduğu sürülerde ortaya çıkar. Mikroorganizmanın fırsatçı doğası, mastitis gelişimini etkileyen faktörlerden biridir ve konağın fizyolojik-immünolojik durumu ve mikrobiyal faktörlerle ilişkilidir (Burvenich vd., 2003). Yüksek süt üretimine sahip ineklerin, özellikle doğum öncesi dönemde önemli bir bağışıklık tepkisine maruz kaldıkları bilinmektedir. Yüksek süt üretiminin neden olduğu negatif enerji ve protein dengesi, bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkileyen ketozis ve beslenme bozuklukları gibi çeşitli metabolik bozukluklara yol açmaktadır (Burvenich vd., 2003).

E. coli'nin neden olduğu mastitiste enfeksiyonun ana kaynağı dışkı kaynaklı kontaminasyondur. İneklerin bağırsak florasında ve yaşam alanlarında *E. coli* bakterisinin bolluğu nedeniyle yemliklerin kirlenme riski her zaman vardır. Ayrıca farklı kültür faktörleri de meme bezlerinin çevrede çok yaygın olan koliform bakterilere maruz kalmasını etkiler. Koliform bakterilerin ana kaynağı çöpler, kirli bulaşıklar ve kirli sulardır. Kirlenmiş atlık, kontaminasyon kaynağı olarak koliform mastitisin en önemli nedenlerinden biridir. Koliform bakterilerin neden olduğu klinik mastitis görülme sıklığı, altlıktaki bakteri sayısının azalmasıyla doğru orantılıdır. Ayrıca toprak, su ve bakıcılar da başka bir kaynaktır. Ayrıca barınağın koşulları ve nemi enfeksiyon için gerekli koşulları oluşturur. Bu nedenle kötü ahır şartları ve yetiştirme hataları, koliform mastitislerin şekillenmesi için predispoze etkenlerdir (Burvenich vd., 2003).

Enfeksiyon genellikle çevresel dışkıların *E. coli* ile kontaminasyonu sonucu ortaya çıkar ve ardından etken madde süt kanalı yoluyla meme bezine girer. Ayrıca faktörler kan damarları veya lenfatik sistem yoluyla meme bezine girerek mastitise neden olabilir. *E. coli* mastitisi genellikle aniden başlar ve genellikle doğum sonrası erken dönemde akut olur. Ancak akut enfeksiyonlara ek olarak, ara sıra akut alevlenmelerle birlikte perakut, kronik ve subklinik enfeksiyonlar da ortaya çıkabilir (Tmanova, 2003).

İneklerin *E. coli*'nin neden olduğu mastitise duyarlılığı ve enfeksiyonun ciddiyeti patojene ve hayvanın bağışıklık tepkisine bağlı olduğundan, *E. coli*'nin neden olduğu mastitisin sonucu ve şiddeti aynı sürü arasında ve farklı inekler arasında farklılık gösterir. Bu nedenle *E. coli*'nin neden olduğu mastitislerin sayısı ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. Örneğin, Finlandiya'da bu oran %20'den az, İngiltere'de %14,4, İsrail'de %60'dan fazla olarak bildirilmiştir (Bradley, 2002).

Koliform mastitisler genellikle patojenin süt kanallarına geçmesiyle başlar. Özellikle enterit ve sepsisemiden sonra memede kan yoluyla bulaşan enfeksiyonlar bildirilmiş olsa da bu çok nadirdir. Memeye giriş yolları aynı olmasına rağmen koliform bakteriler meme kanalına girmemektedir. Streptokok ve stafilokokların neden olduğu mastitislerde, enfekte memeden enfekte olmayan memeye bulaşma, sağım sırasında sağımıcının elleri, temizlik bezleri ve süt materyalleri yoluyla gerçekleşirken, koliformlar sağım sırasında memeye girmez, ancak gerçek sağım dışında başka yollarla memeye girer. Ek olarak, birçok durumda bakteriler meme bezinin epiteline veya parankimine nüfuz etmez. Bununla birlikte, kronik veya tekrarlayan mastitise neden olan bazı *E. coli* türleri epitel dokuya yapışabilir ve istila edebilir (Wellenberg vd., 2002).

Meme bezine ulaşan bakteriler burada hızla çoğalır ve birkaç saat içinde sütteki konsantrasyonu yaklaşık 10^8 CFU/ml'ye ulaşır. Bu erken dönemden sonra lökositlerin meme dokusuna göçü başlar. Dolayısıyla maddenin çoğalması meme bezindeki lökosit sayısına ve lökositlerin bölgeye hareket hızına bağlıdır. Hastalığın başlangıcı ve şiddeti esas olarak vasküler nötrofillerin birikimine ve aktivasyonuna bağlıdır ve bunlar kolibakteriyel mastitin patogeneğinde anahtar rol oynarlar. Çok sayıda polimorfik lökosit, koliform bakteriler tarafından fagosite edilir. Fagositoz sonucunda bakteri sayısı hızla azalırsa, parçalanmış bakterilerin salgıladığı endotoksin miktarı artar. Salınan endotoksin bir dizi inflamatuvar reaksiyon başlatır. Aktive edilmiş fagositler böylece IL-1 (interlökin-1) ve TNF (tümör nekroz faktörü) gibi inflamatuvar aracılara serbest bırakır ve semptomlara emilen endotoksinler neden olur (Hogan ve Smith, 2003; Baştan, 2019).

E. coli'nin neden olduğu mastitis çoğunlukla sporadiktir ve klinik semptomlar çok şiddetlidir. Sadece meme bezlerinde lokal belirtiler gösterebilse de ölümcül bir form olarak da görülebilmektedir. Hastalığın şiddetinin konakçı yanıtına bağlı olduğu ve etken maddenin virülans faktörlerinin de önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca meme lobunda ve sütte gözlenen değişiklikler mastitis tanısında ilk bulgular olsa da enfeksiyonun ciddiyetini tahmin etmede yetersiz olduğu görüldü. Çünkü *E. coli* mastitis enfeksiyonunun şiddetinin, sütteki bakteri sayısı ve enfekte olmayan memeden süt üretiminin azalması ile doğrudan ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Burvenich vd., 2003).

1.2.2.2.2. *Klebsiella pneumoniae*

E. coli, *K. pneumoniae* ve *Enterobacter aerogenes* inek mastitisinde en yaygın koliformlar olarak kabul edilmektedir. *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *E. aerogenes* dünya çapında inek mastitisinde baskın olan koliform mikroorganizmalar olarak tanınmaktadır. Bununla birlikte, dünya da toksemik veya septisemik inek meme enfeksiyonlarının etiolojisinde *K. pneumoniae* rolü ve şiddetini değerlendirmek için çok az sayıda çalışma gösterilmiştir. Farklı ülkelerde ciddi salgınlarda veya izole perakut veya akut inek mastitis vakalarında *K. pneumoniae*, baskın olarak laktasyonun ilk iki haftasında bildirilmiştir. Meme enfeksiyonları sıklıkla hayvanların çevresinde kullanılan talaş gibi altlık tiplerindeki kontaminasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Ribeiro vd., 2008).

Yapılan bir çalışmada, 5 yaşlı Holştayn bir ineğin altlık ile teması bulunmamasına rağmen uzun süre yağmurlu bir dönemden sonra buzağılamadan yaklaşık 3 hafta önce *K. pneumoniae*’ ye bağlı şiddetli klinik belirtiler gözlenmiştir. Yağmurun fazlalığı ve organik materyalin yetersiz yönetimi, nem ve dışkı materyalinde mikroorganizmanın sayıca artmasına ve meme bezine kadar bulaşmasına neden olmuştur (Ribeiro vd., 2008). Benzer şekilde, başka bir çalışmada *K. pneumoniae*’ nin dışkıyla ve sağımlar arasındaki ortamda organik materyalin fazlalığıyla, bu mikroorganizma ile ilişkili inek mastitisleri şekillenebileceğini bildirmiştir (Munoz vd., 2006). Sağımlar arası dezenfeksiyon, sağımhane hijyeni, çevre ve organik-inorganik altlık materyalinin yönetimi *K. pneumoniae*’nin neden olduğu akut koliform mastitislerin azaltılmasında en önemli yöntemler arasında bulunmaktadır (Ribeiro vd., 2008).

1.2.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar

1.2.3.1. Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS)

Mastitise neden olan çoğu fırsatçı patojen Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) kategorisine girer. Bu patojenler, meme derisinin yaygın saprofitleridir. Bilinen 48 KNS vardır, ancak bunların çok azı meme içi enfeksiyona neden olur. Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) küçük patojenler olup ekonomik kayıplara sebebiyet verirler. Koagülaz negatif stafilokokların en iyi bilineni *Staphylococci chromogens*’dir (Haxhiaj vd., 2022). Bu patojen ile ilişkili çoğu meme içi enfeksiyon vakası insan kaynaklı görünmektedir (Moroni vd., 2018).

Mevcut araştırmalar, en yaygın türler olarak *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus simulans* ve *Staphylococcus xylosus*'u tanımlamıştır. Bununla birlikte, KNS grubu içinde meme içi enfeksiyonların çoğunluğu *S. chromogenes* ile ilişkilidir, ardından *S. simulans* gelir, bu da bu türlerin konakçıya daha iyi adapte olabileceğini düşündürür. *S. haemolyticus*, meme içi enfeksiyona neden olan fırsatçı bir patojen olabilir, ancak aynı zamanda çeşitli habitatları işgal edebilir. *S. xylosus*'un epidemiyolojisi hakkında çok az şey bilinmektedir ve *S. epidermidis* insana adapte olmuş bir tür olarak kabul edilmektedir (Moroni vd., 2018).

KNS enfeksiyonları genellikle herhangi bir klinik belirti göstermez. Sonuç olarak, yalnızca pozitif bir bakteriyolojik kültürden keşfedilebilir. İyileştirilmiş sa ım hijyeni, meme başı hasarlarını en aza indirme ve kuru dönem tedavisi ile birlikte sa ım sonrası memeyi iyotla daldırma gibi  nlemler KNS kaynaklı enfeksiyonları kontrol altında tutabilir (Haxhiaj vd., 2022; Moroni vd., 2018).

Bu enfeksiyonlar somatik hücre sayısını (SHS) artırır ve nadiren klinik mastitise neden olur. Baskın koagülaz negatif stafilokok türlerinin neden olduğu meme içi enfeksiyonların ortaya çıkmasında, ineklerin normal deri florası, özellikle de meme dokusu florası ile ilişkilidir. Koagülaz negatif stafilokoklar, sa ım sonrası meme başlarının dezenfeksiyonu ve kitlesel kurutma kullanılmazsa sıklıkla meme içi enfeksiyonlara neden olur. Koagülaz negatif stafilokoklar sürülerde ilk doğumda meme içi enfeksiyonlara neden olur. Genellikle ilk doğumda meme loblarının %30'unu enfekte ederler. Koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu enfeksiyonların çoğu kuru dönemde ortaya çıkar. Koagülaz negatif stafilokok enfeksiyonlarının, doğumda kuru dönem tedavisi almayan sürülerde, alan sürülere göre daha yaygın olduğu rapor edilmiştir (Smith ve Hogan, 1999).

1.2.3.2. Diğer Mikroorganizmalar

1.2.3.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, ineklerde mastitis, solunum ve bağırsak yollarında sistemik enfeksiyonlar, atlarda genital hastalıklar ve koyunlarda yeşil y n hastalığına da neden olup ekonomik zarara da neden olmaktadır. Bakteri sa ım esnasında kullanılan sıcak veya soğuk sulardan, ıslak zeminden, yeterince dezenfekte edilmemiş sa ım makinalarından ve ekipmanlarından, ortamdan, toprak ve dışkıdan, kontamine olmuş enjektör uçlarından izole

edilebilmektedir. *P. aeruginosa* aerobik, genellikle kapsülsüz, ancak bazen kapsül oluşumu gözlenebilen, taze kültürlerde flagellasıyla çok hızlı hareket edebilen, kültürlerde bazen çift, çoğunlukla tek olarak görülen Gram negatif bir basildir; 0,5–0,8 mikrometre genişliğinde ve 1,5–3,0 mikrometre uzunluğundadır. *Pseudomonas aeruginosa* normal ortamda kolaylıkla ürer. Koyun kanlı agarda (%5) beta hemolize neden olurlar ve Petri kutusunu açtığınızda üzüm kokusu duyulur. Optimum üreme sıcaklığı 37,0 °C’dir fakat 42 °C’ye kadar sıcaklıkları tolere edebilir (Arda vd., 1997; Kirk ve Mellenberg, 2013).

P. aeruginosa’da mastitise neden olan patojenlerden biridir ve bunun sonucunda sistemik enfeksiyonlar da gelişir. Bakteri ayrıca solunum yolu ve bağırsaklarda enfeksiyonlara da neden olabilir. Öte yandan süt ineklerinde *P. aeruginosa* patojenlerinin oranının çok yüksek olmadığı (%1-3) bildirilmektedir. Klinik bulgular çoğunlukla erken dönemde laktasyon ve süt üretimi çok yüksek olan hayvanlarda görülür. Ancak emzirme sırasında herhangi bir zamanda kırılmalar meydana gelebilir. Bu hastalık, semptomlara neden olmayan akut subklinik olaylardan, hatta ölüme yol açabilen yaşamı tehdit eden klinik olaylara kadar geniş bir yelpazede klinik belirtilere sahiptir (Arda vd., 1997; Kirk ve Mellenberg, 2013).

P. aeruginosa, ineklerde fırsatçı bir patojendir ve meme dokusu veya meme bezleri hasar gördüğünde aktive olur. Ayrıca diğer bakterilerin, bakım hatalarının, bağışıklık sistemin zayıf olduğu durumlarda da hastalık ortaya çıkar. Bakteriler plastik yüzeylere, hortumlara ve çeliğe yapışabilir. Bu nedenle sağım makinelerinin iyi dezenfekte edilmemiş yüzeylerinde kolaylıkla bulunur. Bu özelliği sayesinde madde inekten ineğe kolaylıkla aktarılır. Bunları çevreleyen koruyucu madde (biyofilm), bakterileri metal yüzeylerin zararlı etkilerine karşı korurken aynı zamanda klor, iyot gibi dezenfeksiyon için kullanılan dezenfektanlara karşı da onları dirençli hale getirir. Normalde bakteriler dokuların doğal direncinden dolayı sağlıklı dokularda hastalığa neden olmazlar (Woslka vd., 1999).

P. aeruginosa, antibiyotiklere dirençli olduğundan tehlikeli bir patojendir. Bakteri, lipopolisakkarit (LPS) yapısında dış membran geçirgenlik bariyerlerine sahip olduğundan doğal olarak birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelir. Antibiyotiklerin terapötik konsantrasyonlarına karşı, yüzeylerinde havaya ve suya dayanıklı biyofilmler oluşturarak hücrelere erişimi engellerler (Gül, 2002).

Arda vd., (1997) *P. aeruginosa*'nın genel besiyerinde kolayca büyüdüğünü, %5 koyun kanlı agarda beta hemolize neden olduğunu ve Petri kutusu açıldığında üzüm kokusuna sahip olduğunu bildirmiştir.

Trakya bölgesinde 77 adet süt örneği üzerinde yapılan çalışmada 105 patojen izole edilmiş ve bu örneklerin %4,8'inin *Pseudomonas aeruginosa* olduğu tespit edilmiştir (Ak, 2000).

Türütoğlu vd., (1995), Marmara bölgesinden elde edilen 1594 mastitisli süt örneğini inceledikleri araştırmalarında izole edilen 1126 etkenden %0,2'sinde (3 adet), Burdur yöresinde yaptıkları çalışmada ise Türütoğlu vd., (2002), klinik ve subklinik seyreden mastitisli 249 inekten alınan süt örneklerinde %1,03 oranında *P. aeruginosa* identifiye etmişlerdir.

Japonya'da yapılan bir çalışmada, mastitis hastası ineklerden elde edilen süt kullanılarak *P. aeruginosa*'nın 171 izolatının antibiyotik duyarlılığı araştırılmış, araştırma sonuçlarına göre siprofloksasin, imipenem, meropenem, piperasilin, seftazidim, sefepim, sefarazon sulbaktam, amikasin, tobramisin ve gentamisin'e karşı yüksek duyarlılık, seftriakson, enrofloksasin ve moksaliksimine karşı ise yüksek direnç gözlenmiştir (Ohnishi vd., 2011).

1.2.3.2.2. *Arcanobacterium pyogenes*

A. pyogenes (*C. pyogenes*) böceklerin bulaşmada önemli bir rol oynadığı ve özellikle kuru dönemde inek ve düvelerde yaz mastitisine neden olduğu bilinen hastalığın ana etkenidir. Bu faktör ara sıra perakut mastitis vakalarına neden olur. Delici yaralar yoluyla ortaya çıkan hastalığa Kuzey İrlanda'da "yaz mastiti", Avrupa'da ise "Holstein mastitisi" adı verilmektedir. Hastalık miks bakteriyel enfeksiyon olup, merada otlayan hayvanların laktasyonda olmayan meme bezlerinde ortaya çıkar. Bu nedenle bu hastalığa "düvelerin yaz mastitisi" de denilmektedir. Hastalığa esas olarak *A. pyogenes*, *S. disgalactiae*, *P. indolicus*, *B. melaninogenicus*, *F. necrophorum* ile mikroaerofilik ve tanımlanamayan zorunlu anaerobik bakteriler neden olur. Hastalığın laktasyondaki veya kuru dönemdeki ineklerde görülen formuna "sığır piyojenik mastitis" denir. Enfeksiyon meme bezi kanalı yoluyla meme bezine ulaşır. Bu durum çoğunlukla papüler stomatitis, travma ve ışığa duyarlılık gibi önceden var olan döngü lezyonlarının bir sonucu olarak ortaya çıkar. *A. pyogenes* in neden olduğu mastitis,

doğası gereği irinlidir. Bu durumlarda nekrotik pürülan galaktoforit meydana gelir. Bu nedenle memenin enfeksiyonlu kısımlarında ciddi nekroz meydana gelir (Çalışkan, 2010; Seyrek ve İntaş, 1997).

1.2.3.2.3. Algler (*Prototheca*)

Su birikintileri, çamurlar ve nemli toprak algler için uygun yaşam alanlarıdır. Özellikleri su birikintileri fazla temas eden ineklerde *Pseudomonas* spp. ve alglere bağlı şekillenen mastitisler daha sık görülmektedir. Günümüzde mastitise neden olan olduğu bilinen 3 tür alg bildirilmiştir. Bunlar; *Prototheca wickerhamii*, *Prototheca zopfii* ve *Prototheca stagnora*'dır. *Prototheca wickerhamii* ve *Prototheca zopfii*' nin ineklerde ve insanlarda patojen olduğu bilinmektedir. Algler ineklerde kronik mastitise neden olurlar ve süt veriminde azalma görülür. Bu mikroorganizmaların neden olduğu mastitisler çevresel mastitisler olarak değerlendirilmektedir (Baştan, 2019).

1.2.3.2.4. Mayalar

Bu mikroorganizmalar meme içi preparatlar uygulanırken yeterli hijyene uyulmadığı durumlarda meme dokunun iç katmanlarına ulaşabilmektedir. Uzun süreli meme içi antibiyotik kullanımlarını bir sonucu olarak maya ve mantarların neden olduğu mastitislere rastlanmaktadır (Baştan, 2019).

1.3. Mastitislerin Tanısı

Mastitis, meme parankiminin yangısı olup, sütte fiziksel-kimyasal-biyolojik, meme dokusunda ise yapısal değişikliklere neden olan bir tür meme içi enfeksiyondur. Klinik mastitislerde belirtiler açıktır ve belirgindir. Enfeksiyonu tespit etmek için herhangi bir laboratuvar testine gerek yoktur. Subklinik mastitisin tespiti zor ve problemlidir. Süt ineklerinde enfeksiyon merkezi olması ve süt üretimini azaltması nedeniyle subklinik mastitis çok önemlidir. Mastitis süütün bileşimini ve kalitesini olumsuz etkiler. Bu değişiklikler bağışıklık sisteminin iltihaplanmaya nasıl tepki verdiğine bağlı olarak değişir. Bu değişiklik, bulaşıcı ajanların virülansına ve meme bezindeki etkilenen dokunun genişliğine bağlıdır. Sütte gözlenen inflamatuvar değişikliklerin boyutu, meme dokusunun alveollerindeki enfekte epitel hücrelerinin sayısı ile ilişkilidir (Sandholm vd., 1995).

Sütteki değişiklikler nedeniyle çeşitli göstergeler veya biyobelirteçler salınır ve/veya etkilenir ve bunlar mastitis için tanısal belirteçler olarak kullanılabilir. Bunlar arasında elektriksel iletkenlik, pH, biyokimyasallar (örneğin metabolik maddeler), proteinler (örneğin amiloid A), peptitler, enzimler [örneğin N asetil-b-D-glukozaminidaz, alkalın fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH)], laktoz, somatik hücre sayısı (SHS), mikrobiyal yük ve bazı yeni biyobelirteçler gibi fiziksel, kimyasal ve/veya biyolojik değişiklikler veya belirteçler yer almaktadır. Bu belirteçler, geleneksel yöntemler, SHS, California Mastitis Testi (CMT), gelişmiş polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), döngü aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP), lateral akış analizleri, genomik, transkriptomik ve proteomik analizlerin yanı sıra taşınabilir cihazların nano ve mikro fabrikasyonuna kadar çeşitli teşhis yöntemleriyle tespit edilir; bunlardan bazıları tek başına veya kombinasyon halinde kullanılan mastitis için gelişmiş teşhis yöntemleridir (Sandip vd., 2019). Mastitisin sahadaki teşhisinin ardından neden olan etkenlerin bakteriyolojik ve biyokimyasal olarak tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi zaman alıcıdır. Moleküler biyolojik araçların geliştirilmesi doğrudan, doğru ve hızlı teşhis sağlayabilir (El-Sayed vd., 2017).

Mastitis teşhisi üzerine yapılan çalışmaların büyük çoğunluğuyla, mastitisin sınıflandırması, prensip tanımı, karşılaştırmalı teşhis yapabilme ve sahada uygulanabilirliği üzerinedir. Tanısal teknolojik müdahaleler arasında SHS, CMT, kızıl ötesi termografi (IRT), sensör tabanlı mastitis tespit sistemleri, proteomik yaklaşımlar yer almaktadır. Ayrıca, spesifik teşhise götüren spesifik kültür, PCR ve nükleotid dizileme / moleküler tiplendirme yöntemleri, spesifik immünoassayler ve mastitise özgü biyobelirteçler hakkında yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Gelecekte, mastitisin erken, hızlı ve doğru teşhisi için daha ekonomik, kullanışlı, sahada uygulanabilir ve güvenilir teşhis testlerine odaklanılması gerekmektedir (Sandip vd., 2019).

1.3.1. Mastitisin Genel Göstergeleri

Gözle görülebilen veya görülemeyen ve herhangi bir patojene özgü olmayan ancak (subklinik) mastitis için tanı koymaya yardımcı olan genel değişiklikler fenotipik mastitis tanı testleri olarak ifade edilmektedir. Bunlar arasında fiziko-kimyasal-biyolojik teşhisler (pH, elektrik iletkenliği, enzimler, biyokimyasal moleküller, spesifik olmayan kültür), SHS, CMT, dijital mastitis tespit testleri, meme termografisi, biyosensörler veya proteomik yaklaşımlar yer alır (Kandeel vd., 2018c).

1.3.1.1. Fizikokimyasal Teşhis

Mastitis sırasında sütte, kanda veya serumda değişen çok sayıda fiziksel, biyokimyasal belirteçler oluşmaktadır. Fiziksel olanlar arasında süütün genel görünümü, elektrik iletkenliği ve pH bulunurken biyokimyasallar arasında laktoz, proteinler (örneğin amiloid A), peptitler ve enzimler [örneğin N-asetil-b-D-glukozaminidaz, LDH, ALP veya süt arginazı] gibi çeşitli metabolik maddeler bulunur (Sandip vd., 2019). Bu belirteçlerin tespiti, geleneksel spektrofotometride, immünoassayler gibi çeşitli yeni teşhis yöntemlerine doğru evrilmiştir (Addis vd., 2016; Hussein vd., 2018). Bunlar yüksek özgüllük ve hassasiyete sahiptir ancak sahada uygulanabilirlikleri daha azdır (Sandip vd., 2019).

1.3.1.2. Somatik Hücre Sayısı (SHS)

Somatik hücre sayısı (SHS), subklinik mastitis teşhisi için ideal bir yöntem olarak bulunmuştur. Kullanışlı ve güvenilirdir. SHS 'nin doğrudan ölçümü yüksek doğruluğa sahiptir ancak maliyetlidir ve birçok durumda kullanılamaz (Patil vd., 2015). SHS ölçümü için yüksek kapasiteli hücre sayaçları kullanılır (akış sitometrisi prensibine dayalı) ve bu yöntem SHS ölçümü için güvenilirdir (Kandeel vd., 2018a)

Klinik (5.000.000 hücrenin üzerinde) veya subklinik (200.000 hücrenin üzerinde) mastitis için tanı yöntemi olarak SHS için evrensel standartlar takip edilse de çok sayıda faktör bu değerleri etkileyebilir (Shook vd., 2017). Shook vd., (2017) meme içi enfeksiyonlar ile SHS arasındaki ilişkinin zaman içinde istikrarlı olduğunu ve mevsimler, farklı üretim sistemleri ve hayvan faktörleri arasında çok tutarlı olduğunu ortaya koymuştur.

1.3.1.3. California Mastitis Test (CMT)

California mastitis test, SHS'yi tahmin etmek için kolay, hızlı ve uygun maliyetli bir yöntemdir. CMT reaktifi reaksiyona girerek lökositleri (WBC) parçalar ve böylece çekirdeklerinden deoksiribonükleik asit (DNA) salınır ve bu da jel oluşumuna neden olur. Jel kalınlığı yangının şiddetini gösterir. CMT'nin doğumdan sonraki 4 günden önce mastitisin tespiti için kullanılması önerilmemektedir (Sandip vd., 2019). CMT ile yanlış pozitif ve yanlış negatif reaksiyonlar yine de meydana gelecektir ve bu testin öznelliği nedeniyle yanlış sınıflandırma olabilmektedir. Düşük özgüllükle ilişkili yanlış pozitifler, sütte bakteri izole edilmemiş somatik hücreler bulunduğu ortaya çıkacaktır (Randy vd., 2023). Bununla

birlikte, test, tedaviyi takiben SHS'nin tahmini temelinde tedavinin başarısını izlemek için yüksek öneme sahiptir. Genel olarak CMT, %94,9-99,5 duyarlılık ve %48,1-87,1 özgüllük gösteren SHS gibi diğer testlere göre daha az doğru (%87,4-90,8), daha az duyarlı ve özgül olarak gözlemlenmiştir (Rossi vd., 2018).

CMT uygulaması büyük işletmelerde zaman alıcı bir işlemdir; bu nedenle, özellikle büyük çiftliklerde çok sayıda örnek için uygun değildir ve bu nedenle dijital testler veya biyosensörler gibi yeni hassas ve hızlı teşhis teknikleri ile değiştirilmiştir (Sandip vd., 2019).

1.3.1.4. Otomatik Dijital Teşhis Sistemleri

Otomatik mastitis tespit sistemleri, sahada uygulanabilir, kolay ve hızlı (anında sonuç veren) yeni teşhis yöntemleridir. Bunlar ya süt veya memedeki fiziko-kimyasal-biyolojik değişikliklerin tespitine ya da mastitisle ilgili vücut sıvılarındaki (süt, serum) biyobelirteçlerin tahminine dayanmaktadır. Bunun için özel tasarlanmış mastitis detektörleri bunlara iyi bir örnektir (Kandeel vd., 2018b).

Günümüzde, mikrobiyal tanımlama ve mikrobiyal yüke ek olarak, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci de dikkat gerektirmektedir. Bu nedenle, bu hususları aynı anda belirleyen yeni teşhis yöntemleri tasarlanmaktadır. Bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılığı sonuçları sağlayan tanımlama sistemleri (otomatik), tanımlama kartları mevcuttur (Crowley vd., 2012). Sistemin hızlı, güvenilir ve doğru olduğu kanıtlanmıştır. Bu sistem *S. aureus*'un %84,09-100'ünü doğru bir şekilde tanımlayabilmiştir ve doğruluğu %90 olarak kabul edilmektedir (Elbehiry vd., 2016).

1.3.1.5. İnfra-Red Termografi (IRT)

IRT gibi yeni teşhis teknikleri de mastitis teşhisinde uygulama alanı bulmuştur. Bu, sahada subklinik mastitisin teşhisi için çok basit teşhis aracı olabilir (Polat vd., 2010). Zaninelli vd., (2018), mastitis teşhisi için IRT'yi değerlendirmiş ve SHS ile ilişkilendirmiştir. Biraz iyileştirme ve geliştirme ile IRT gelecekte çok faydalı ve kullanışlı bir çiftlik aracı olabilir. IRT, deri veya meme yüzeyindeki ısı veya termal farka dayanan basit, etkili, yerinde ve noninvaziv bir teşhis yöntemidir; dolayısıyla meme enfeksiyonlarının teşhisinde yardımcı olan görüntüler sunabilir (Sathiyabarathi vd., 2016a)

İneklerde subklinik mastitisin tespiti için, IRT'nin tanısal duyarlılığı ve özgüllüğü, CMT %88,9 ve %98,9 iken karşılaştırıldığında sırasıyla IRT için %95,6 ve %93,6 olarak bulunmuştur (Polat vd., 2010). IRT, büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda klinik mastitis vakalarını subklinik mastitis vakalarından ayırt edilmesinde kullanılmaktadır. IRT ile ineklerdeki klinik mastitisli vakalarda daha yüksek, subklinik vakalarda ise daha düşük sıcaklık kaydedilmiştir. Dolayısıyla IRT, mastitisin erken tespitine yardımcı olan hassas, çiftçi dostu ve toksik olmayan bir tanı yöntemidir. IRT'nin son derece hassas termal kamerası, yüzey sıcaklığındaki veya meme yangısal küçük değişiklikleri bile tespit edebilir ve mobil tabanlı uygulamasında, IRT uygun bir araç haline gelebilir ve taşınabilir tanı aracıdır (Sathiyabarathi vd., 2016a; Sandip vd., 2019).

1.3.1.6. Sensör Tabanlı Mastitis Tespit Sistemleri

Bu teşhis sistemleri, mastitisin genellikle hayvan üzerinde minimum stresle algılanmasına yardımcı olur. Bu teşhis sistemleri özellikle büyük çiftliklerde faydalıdır. Organize büyük süt çiftliklerinde elle sağımın yerini otomatik sağım veya makineli sağım almıştır. Bu kadar çok sayıda hayvandan mastitis vakalarının tanımlanması, klinik mastitis vakalarının zamanında tanınabilmesi için sütün çeyrek bazlı elektriksel iletkenliği (EC) ile birlikte somatik hücre sayısı ISHS algılama tekniğinin hat içi izlenmesi gibi uygun algılama teknolojisi kullanılarak otomatik algılama tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu konseptte dayanarak, 2006-2007 yıllarında Yeni Zelanda'da 200 inek üzerinde bir çalışmada bulgular klinik mastitis teşhisi için somatik hücre sayısının hat içi izlenmesi (ISHS) ve elektriksel iletkenlik (EC)'nin birlikte kullanılmasının yardımcı olabileceğini göstermektedir (Kamphuis vd., 2008).

Bu sistemlerin en az %80 duyarlılığa ve en az %90 özgüllüğe sahip olması ve 48 saatlik bir algılama zaman aralığına sahip olması beklenmektedir. Ancak, karşılaştırmalı sonuçlar farklı sensör tabanlı modeller arasında geniş farklılıklar olduğunu göstermiştir (Hogeveen vd., 2010).

1.3.2. Mastitiste Kullanılan Spesifik Tanı Testleri

Mastitise neden olan patojenleri veya bunların genetik materyallerini spesifik olarak tespit eden, özellikle patojenlerle ilgili biyobelirteçleri tahmin eden veya patojene özgü değişiklikleri gösteren genotipik tip mastitis tanı testlerini içerir. Bu nedenle, testler mastitis

tanısına özgüdür ve ölçülebilirdir. Bunlar arasında spesifik kültürler, polimeraz zincir reaksiyon (PCR) veya PCR / DNA bazlı moleküler teknikler, nükleotid dizileme veya genomik yaklaşımlar, MALDI-TOF, spesifik immünoassayler ve spesifik biyobelirteçler yer almaktadır (Ashraf ve Imran, 2018).

1.3.2.1. Mikrobiyolojik Kültür

Bazı bakteriler mastitise neden oldukları ve/veya artan sürüden çıkarma veya ölüm dahil olmak üzere mastitise bağlı ekonomik kayıplara yol açtıkları sıklıkla bildirildiği için majör olarak kabul edilirler. *E coli*, *Klebsiella spp.*, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae* ve *S. agalactiae* başlıca mastitis patojenleri olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, mastitise bakteriyel prevalansların hem Türkiye’de içinde hem de ülkeler arasında ve zaman içinde değiştiği iyi bilinmektedir. Danimarka’da yapılan bir çalışmada, mastitise neden olan bakterilerin tahmini prevalanslarının, özel veteriner klinikleri tarafından yapılan teşhislerin kayıtlarına dayandığını ve 1980’lerin başından bu yana, Danimarka’daki veteriner kliniklerinin çoğu teşhislerini kurum içi mikrobiyolojik analizlere dayanarak yaptığını göstermiştir (Astrup vd., 2022).

Mikrobiyolojik/bakteriyolojik kültürün son derece gerekli olduğu mastitisin etiyolojisi için doğru bilgiye sahip olmak önemlidir (Abdelmegid vd., 2017). Çeşitli hastalıklarda rol oynayan patojenler genellikle mikrobiyal kültür veya antikor bazlı tespit yöntemleri ile tanımlanır. Mastitise neden olan organizmanın tespit edilmesi, antibiyotiklerin seçici kullanımı, bulaşıcı patojen durumunda enfeksiyonun yayılma riskinin azaltılması ve hasta hayvanın sürüden çıkarılma kararları açısından birçok avantaja sahiptir. Patojenlerin bakteri kültürüne dayalı tespiti hala altın standart olarak kabul edilmektedir. Kültür yöntemiyle ilgili en büyük sorun yanlış negatif sonuçların yanı sıra zaman alıcı ve yoğun emek gerektiren bir faaliyet olmasıdır. Birden fazla patojen içeren örneklerde, bir bakteri türü diğer türlerin çoğalmasını baskılayabilir ve *Mycoplasma spp.* gibi birçok bakteri türü çoğalmak için uzun bir süreye ihtiyaç duyar. Sonuçlar esas olarak bakteri kültürünün fenotipik özelliklerinin yorumlanmasına dayanır, bu nedenle önemli ölçüde değişkenlik görülür (Ashraf ve Imran, 2018).

Günümüzde çeşitli mikrobiyal kültüre dayalı kitler tasarlanmıştır. Bu çiftlikte kültürleme kitlerinin özgüllüğü ve hassasiyeti rutin kültürleme yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Bu kitler, Gram pozitif klinik mastitis patojenlerinin hızlı tespiti sayesinde ekonomik faydalar

sağlamıştır. Rapor edilen bu sonuçlar, bazı durumlarda belirli patojenlerin yanlış tanımlandığını da göstermiştir (Viora vd., 2014). Erken tedavi kararları için on-farm kültür sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler, çeşitli mastitis patojeni grupları arasında ayırım yapmak için seçici besiyerlerinin kullanımına dayanmaktadır. Minnesota Easy Culture System II Bi- Plate ve Tri-Plate çiftlik içi kültür sistemleri olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar daha yüksek özgüllük ancak daha düşük duyarlılık göstermiştir. Bu yöntemler enfeksiyonların geniş çaplı sınıflandırılması için daha güvenilirdir ancak yakın ilişkili türlerin tanımlanması için çok umut verici değildir (Royster vd., 2014). Bu çiftlik kültürü sistemleri, mastitis vakalarında hızlı tedavi kararı vermek için kabul edilebilir sonuçlar elde edilmiştir (Ashraf ve Imran, 2018).

Mikrobiyolojik kültür sonucunda genellikle birden fazla bakteri üremesi sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Böyle durumlarda göz önünde bulundurulması gereken bazı noktalar şu şekildedir (Baştan, 2019).

1. Herhangi bir patojenin saf kültürde elde edilmesi, hastalığa neden olan ana bakteri olduğunu düşündürmektedir.
2. Birden fazla bakteri tespit edilmiş ise, ana mastitis etkenleri dışındaki bakteriler kontaminant olarak değerlendirilmelidir. Kontamine kültürlerde *E. coli*, *Bacillus* türleri, *Proteus* ve *S. faecalis* görülmektedir.
3. Kültürlerde herhangi bir bakteri üremeyebilir. Kültürlerin %25-35'inde bakteriyel çoğalma olmayabilir ya da yeterli miktarda değildir. Bu durum çoğunlukla klinik mastitislerde görülmektedir. *E. coli* gibi bakteriler meme savunma sistemi tarafından kolayca yok edilmektedir. Kronik *S. aureus* ve *S. uberis*'in neden olduğu mastitislerde bakteri sayısı zamana bağlı olarak dalgalanma göstermektedir. Süt numunesinin alındığı zaman diliminde bakteriyel saçılım yok ise, kültürde bakteri izole edilememesi durumu ortaya çıkmaktadır.
4. Süt numunesi alınmadan önce ineğe antibiyotik tedavisi yapılmış olması, kültürde bakteri üremesine engel olur.
5. Örnek alma ile ekim yapma arasındaki sürenin uzun olması,
6. Örnek hacminin oldukça az olması,
7. Klasik besi yerinde üremeyen bir mikroorganizma olması (*Mycoplasma* spp., ve *Leptospira*)
8. Travmatik ve hipersensitiviteye bağlı bir mastitis olması

1.3.2.2. Çiftliklerde Kullanıma Uygun Hızlı Tanı Yöntemleri (On- Farm Culture, OFC)

Mastitis ineklerde genellikle bakteriyel bir enfeksiyonun neden olduğu bir hastalıktır ve dünya çapında süt ineklerde antibiyotik kullanımının en yaygın sebebidir. Mastitis tedavisinde antibiyotikler kullanılsa da bu durum pek çok potansiyel sorunu beraberinde getirir. Bunlar arasında insan tüketimi için süt ve ette antibiyotik kalıntısı riski, antibiyotik direncinin gelişimi, antibiyotiğin maliyeti ve tedavi süresi, süt kaybı ve ilgili süttten atılma süreleri bulunur. Bu nedenle, hayvan sağlığı ve refahını iyileştirmek amacıyla antibiyotiklerin dikkatli kullanımını vurgulayan kılavuzlar yayınlanmıştır. Ancak, mikrobiyolojik kültür testleri gibi etkili teşhis araçlarına talep arttıkça, çiftliklerde kullanılan daha pratik çözümlere ihtiyaç duyulmuştur. Mevcut seçenekler arasında DNA tabanlı PCR teknolojilerinin kullanımı bulunmakla birlikte, PCR sistemleri henüz çiftlikte pratik olarak kullanılabilecek durumda olmayıp, yetkin profesyoneller tarafından yorumlanması gereken ve maliyetli olan yöntemlerdir (Jones vd., 2019).

Süt numuneleri bakteri kültürü için sertifikalı laboratuvarlara veya veteriner kliniklerine gönderilebilir ve kalite kontrol hayati önem taşır, eğitilmiş ve deneyimli operatörler en doğru sonuçları sağlamaktadır. Laboratuvar süt kültürünün en büyük dezavantajı numunenin toplanması, laboratuvara taşınması ve ardından bakteri üremesi ve de analizi arasında geçen süredir. Numunenin işlenmesi sırasında bakteri canlılığında kayıp olabilir ve kontaminantların üremesini en aza indirmek için çaba gösterilmesi önemlidir. Laboratuvar kültürünün maliyeti değişkenlik göstermekle birlikte, az sayıda numune gönderildiğinde nispeten yüksek olabilir. Süt ineklerinde antibiyotik yönetimine giderek daha fazla odaklanılması, bakteriyel tanımlama yöntemlerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Laktasyon sırasında klinik mastitisin hedefe yönelik tedavisini sağlamak için, 24 saatten daha kısa bir sürede aktif bir enfeksiyonun tanımlanmasına olanak tanıyan çiftlik içi kültür sistemleri uygulanmaya başlamıştır (Lago vd., 2011a).

Mastitisten etkilenen sütün kültürü, mastitise neden olan bakterilerin (maya ve algler gibi diğer mikropların yanı sıra) tanımlanması için uzun zamandır kabul edilen "altın standart" olmuştur (NMC, 2017). Kültür yöntemlerinde süt agar plakalarına (içerisinde bakterilerin üremesi için özel besiyeri bulunan ortam) yayılır ve bakteriler koloni büyüklüğü, şekli, rengi, agardaki değişiklikler, boyama ve çeşitli enzimatik testlerle tanımlanır. Büyüme derecesi de hafiften orta dereceye ve çok ağır büyümeye kadar değerlendirilebilir. "Çiftlik kullanımına

uygun hızlı teşhis yöntemi” olarak nitelendirilen çiftlik içinde bakteri identifikasyonu yapılmasına olanak sağlayan sistemlerden kullanımları ve doğrulukları hakkında yayınlanmış veriler olanlar tercih edilmeli, hakemli doğrulama çalışmaları aranmalı ve sonuçları yorumlamakta güçlük çekildiğinde deneyimli bir danışmandan yardım istenmelidir (Dairy Australia Guide, 2020).

Süt üreticileri ve veteriner hekimler için mastitiste hedeflenen önleyici faaliyetlerin sürü düzeyinde patojenlerin belirlenmesi veya klinik mastitisli inekler için en uygun tedavi ve yönetimin belirlenmesi gerekmektedir. Bunun için güvenilirliği kanıtlanmış pratik tanı testleri gerekmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar, enfeksiyonun tanımlanması için hangi tanı testinin kullanılacağına karar verirken göz önünde bulundurulması gereken çeşitli noktalar bulunmaktadır (Ashraf vd., 2017; Jones vd., 2019; Kock vd., 2018). İdeal bir tanı testine ait özellikler Şekil 1.3.’de gösterilmiştir.

- Geçerlilik: Tanınmış bir referans test ile karşılaştırmalı olarak, kullanımı hakkında hakemli yayınlanmış araştırmaları olan bir ürün seçilmelidir. Sonuçlar duyarlılık, özgüllük ve referans testle uyum düzeyini içermelidir.

- Spesifite ve Sensitivite: Veteriner hekim, yanlış negatif veya yanlış pozitif sonucun etkilerini göz önünde bulundurmalıdır. Bir inek tedavi edilebilecekken, sürüden çıkarılabilir yahut iyileşme olasılığı düşükken tedavi edilmesine karar verilebilir. Bu sistemlerin *Mycoplasma spp.* gibi hangi patojenleri tespit edemediğinin farkında olmak önemlidir.

- Kullanım kolaylığı: Açık talimatlara sahip ve kullanımı kolay bir ürün, standartlaştırılmış, tekrarlanabilir sonuçları daha iyi sağlayacaktır.

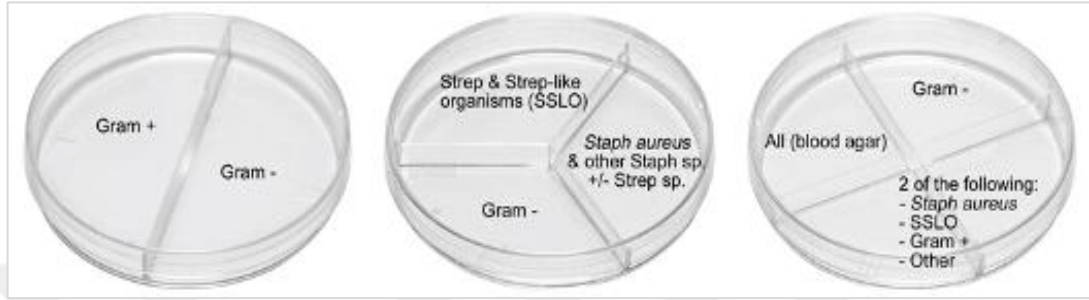
- Hız: Teşhise kadar geçen süre seçici tedaviler için önemlidir.

- Maliyet: Bireysel test başına ve gerekli kurulumun maliyeti ve pratikliği son kullanıcı için önemlidir (buzdolabı, inkübatör, raf alanı vb.).

- Kapasite: Bazı çiftlikler veya veteriner klinikleri bu sistemleri iyi kullanacak kapasiteye sahip olmayabilir. Sürekli eğitim ve kalite kontrolü bir gerekliliktir. Hızlı tanı kültür plakaları, eğitimsiz personel tarafından yanlış yorumlanabilir. Süt kalitesi mikrobiyolojisi ile ilgilenen veteriner hekimler bu alan da daha fazla eğitim ve bilgiye sahip olmalıdır.

1.3.2.2.1. Hızlı Kültür Plakaları

Hızlı kültür plakaları, daha fazla enzimatik teste (koagulaz, katalaz vb.) gerek kalmadan yaygın mastitis patojenlerini ayırt etmek için tasarlanmıştır. Bu sayede bakterilerin inkübasyonu ve tanımlanması çiftlikte veya bir veteriner kliniğinde gerçekleştirilebilir.



Şekil 1.3. Agarların 2,3 ve 4 sektörlü halleri (Dairy Australia Guide, 2020).

Bakterinin identifikasyonu genellikle 24 saat içinde mümkündür. Hızlı kültür plakaları seçici tedavi kararları vermek için kullanılabilir, örneğin üreme olmayan bir inek antibiyotik tedavisi almayabilir. Hızlı kültür plakaları ikili, üçlü veya dörtlü plakalardır. Yani, her biri farklı bir kültür ortamı içeren 2, 3 veya 4 sektöre sahiptirler (Şekil 1.5.). Hızlı kültür plakaları, enfeksiyonları üreme yok, Gram-pozitif veya Gram-negatif üreme gibi geniş teşhis kategorilerine sınıflandırmak için kullanıldığında en güvenilirdir. Bununla birlikte, bazı ürünler bazı patojenleri cins düzeyinde ve hatta tür düzeyine kadar (örneğin *S. aureus*, *E. coli*) tanımlayabilmektedir (Lago ve Godden, 2018).



Şekil 1.4. Hızlı test kitlerinin karakteristiği (Ashraf ve Imran, 2018).

Çizelge 1.2. Hızlı kültür plakalarında kullanılan agarlar (Dairy Australia Guide, 2020).

Agar	Açıklama
Kanlı Agar	En çok gelişen bakteriler için "kontrol" olarak kullanılır.
MacConkey agar	Gram-negatif bakterilerin üremesi ve koliformların tanımlanması için kullanılır.
Factor™ media	Sadece Gram-pozitif büyümeye izin verir.
Modifiye Edwards agar ve Focus™ media	<i>Streptococcus spp.</i> ve streptococcus benzeri organizmalar için seçicidir (SSLO).
Vogel Johnson veya modifiye mannitol salt agar	Özellikle <i>S. aureus</i> 'u tanımlar.
Kromojenik agarlar	Bunlar kromojenler içerir: hedef bakteriyel enzim için bir substrata bağlanmış renksiz kromoforlar. Kromojen hedef bakteriye girdiğinde, enzim onu parçalara ayırır. Kromofor renkli, çözünmeyen bir çökelti oluşturur.

Griffioen vd., (2018) dört ticari hızlı kültür plakasında bir laboratuvara gönderilen süt numunelerinin rutin bakteri kültürü ile ne kadar uyumlu olduğunu araştırmıştır. Bu çalışmada hem klinik hem subklinik hem de klinik olmayan süt numuneleri değerlendirilmiş ve genel olarak hızlı plakaların Gram-pozitif bakteriler için zayıf ila orta düzeyde ($\kappa = 0,14$ ila $0,25$) ve Gram-negatif bakteriler için iyi düzeyde (κ yaklaşık $0,70$, dört ürünün tümü için) uyumlu olduğu bulunmuştur. Üreme olmaması durumunda uyum orta düzeyde değerlendirilmiştir ($\kappa = 0,22$ ila $0,34$).

Ferreira vd., (2018) klinik olarak etkilenen çiftliklerden alınan süt numunelerini dört farklı hızlı kültür plakası sisteminde ve iki ek referans laboratuvarında analiz etmiştir. Örnek toplama ve plakaların yorumlanması eğitilmiş araştırma personeli tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada referans test, iki laboratuvarından gelen ortak sonuçlar olmuştur. İki yüz-on bir süt numunesinde, geniş Gram-pozitif ve Gram-negatif kategorileri için, farklı plakaların doğruluğu %73-90 arasında değişmiştir. Bu kategoriler için uyum gücü orta ile çok iyi arasında değişmektedir ($\kappa = 0,53$ ila $0,81$). Bakteriyel üremeyi cins ve türlere göre kategorize etme yeteneği, ticari plakalar arasında, referans test ile orta ila iyi uyum arasında değişmiştir ($\kappa = 0,45$ - $0,79$).

McDougall vd., (2018) klinik mastitis vakaları için seçici bir antibiyotik tedavi protokolü uygulaması için, çiftlik personeli tarafından hızlı bir kültür plakasının çiftlikte

kullanımının sonuçlarını laboratuvar tanımlamasıyla karşılaştırmıştır. Protokolde, çiftlikteki tedavileri belirlemek için tanı kategorileri kullanılmıştır (Gram-negatif, üreme yok, *S. aureus* ve "diğer" bakteriler). Çiftlik ve laboratuvar sonuçları arasındaki genel uyum 188/331 (%57; $\kappa=0,31$, zayıf) olmakla birlikte çiftlikler arasında %45 ila 88 arasında değişmiştir. Yazarlar, kategorizasyonun cins veya tür düzeyinde yapılması halinde çiftlik ve laboratuvar kültürü arasındaki uyum düzeyinin daha da düşük olacağını belirtmiştir.

Hızlı kültür plakalarının kullanımı klinik mastitisin seçici antibiyotik tedavisi için teşvik edilirken, veteriner hekimler ve yetiştiriciler bunları bir sürü mastitis probleminin tanısal çalışmasının bir parçası olarak kullanmayı da düşünebilirler. Bu durumda, bu plakların sağlayabileceği bilgilerin kalitesini göz önünde bulundurmak önemlidir, çünkü yukarıdaki çalışmalarda gösterildiği gibi, bu plakların bakterileri cins / tür seviyesine kadar tanımlama yeteneği önemli ölçüde değişmektedir. Sipka vd., (2019) eğitimli bir teknisyen ile ürün broşürlerini rehber olarak kullanan 5 veteriner hekimliği öğrencisi tarafından yorumlandığında, 3 farklı çiftlik kültürü plakası ile laboratuvar kültürü arasındaki uyumun sonuçlarını incelemiştir. Sonuçlar patojen grubuna ve ürüne göre değişmiştir. Eğitimli okuyucu, referans test ile orta ila çok iyi uyum göstererek tutarlı bir şekilde daha iyi performans sergilerken, veteriner fakültesi öğrencileri zayıf ila iyi uyum göstermiştir. Yazarlar, "kullanım kılavuzunun ötesinde eğitim" sağlamanın ve bu hızlı kültür sistemlerinin kalite kontrolünü sağlamanın önemli olduğunu belirtmiştir. McDougall vd., (2018) ayrıca hızlı kültür plakalarının çiftlikte uygulanmasındaki değişkenliğe ve personelin özel eğitimine ve sonuçların sürekli izlenmesine ihtiyaç duyulduğuna dikkat çekmiştir. Bu sistemleri tedarik etmeyi ve kullanmayı düşünen veteriner hekimler için mikrobiyoloji alanında sürekli eğitim gerektiği belirtilmiştir.

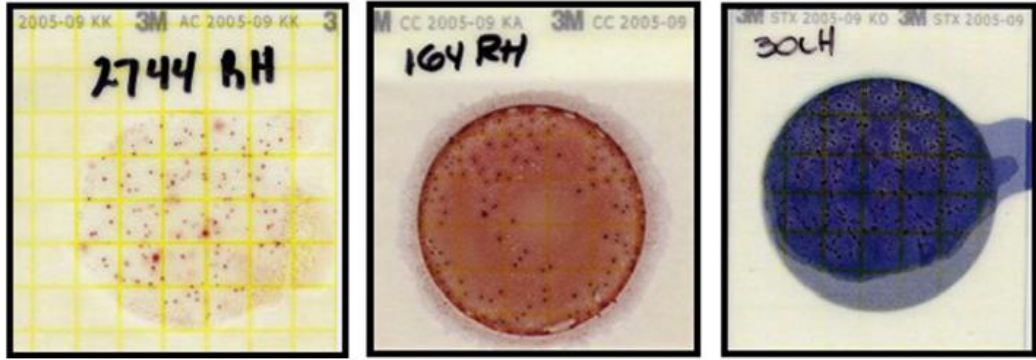
1.3.2.2.2. Petrifilm Sistemi

Petrifilm'ler gıda güvenliğinde yaygın olarak kullanılan araçlardır ve inek sütündeki bakteriyel enfeksiyonu değerlendirmenin bir yolu olarak uyarlanmıştır. İki Petrifilm kullanılmaktadır: Aerobik Sayım (AC)-Petrifilm™ ve Koliform Sayım (CC)-Petrifilm™. Petrifilm sisteminde süt seyreltilir ve iki ince film arasına yayılır, inkübe edilir ve 24 saat sonra bakteri sayısı sayılır (Dairy Australia Guide, 2020).

Silva vd., (2005) *S. aureus* teşhisinde Petrifilm Staph Express plakalarının etkinliğini değerlendirmiştir. Koloni sayısının sayımı ve bakteri kolonilerinin etrafındaki renk

yoğunluğunun yorumlanması okuyucular arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini ve bunun da değişken özgüllükle sonuçlandığını belirtmişlerdir. Yazarlar, tutarlı bir yorumlama elde etmek için standartlaştırılmış talimatlara sahip olunmasını tavsiye etmiş ve "mükemmel görsel yeteneklere ve renkleri ayırt etme becerisine" sahip kişilerin Petrifilmleri okumaktan sorumlu olmasını teşvik etmiştir.

McCarron vd., (2009) Petrifilm sisteminin klinik mastitisli süt örneklerini Gram-pozitif ve Gram-negatif kategorilerine ayırma performansını araştırmıştır. Test hassasiyetinin, bir vaka CC üzerinde ≥ 20 koloni varsa Gram-negatif olarak sınıflandırıldığında ve CC üzerinde < 20 koloni varsa ve AC üzerinde ≥ 5 koloni varsa Gram pozitif olarak sınıflandırıldığında en yüksek olduğunu bulmuşlardır.

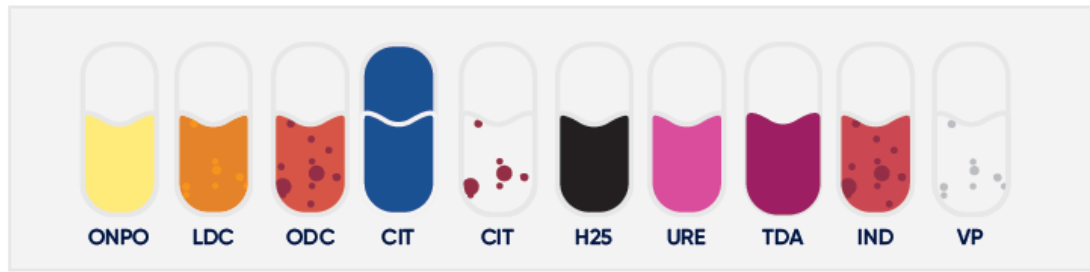


Şekil 1.5. 3M Petrifilm Sistem Plakaları (Lago ve Godden, 2018).

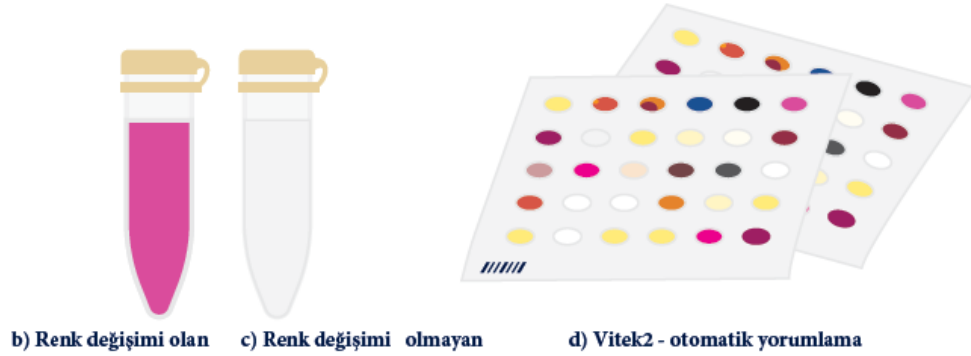
Mansion-de Vries vd., (2014) 616 klinik mastitisli süt örneğinde yaptıkları bir çalışmada Petrifilm™ ile çiftlikte yapılan analiz ile laboratuvar klasik kültürünü karşılaştırmıştır. Gram-pozitif, Gram-negatif ve üreme yok olmak üzere üç kategoriye ayrıldığında Petrifilm™ %71 doğruluk oranına sahip olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada bulunan temel tutarsızlık üreme olmaması durumunda yaşanmıştır. Laboratuvarda üreme olmayan 217 numunenin 128'inde (%59) çiftlikte bakteri tespit edilmiştir. Yazarlar, bakteri kültürüne kıyasla petrifilmlere ekilen süt hacminin daha fazla olmasının ve numunelerin laboratuvara taşınması için geçen sürenin tutarsızlığa katkıda bulunmuş olabileceğini öne sürmektedir.

1.3.2.2.2. Besi Yerlerindeki Renk Değişimleri Esaslı (Kolorimetrik) Testler

Mikrobiyologlar yıllar içinde, Analitik Profil İndeksi (API) stripleri gibi bakterilerin tanımlanmasını sağlayan biyokimyasal testlerin daha kolay ve daha hızlı tamamlanmasını sağlayan teknolojiler geliştirmişlerdir. *Enterobacteriaceae* ve diğer Gram-negatif çubukları ayırt eden API 20E şeridi buna bir örnektir. Dehidre substratlar içeren 20 mikrotübüle bir bakteri süspansiyonu ile ekilmektedir. İnkübasyon ve bakteriyel büyüme ve metabolizma sırasında ya kendiliğinden ya da reaktif ilavesiyle ortaya çıkan renk değişiklikleri meydana gelir. Çiftlik düzeyinde, renk değişimine dayalı birkaç ürün oluşturulmuştur (Dairy Australia Guide, 2020).



a) API şeritleri - manuel yorumlama



Şekil 1.6. a) API şeritlerinin manuel yorumlanması, Gram-pozitif koklar, koliform bakteriler ve üreme olmaması arasında ayırım yapabilen pembe test ortamı içeren 2 test tüpündeki renk değişikliğinin (b) renk değişikliği ve (c) renk değişimi olmayan gösterilmesi, d) Vitek2 yönetimiyle kolometrik olarak otomatik yorumlama (Dairy Australia Guide, 2020).

Leimbach ve Kromker (2018) bir çalışmada, çiftlikte tedavi kararları için bir test tüpü sisteminin etkisini incelemiştir. Sistem, Gram-pozitif koklar, koliform bakteriler ve üreme olmaması arasında ayırım yapabilen pembe test ortamı içeren 2 test tüpünden oluşmaktadır. 100µL numune ile aşılama ve 37°C’de belirli bir süre inkübasyondan sonra test ortamında gözle görülür bir renk değişikliği pozitif reaksiyon olarak kabul edilir. Her iki test tüpünde de renk değişimi olması Gram-pozitif kok üremesini, sadece ilk tüpte renk değişimi olması koliform bakteri üremesini, renk değişimi olmaması ise mikrobiyolojik üreme olmadığını göstermektedir, yapılan bu çalışmada bazı mikroorganizmalar (örneğin mayalar, *Prototheca*

spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. veya *Trueperella pyogenes*) sistemde üreyemez ve test yanlış negatif sonuç verir. 37°C’de 14 saatlik inkübasyondan sonra tüp testi sonucunun değerlendirilmesi, farklı kategoriler için %71-84 sensitivite ve %83-94 spesifite (genel tüp testi duyarlılığı = %81; özgüllük = %71) ile sonuçlanmıştır.

Jones vd., (2019) klinik mastitisli ineklerden alınan 292 süt numunesi üzerinde otomatik bir kolorimetrik sistemin performansını değerlendirmiştir. Test sistemi, süt numunesinin eklendiği kolorimetrik ortam içeren altı kuyudan oluşmaktadır. 24 saatlik inkübasyondan sonra, renk değişikliklerinin kombinasyonunun bilgisayar analizinde, büyümeyi koliform, *S. uberis*, *S. aureus*, KNS, "diğer" Gram-pozitif bakteriler olarak sınıflandırır veya büyüme olmadığı şekilde yorumlanır.

1.3.2.3. PCR Bazlı Metodlar

PCR, çeşitli mastitis patojenlerinin tespiti için bakteriyel kültür yöntemine kıyasla daha hassas, hızlı ve güvenilirdir (Cantekin vd., 2015). Multipleks PCR, gerçek zamanlı PCR ve LAMP gibi çeşitli uzantılarıyla birlikte PCR teknolojisinin ortaya çıkışı, teşhisin hızını ve hassasiyetini artırmıştır. Bu DNA tabanlı teşhis yöntemleri, süt çiftliklerinin daha iyi yönetilmesine büyük ölçüde yardımcı olmuştur (Lui vd., 2009).

Bazı mastitis patojenleri bakteri kültüründe üremez veya yavaş büyüme hızları nedeniyle tespit edilmeleri zordur. PCR testleri, patojeni yüksek özgüllükle hızlı bir şekilde tespit ederek bu tür sorunların üstesinden gelmede oldukça popülerdir. Böyle bir çalışma 3 *Mycoplasma* türünü gerçek zamanlı PCR testiyle tespit etmek için yapılmıştır. PCR elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi, süt örneklerinden inek mastitis patojenleri için bir teşhis aracı olarak kullanılmıştır. Sadece bakteri türlerini değil, mayaları, küfleri, parazitleri ve virüsleri de tespit edebilir ve karışık kültürde kullanılabilir. Yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahiptir ancak rutin bir tanı aracı olarak kullanımı oldukça maliyetlidir (Boonyayatra vd., 2012; Perreten vd., 2013).

Floresan in-situ hibridizasyon (FISH), mastitis patojenlerinin tespiti için test edilen kültürden bağımsız bir başka yöntemdir. Daha az zaman alıcı ve güvenilirdir, ancak sonuçları elde etmek için bir ön işlem adımı gerekmesi ve yüksek tespit limiti gibi bazı sınırlamalar nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır (Gey vd., 2013).

Döngü aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP), ilk olarak Notomi vd., (2000) tarafından sunulan bir başka teknolojidir. Son birkaç yılda, teşhis alanında çok popülerlik kazanmıştır. Oldukça hızlı, ekonomik, hassas ve spesifik bir yöntem olup, birkaç değişiklikle saha testi olarak kullanılma potansiyeline sahiptir (Lee, 2017). Bu polimeraz varlığında izotermal koşullarda DNA'nın iplikçik yer değiştirme aktivitesine dayanır. Daha sonraki amplifikasyon için şablon görevi gören dambıl şeklinde yapılar üretir. Sonuç olarak, agaroz jel üzerinde görselleştirildiğinde, merdiven benzeri bir desen veren çeşitli uzunluklarda kök halka DNA üretilir. Sonuçlar SYBR yeşili gibi bir boya eklenerek doğrudan görselleştirilebilir: bir LAMP yan ürünü olan magnezyum pirofosfatın varlığına bağlı renk değişikliği numunenin pozitif olduğunu gösterir (Notomi vd., 2000).

1.3.2.4. Prob Tabanlı ve Nanopartikül Tabanlı Analiz

Özellikle bulaşıcı hastalıkların nanoteknoloji tabanlı teşhisi son birkaç yıldır büyük ilgi görmektedir. Nanoteknoloji tabanlı biyosensörler, "çip üzerinde" bir laboratuvara sahip olma kavramını ortaya çıkarmıştır ve patojenlerin hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlayabilir (Driskell ve Tripp, 2009).

Üç boyutlu nitroselüloz membranlarda mikroyarray teşhisi, mastitis teşhisi için kullanılmıştır, bu çalışmada kullanılan bir biyoçip, bir mürekkep püskürtmeli yazıcıya ve nitroselüloz membran kaplı slaytlar üzerinde immobilize edilmiş bir dizi etikete özgü antikora sahiptir. Siyah karbon nanopartiküller ve bir füzyon proteini kullanılarak ikincil sinyal için bir konjugat hazırlanmıştır. Lekelerin siyahlığı düz yatak taramasıyla belirlenebilir; ancak çıplak gözle kolayca okunabilir. Bu biyoçip tabanlı test, dört mastitis patojenini 3 saatten daha kısa bir sürede tespit etme yeteneğine sahiptir (Mujawar vd., 2013).

Hedef bakterileri spesifik olarak yakalama yeteneğine sahip ve çip üzerinde elde edilen desen okunabilir olan oligonükleotid prob tabanlı bir biyoçip geliştirilmiştir. Yedi önemli bakteriyel mastitis patojeninin tespiti için özgüllüğü ve etkinliği test edilmiştir. Böyle bir biyoçipin dezavantajları, iyi donanımlı bir moleküler biyoloji laboratuvarına ve eğitimli personele ihtiyaç duymasındır, ancak bu, süt çiftçileri tarafından rutin kullanım için uygun değildir (Lee vd., 2008).

1.3.2.5. Protein Bazlı Teşhisler

Proteinlerdeki veya organizmanın ya da biyolojik sıvının proteomik yapısındaki herhangi bir değişikliğin hastalıklı veya anormal bir durumun göstergesi olduğu ilkesine dayanır. İki boyutlu jel elektroforezi ve kütle spektroskopisi en yaygın kullanılan yöntemlerdir. İnflamasyon sırasında belirli polipeptitler salınır. Bir tür inflamatuvar protein olan katelisinler, başlangıçtan veya diğer fiziksel semptomlardan önce meme bezlerinde salınır. Katelisinlerin ELISA tabanlı tespiti, doğruluğu ve özgüllüğü açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar yüksek SHS'li örneklerle karşılaştırılmıştır: yüksek derecede bir ilişki bulunmuştur (Addis vd., 2016).

Bazı çalışmalar, hızlı ve doğru tedavi için patojen grubunu genel olarak tanımlamak üzere planlanmıştır. Bu yaklaşımlardan biri, Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri ayırt edebilen akış sitometrisine dayanmaktadır (Langerhuus vd., 2012).

1.3.2.6. Proteomik Yaklaşımlar

Proteomik yaklaşımın süt hayvanlarında mastitisin teşhisi, tahmini ve önlenmesi ile kalitenin standardize edilmesinde oldukça faydalı olduğu kanıtlanmıştır. Bu yöntem, mastitis değerlendirmesinde daha önce kullanılan birçok benzer yaklaşımı doğrulamanın yanı sıra mastitis biyobelirteçlerinin tanımlanmasını da kolaylaştırmaktadır (Abdelmegid vd., 2017).

İneklerde subklinik mastitiste SHS ile birlikte bakteri kültürünün yapılması gereklidir. Tanıda hassasiyeti ve özgüllüğü artırmak için, *S. aureus* 'un neden olduğu subklinik mastitis durumunda varsayılan biyobelirteçler olarak hareket eden süt proteinleri proteomiks yoluyla tanımlanmaktadır. Proteomik ve MALDI-TOF temelli bir çalışma, sağlıklı ineklerden elde edilen b 1,4 galaktoziltransferaz, b2-mikroglobulin, kompleman 3, a1-asit glikoprotein, b-laktoglobulin A, a-S1 kazein öncüsü ve b-kazein B gibi peynir altı suyu proteinlerinin subklinik mastitisli ineklerden farklı olduğunu ortaya koymuştur. Mastitisin subklinik aşamasında peynir altı suyunda bulunan protein belirteçlerinin karşılaştırmalı proteomiks yoluyla teşhis adayı olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Bian vd., 2014).

1.3.2.7. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyonu (MALDI)

Kütle spektroskopisi prensibine dayanan MALDI-TOF MS, bakteri türlerinin yanı sıra suşların veya proteinlerinin dakikalar içinde belirlenmesi için kullanılmaktadır. Popüler proteomik yaklaşımlar arasında MALDI-TOF, inek mastitisinden geri kazanılan *S. aureus* izolatlarının yüzeyle ilişkili proteinlerinin tanınması ve haritalanması için kullanılmıştır. İnek mastitis vakalarından elde edilen *S. aureus* protein ekstraktları lizostafin ile muamele edilmiş ve tanı için patojenik bakterilerin spesifik özelliklerini bilmek amacıyla 2D-GE tekniği ile yüzey proteinlerinin referans haritasını hazırlamak için kullanılmıştır (Ashraf ve Imran, 2018).

MALDI-TOF hem kültür hem de kültür olmayan, süt veya süt olmayan örneklerde kullanılabilir; ancak MALDI-TOF'un doğrudan süt üzerinde kullanılması, bakteri konsantrasyonu yüksek olmadığı sürece daha az güvenilir görünmektedir. Bakteriye türlerin ve suşların tanımlanması için %100 özgüllük ve hassasiyete sahip olmasına rağmen, bakteriyel protein profil spektrumlarının tanımlanması sınırlıdır (Duarte vd., 2015).

1.4. Mastitiste Etken Bilmek Neden Önemlidir?

Antibiyotik direnci toplumda çok tartışılan bir konudur. İnek mastitisinin kontrolü için antimikrobiyallerin aşırı ve irrasyonel kullanımı, uzun yıllardır tüm dünyada çalışma konusu olmuştur. Günümüzde, çiftlik hayvanlarında antimikrobiyallerin kullanımı "Tek Sağlık" yaklaşımı açısından büyük ilgi görmektedir. Bilimsel araştırmalar, antimikrobiyallerin üretimde uygunsuz kullanımının nedenlerinin insan davranışları, politik, ticari ve ekonomik faktörlerle ilgili olduğunu ortaya koymuştur (Richard vd., 2023).

Hayvancılıkta antibiyotik kullanımına eleştirel bir gözle bakılmaktadır. Sonuç olarak, Avrupa Komisyonu 2015 yılında veteriner hekimlikte antimikrobiyal ajanların ihtiyatlı kullanımı için kılavuzlar yayınlamıştır (EU 2015/C 299/04). Bu nedenle, gelecekte ineklerin tedavisi için alternatif yaklaşımlar gereklidir. Komisyon, antibiyotiklerin sınırlı bir şekilde kullanılmasını ve sadece hayvanı korumak için gerekli olan açık endikasyon ve tedavi için uygulanmasını tavsiye etmektedir (Kock vd., 2018). Buna ek olarak, komisyon klinik mastitis tedavisinden önce hızlı testlerin kullanılması çağrısında bulunmaktadır, çünkü meme içi antibiyotiklerin ileriye dönük sorumlu kullanımı kültürel sonuçlara dayanmalıdır (Roberson, 2003).

Özellikle, süt endüstrisinde en sık görülen hastalık olan mastitisin tedavisi, yüksek antibiyotik kullanımına neden olmaktadır. Tedavi kararları verilmeden önce mastitis patojenlerini patojen sınıflarına (Gram-pozitif, Gram-negatif, bakteri üremesi yok) atamak için çiftlikte bir test uygulamak, kanıta dayalı bir mastitis tedavisi konseptinin temelini oluşturur. (Kock vd., 2018).

Kültüre dayalı tedavide, özellikle süt işletmeleri için lojistik bir zorluk oluşturmıştır. Birçok işletme, süt kültür sonuçlarını zamanında almak için gerekli mekanizmalara sahip değildir. Ancak laboratuvar hizmeti olmadığında veya veteriner hekim kültürleme yapmadığında, kültürleme işlemi çiftlikte gerçekleştirilebilir. Virginia’da yapılan bir çalışmada, kültüre dayalı tedavi iki sürüde denenmiştir. Bir sürüde, kültürlerin okunması ve yardım eksikliği nedeniyle prosedür başarısız olmuştur. Diğer sürüde ise program oldukça başarılı olmuştur. Bu sürüde, kültüre dayalı tedaviye başlandığında sürünün ortalama somatik hücre sayısı (SHS) 300.000 ila 400.000 hücre/ml arasında bulunmuştur ve takip eden 2 yıl boyunca sürü ortalaması 107.000 hücre/ml’ye düşmüştür. Klinik mastitis için antibiyotik tedavisi yaklaşık yarı yarıya azalmış ve çiftlikte kültüre dayalı tedavi uygulanabilirliği ve faydaları gösterilmiştir. Kültür sonuçları, tedavi etkenlerini belirlemeye ve salgın durumunda yönetim düzeltmelerini yapmaya yardımcı olacaktır. Kültür sonuçlarını takip etmek, şiddetli klinik mastitis tedavilerinin etkinliğini değerlendirmek için nadiren kullanılan faydalı bir yöntemdir (Roberson, 2007).

Yapılan bazı çalışmalarda Gram-negatif patojenlerin, özellikle de *E. coli* ‘nin neden olduğu hafif ve orta dereceli klinik mastitis vakaları için yüksek spontan iyileşme oranı göstermiştir. Dolayısıyla, enfekte meme olsun ya da olmasın anormal sütün yapısının bozulduğunu gösteren klinik mastitis vakaları, Gram-negatif patojenlerden kaynaklanıyorsa antibiyotik tedavisinden fayda sağlamamaktadır (Roberson, 2012). Ancak, *S. agalactiae* ve çevresel streptokok türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar için antibiyotik tedavisi önerilmektedir (Lago ve Godden, 2018; Roberson, 2012). Stafilokok kaynaklı mastitis vakalarının yönetimi ise duruma bağlı olarak değişebilir. İleri vakalarda meme içi antibiyotik tedavisi denenebilirken, kronik vakalar için farklı stratejiler kullanılarak yönetim sağlanabilir. Klinik mastitis tedavisi, enfeksiyonun nedenini belirlemeye dayanmalıdır. Ancak birçok süt işletmesi, laboratuvar kültürünün zaman alıcı olmasından dolayı rutin olarak kullanmamaktadır. Bu nedenle, daha hızlı laboratuvar sonuçlarının veya çiftlikte hızlı süt kültürü (OFC) sistemlerinin kullanılması, üreticilerin tedavi kararlarını etkili bir şekilde

verebilmesine yardımcı olabilir. Dünya genelinde birçok farklı hızlı kültür sistemi bulunmaktadır (Lago ve Godden, 2018).

Neeser vd., (2006) yaptıkları bir çalışmada mastitisli inekleri tedavi etmek için antimikrobiyal kullanmaktansa hedeflenen patojene yönelik olarak antimikrobiyal tedavinin tercih edilmesini savunmuştur. Bu da bazı mastitis türlerinin tedavisinde antimikrobiyal kullanılmama tercihinin olduğunu göstermektedir. Araştırma sonuçları, birçok çiftliğin çiftlik içi bakteriyolojik kültür sistemi kullandığını ve herhangi bir üreme veya Gram-negatif bakteri tespit edilmeyen mastitisli ineklerin tedavisinde antimikrobiyal kullanmaktan kaçındığını göstermiştir. Ancak, katılımcıların çoğu, Gram-pozitif patojenlerin neden olduğu mastitisli ineklerin tedavisinde antimikrobiyal kullanmayı sürdürmektedir. Bu bulgular, tedavi seçimleri ve antimikrobiyal kullanımı konusunda çiftlik içi bakteriyolojik kültür sistemlerinin etkisini göstermektedir. Aynı çalışmada, antimikrobiyal tedavinin geciktirilmesi durumunda olumsuz etkilere neden olabileceği ve tedavi kararlarının bakteriyolojik kültür sonuçlarına dayanarak belirlendiği belirtilmektedir. Araştırmanın sonuçlarına göre, tedaviyi 24 saat geciktiren bir protokol ve mastitis tespit edildiğinde hemen tedavi uygulayan bir protokol arasında seçim yapıldığı görülmüştür. Ancak, tedavi sonuçlarının değerlendirilmediği için bir protokolün kullanımının faydaları belirlenememiştir. Gecikmiş tedavinin mastitis sonuçları üzerindeki tam etkisinin daha fazla araştırma yapılarak incelenmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

Danimarka'da yapılan bir çalışmanın sonuçları, üreticilerin antimikrobiyal kullanıp kullanmayacaklarına karar verirken ineğin klinik bulguları ile ekonomik faktörler arasında denge kurduklarını göstermektedir. Üreticiler, mastitise neden olan patojen türünü tahmin edebileceklerini düşündükleri için her inekten numune almadıklarını belirtmiştir (Vaarst vd., 2002). Ancak İskoçya'da yapılan bir çalışmada, bu yöntemin teşhis için doğru olmadığını ortaya koymuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre, benzer vakalarda etken patojeni tahmin etme duyarlılığı %28, özgüllüğü ise %96 olarak bulunmuştur. Üreticilerin sadece klinik belirtilere dayanarak doğru sonuç elde etme becerileri, mastitis etkenlerinin sıkça tanımlandığı çiftliklerde bile gerçek bir bakteriyolojik kültür kadar doğru olamamaktadır. Bu nedenle veteriner hekimler, çiftlik içinde bakteriyolojik kültür sistemini etkin bir şekilde kullanabilmek için üreticilerle yakın çalışma içinde olmalı ve bu engeli aşmaya çalışmalıdır (Neeser vd., 2006).

Gram-pozitif bakterilerin neden olduğu mastitisin antimikrobiyal tedavisinin faydalı olup olmadığı konusunda çok az tartışma olmasına rağmen (Cattell vd., 2001; Roberson vd.,

2003), Gram-negatif patojenlerin neden olduğu mastitisli ineklerin antimikrobiyal tedaviden fayda sağlayıp sağlamadığı konusunda bazı bilimsel tartışmalar vardır. Bazı çalışmaların (Jones ve Ward, 1990; Roberson vd., 2003), sonuçları Gram-negatif patojenler için antimikrobiyal kullanımının faydalı olmadığını gösterirken, diğeri bir çalışmanın (Morin vd., 1992) sonuçları bazı antimikrobiyallerin kullanımının faydalı olabileceğini göstermektedir. Bu tartışma nedeniyle, tek bir çiftlikte antimikrobiyal tedavi seçimlerini yönlendirmek için çiftlik içi bakteriyolojik kültür sisteminin kullanılmasının genel faydaları, Gram-negatif patojenlerin neden olduğu mastitisin tedavisi için yalnızca bilimsel olarak kanıtlanmış yöntemlerden ziyade, veteriner hekimin veya üreticinin o çiftlikteki tedavi sonuçlarını yorumlamasına da bağlı olabilir. Gram-negatif enfeksiyonların antimikrobiyallerle tedavisinin etkinliğini daha iyi tanımlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Neeser vd., 2006).

Gram negatif mastitis vakalarına herhangi bir antibiyotik tedavisi verilmediği bir tedavi konsepti, herhangi bir patojen kanıtı olmayan vakalara benzer şekilde, tüm vakaların antimikrobiyal ürünlerle tedavi edildiği bir tedaviden iyileşme oranları açısından farklılık göstermemiştir. Bu durum, Roberson'ın lokal antibiyotik kullanımının Gram pozitif test sonucu olan klinik mastitis vakalarıyla sınırlı olduğu yönündeki ifadesini doğrulamaktadır. Dolayısıyla, Gram-negatif ve Gram-pozitif etiyolojiler arasında ayırım yapmak, seçici tedavi uygulandığında antibiyotik kullanımını azaltabilir (Lago vd., 2011).

Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılarak, saha koşullarında mastitislerin hızlı teşhisine ve tedavi başarısına katkı sağlamaktır.

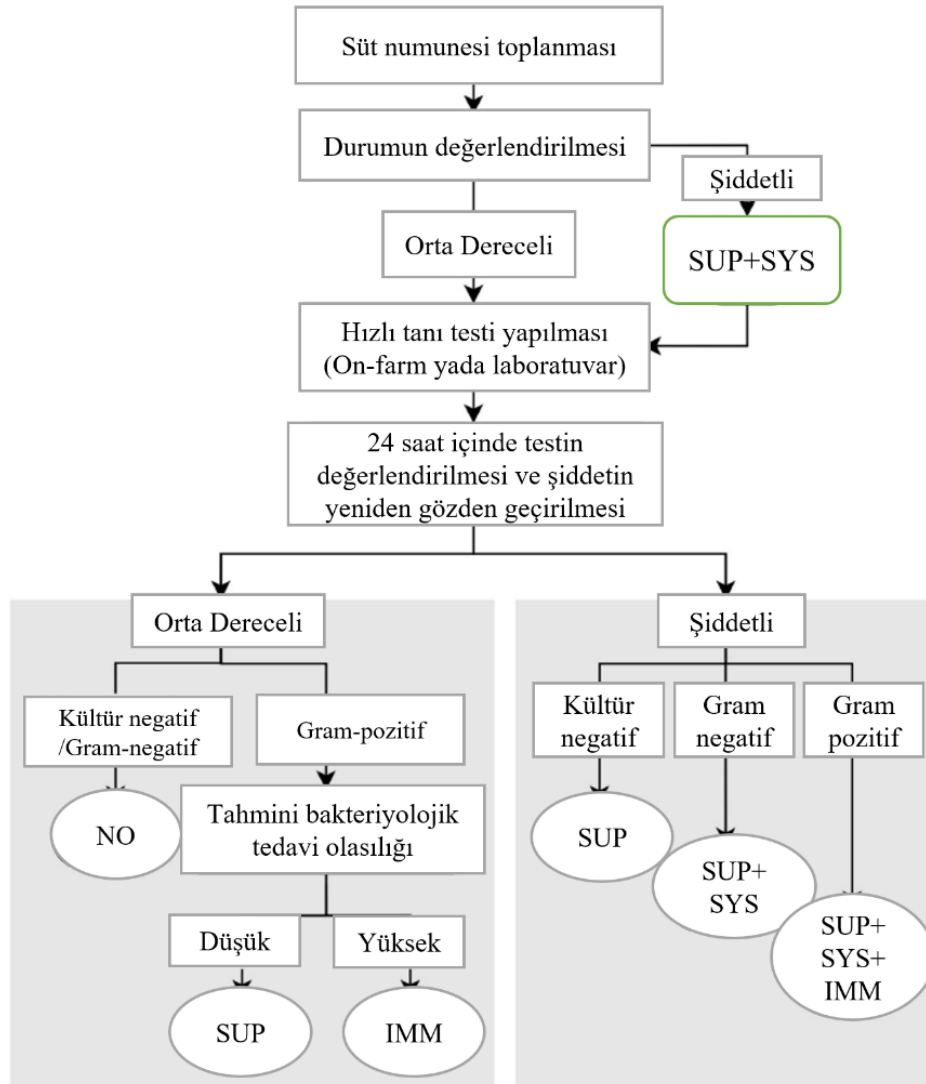
Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılarak, saha koşullarında mastitislerin hızlı teşhisine ve tedavi başarısına katkı sağlamaktır.

Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılarak, saha koşullarında mastitislerin hızlı teşhisine ve tedavi başarısına katkı sağlamaktır.

Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılarak, saha koşullarında mastitislerin hızlı teşhisine ve tedavi başarısına katkı sağlamaktır.

Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılarak, saha koşullarında mastitislerin hızlı teşhisine ve tedavi başarısına katkı sağlamaktır.





Şekil 1.7. Mevcut literatürün gözden geçirilmesine dayalı olarak klinik mastitin seçici tedavisi için önerilen protokol. Gram-negatif vakaların *Escherichia coli* dışındaki patojenlerden (*Klebsiella spp.* gibi) kaynaklandığı çiftliklerin, *Klebsiella spp.* için antimikrobiyal tedavinin değerlendirilmesini sağlamak üzere türe özgü bir tanı testi kullanmaları önerilir. Gram pozitif vakalarda bakteriyolojik tedavi olasılığını tahmin etmek için çiftliklerin klinik mastitis geçmişi ve son SHS kayıtlarını gözden geçirmeleri önerilir. SUP = nonsteroid antiinflatuvar ilaçlarla destekleyici tedavi; SYS = sistemik antimikrobiyalleri düşünün; NO = antimikrobiyal yok; IMM = meme içi antimikrobiyaller (Jong vd., 2023).

Bu tezin amacı Speed Mam Color™ Testi'nin tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivitesinin hesaplanması ile vefikasyonu sonucunda elde edilen sonuçların konvansiyonel yöntem ile karşılaştırılmasıdır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Süt Örnekleri

Çalışma kapsamında tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivite çalışmalarında kullanılmak üzere anamnezi alınmış sağlıklı sürülerden; en az bir kez doğum yapmış, laktasyonun 5. ve 200. günleri arasında, sağlıklı ve klinik herhangi bir belirti göstermeyen, sistemik bir hastalığı olmadığı bilinen, memesinde anomali bulunmayan, 15 gün öncesine kadar antibiyotik tedavisi ve non-steroid antienflamatuvar bir ilaç uygulanmamış, ineklerden NMC (2017) önerdiği şekilde toplanmış sütler kullanıldı (31.03.2021 tarih ve 2021-7-40 sayılı Etik Kurul Kararı).

Çalışmanın diğer aşaması olan testin doğrulanması amacıyla, anamnezi alınmış farklı sağlıklı sürülerden; en az bir kez doğum yapmış, laktasyonun 5. ve 200. günleri arasında, memesinde anomali bulunmayan, 15 gün öncesine kadar antibiyotik tedavisi uygulanmamış, bir örnek beslenen, mastitisli ineklerden 318 süt numunesi toplandı.

2.1.2. Referans Bakteri Suşları

Tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivite çalışmalarında kullanılmak üzere Speed Mam Color test kitinde yer alan bakteri türleri ile aynı olan *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus uberis* ATCC, 700407 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşları referans olarak kullanıldı.

2.1.3. Besiyeri

Etken izolasyonu ve bakteri teşhisi amacıyla %5'lik koyun kanlı agar (Merck, Almanya), *MacConkey* agar (Merck, Almanya), Eosin Methylene Blue agar (Merck, Almanya) ve *Nutrient Broth* (Merck, Almanya) kullanıldı.

2.1.4. Hızlı Tanı Kiti

Çalışmada, hızlı tanı kiti olarak 558 adet Speed Mam Color™ (Virbac, Fransa) kullanıldı. Speed Mam Color™ test kiti patojen bakterilerin teşhisi için 8 adet, kontrol için ise 2 adet kontrol bölmesi içermektedir. Bir kutu içeriğinde 5 adet test, bir şişe büyütme vasatı, bir şişe *Staphylococcus* büyütme vasatı, bir şişe parafin yağı, bir pipet, bir test tutucu, bir sonuç sayfası bulunmaktadır. Test kitleri çalışma boyunca kullanılıncaya kadar +2°C ile +8°C arasında muhafaza edildi.

2.1.5. Kullanılan Diğer Malzemeler

Tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivite çalışmalarında kullanılmak üzere süt numunelerinin toplanması için önceden otoklavda sterilize edilmiş 1 L'lik cam şişeler kullanıldı.

Verifikasyon çalışmalarında kullanılan mastitisli süt numunelerinin toplanması için 15 ml steril plastik tüpler kullanıldı. Tüm laboratuvar basamaklarında tek kullanımlık steril özeler ve plastik pipetler tercih edildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Süt Örneklerinin Alınması

Tespit limitinin belirlenmesi, spesifite ve sensitivite çalışmaları ve verifikasyonda kullanılacak süt numunelerinin toplanması için belirlenen çiftliklerden sabah sağımından hemen önce inekler sağımhaneye alındıktan sonra ön sütün muayenesi yapıldı.

Ön süt muayenesinde fiziksel değişiklik (renk değişikliği, pıhtı, flakon) bulunmayan ineklerin 4 meme lobuna CMT testi uygulanmadan hemen önce birkaç sıkımlık süt atıldı ve ardından CMT testi uygulanmaya başlandı.

CMT için 4 bölmesi bulanan özel üretilmiş kaplar kullanıldı ve bu bölmeler A, B, C, D olarak ineğin 4 meme lobunu temsil edecek şekilde kullanıldı. A, sağ ön meme lobunu; B, sağ arka meme lobunu; C, sol ön meme lobunu; D, sol arka meme lobunu gösterecek şekilde tutularak CMT kabına eşit miktarda süt numunesi alındı. Daha sonra süt ile eşit miktarda CMT

solüsyonu her bölüme eklendi. Dairesel hareketler halinde solüsyon ile sütün etkileşime girmesi sağlandı. Daha sonra kapta oluşan jel kıvamına göre CMT sonuçları hep aynı kişi tarafından CMT skorlamasına göre değerlendirildi.

CMT skoru pozitif olan meme lobları belirlenerek, National Mastitis Council (2017) tarafından belirtilen şekilde, meme başına ön daldırma solüsyonu uygulandı. 30 saniye bekledikten sonra tek kullanımlık havlu ile temizlendi. Asepsi işlemine uzak meme lobundan başlandı. Temizlemiş her meme başının ucu ayrı ayrı %70'lik alkol emdirilmiş pamuk ile silindikten ve kuruduktan sonra daha önceden ineğe ait bilgilerin yazılı olduğu 15 ml'lik steril, ağzı kapaklı tüpler meme başına göre 45° açı ile tutularak bir tanesi Speed Mam Color'a ekim yapmak için diğeri ise bakteriyolojik kültür için her meme başından 10 ml'lik 2 ayrı süt numunesi alındı. Toplanan süt örnekleri soğuk zincirde ve en kısa sürede bakteriyolojik muayene için A. Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı rutin laboratuvarına ulaştırıldı.

2.2.2. Tespit Limitinin Belirlenmesi

Tespit limitinin belirlenmesine yönelik toplanan sütler bakteriyolojik kültür yöntemiyle kontrol edilmek için %5-7 koyun kanlı agar ekilerek 24-48 saat 37°C'de aerobik koşullarda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreme gözlenmeyen sütler "sağlıklı süt" olarak tanımlandı.

Referans suşların her biri (*E. coli* ATCC 25922, *S. uberis* ATCC 700407, *S. aureus* ATCC 25923) %1 inek serumu ilave edilmiş nutrient broth içerisine ayrı ayrı pasajlanarak 24-48 saat 37°C'de aerobik koşullarda inkübe edilerek ve inkübasyon sonunda konsantrasyonları *McFarland* 0.5'e göre ayarlanarak suşlar yine aynı besi yeri içerisinde 10 katlı dilüe edildi.

Elde edilen her bir bakteri dilüsyonundan 1'er ml alınarak önceden porsiyonlanan 9'ar ml'lik 7 tüp sağlıklı süt içerisine inokule edilerek, sütler kısa vortekslendikten sonra her suşun her dilüsyonundan örnekler alınarak hızlı test kiti ile test edildi. Test kiti ile pozitif sonuç alınan en düşük konsantrasyon kitin deteksiyon limiti olarak belirlendi.

Dilüsyon oranlarının kontrolü için test kitine paralel olarak her bir bakteri dilüsyonundan 0.1 ml alınarak %5-7 koyun kanlı agar üzerine yayma ekim yapıldı ve 24-48

saat 37°C’de aerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 10 katlı azalan bakteri üremelerinin gözlenmesi dilüsyonun doğru şekilde yapıldığını gösterdi.

2.2.3. Spesifite ve Sensitivite Belirlenmesi

Duyarlılık ve özgüllüğün belirlenmesi amacıyla her bir hedef için (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Streptococcus uberis* ve *Escherichia coli*) 50’şer tane sağlıklı süt numunesi alınarak bunların 25’er tanesi yapay yolla kontamine edildi. Bu amaçla, her hedef bakteri suşun referans suşu, kültür yöntemiyle nutrient broth sıvı besi yerinde üretilerek konsantrasyonları *McFarland* 0,5’e göre ayarlandı. Daha sonra her referans suşun, Speed Mam Color TM prospektüsünde belirtilen tespit limitinin üzerinde olmak üzere farklı konsantrasyonları ($>10^3$ CFU/ml) sağlıklı süt içeren 5 tüpte sulandırılarak ayarlandı. Her hedef için elde edilen farklı konsantrasyondaki bu tüplerden 1’er ml alınarak 4 ml sağlıklı süt içeren 25 adet tüpe rastgele dağıtıldı. Bu sayede her hedef için elde edilen 25 kontamine 25 sağlıklı süt numunesi (toplam: 50) Speed Mam Color TM ile test edildi. Duyarlılık ve özgüllük Çizelge 2.2.’de gösterilen sonuçlar kullanılarak hesaplandı.

Çizelge 2.1. Spesifite ve sensitivitenin hesaplanması tablosu

Mastitise Neden Olan Etkenin Teşhisinde Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması		Mikrobiyolojik Kültür (bir hastalıktan kaynaklanan kabul edilebilir referans "altın standart" testi)	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Hızlı Tanı Kiti (Speed Mam Color TM)	Pozitif(P)	Gerçek Pozitif (TP)	Yanlış Pozitif (FP)
	Negatif (N)	Yanlış Negatif (FN)	Gerçek Negatif (TN)

2.2.3.1. Spesifite Hesaplanması

Spesifite bir testin enfekte olmayan hayvanları doğru şekilde teşhis etme yeteneğidir. Her bir hedef için Speed Mam Color TM spesifitesi Çizelge 2.2.’deki sonuçlar kullanılarak $TN/(TN+FP)$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.3.2. Sensitivite Hesaplanması

Sensitivite bir testin enfekte hayvanları doğru şekilde teşhis etme yeteneğidir. Her bir hedef için Speed Mam Color TM sensitivitesi Çizelge 2.2.'deki sonuçlar kullanılarak $TP/(TP+FN)$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.3.3. Pozitif Prediktif Değer Hesaplanması (PPV)

Pozitif bir testin gerçekten pozitif olma olasılığıdır. Her bir hedef için Speed Mam Color TM pozitif prediktif değeri Çizelge 2.2.'deki sonuçlar kullanılarak $TP/(TP + FP)$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.3.4. Negatif Prediktif Değer Hesaplanması (NPV)

Negatif bir testin gerçekten negatif olma olasılığıdır. Her bir hedef için Speed Mam Color TM negatif prediktif değeri Çizelge 2.2.'deki sonuçlar kullanılarak $TN/(TN + FN)$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.3.5. Kesinlik Hesaplanması (Ac)

Kesinlik, bir ölçümün yinelenebilirliğine olan eğilimidir. Her bir hedef için Speed Mam Color TM için kesinlik Çizelge 2.2.'deki sonuçlar kullanılarak $(TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.4. Testin Doğrulaması (Verifikasyon)

Speed Mam Color TM testinin doğrulaması amacıyla toplanan 318 adet CMT pozitif mastitisli süt numunesi karşılaştırmada kullanılmak üzere altın standart yöntem olarak kabul edilen mikrobiyolojik kültür yöntemiyle kontrol edildi.

2.2.4.1. Speed Mam Color TM ile Süt Örneklerinin Test Edilmesi

Teste başlamadan önce, süt örneğinin 30 dakika oda sıcaklığına gelmesine izin verildi. Kullanımdan hemen önce ambalajından çıkartılan testin üzerine hayvanın adı ve test tarihi yazıldı. Testi kaplayan yapışkan etiketi üzerinden çıkarıldı. Etiketın uzun kenarı testin uzun

kenarı boyunca yapıştırıldı. Tüm bölmelerin/kutucukların hangi hedef bakteriye karşılık geldiği belirlendi. Süt numunesi, paketten çıkan pipet kullanılarak kitin içinden çıkan büyüme vasatı şişesine 3 damla olacak şekilde eklendi. Ardından şişe yavaşça ters çevrilerek homojenize edildi. Süt eklenmiş büyüme vasatı şişesinin damlalığı kullanılarak testin her bölümüne 3 damla süt eklendi. *Staphylococcus* spp. bölümüne paketten çıkan *Staphylococcus* spp. kültüründen 2 damla eklendi. *E. coli*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* spp. bölmeleri dışındaki her bölme 2 damla parafin yağı eklendi. Testin uzun kenarına yapıştırılan etiketi testin üzerine yeniden yerleştirildi ve daha iyi yapışması için altındaki şeffaf film çıkarıldı. Değerlendirme kontrastını iyileştirmek ve kültür sırasında tüm bölmelerde homojen bir sıcaklık sağlamak için test paketten çıkan sert kart tutucuya yerleştirildi ve bu işlemler her süt numunesi için aynı operatör tarafından yapıldı. İnokülasyon tamamlandıktan sonra her test 48 saat +37°C’de inkübasyona bırakıldı. Testin sonuçlarının yorumlanmasına kontrol bölmelerinden başlandı ve 37°C’ de 48 saat (± 2 saat) inkübasyondan sonra kontrol bölmelerine bakıldı. Negatif kontrol bölümünün renksiz olması testin geçerli olduğunu gösterdi. Testin sonuçları prospektüsünden çıkan kolorimetrik renk değişimi tablosuna göre yorumlandı.

2.2.4.2. Mikrobiyolojik Kültür

Testin doğrulaması amacıyla sahadan toplanan 318 adet CMT pozitiflik gösteren (subklinik mastitisli) süt kullanıldı. Tüm süt örnekleri mastitis yönünden bakteriyolojik kültür yöntemi ile incelendi. Bu amaçla, Harmon vd., (1990) tarafından belirtilen yöntem uygulandı. Bu doğrultuda alınan örnekler oda ısısında vortekslendikten sonra steril öze yardımıyla %5-7 koyun kanlı agara ekildi. Ekim yapılan besi yerleri 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnokülasyon sonrası şekillenen şüpheli koloniler Gram boyama seti ile boyandı. Gram negatif ve pozitif boyanma özelliğine sahip olan bakteriler için Çizelge 5’teki testler uygulanarak bakteri teşhisi gerçekleştirildi (Başustaoğlu ve Dürdal, 2017).

Çizelge 2.2. Mikrobiyolojik kültür yöntemiyle teşhis edilen bakterilerin ayrııcı tanısında kullanılan testler.

Bakteriler ve Uygulanan Testler	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Escherichia coli</i>
Gram Boyama	+ kok	+ kok	+ kok	- çomak
Katalaz Testi	+	-	-	Uygulanmadı
Oksidaz Testi	x	-	x	x
Koagülaz Testi	+	Uygulanmadı	Uygulanmadı	Uygulanmadı
Sodyum Hippiurat Testi	x	x	x	Uygulanmadı
Eskülin Testi	x	x	x	Uygulanmadı
Indol testi	Uygulanmadı	Uygulanmadı	Uygulanmadı	Kırmızı koloniler
EMB Agarda Üreme	Uygulanmadı	Uygulanmadı	Uygulanmadı	Metalik yeşil röfle

Kültür yöntemi ile test edilen sütler daha sonra Speed Mam Color TM ile testinde analiz edilen bakteri sonuçları karşılaştırıldı. Süt örneğinde 3'ten fazla koloni tespit edilmesi kontaminasyon olarak kabul edildi; 2-3 koloni tespit edildiğinde miks enfeksiyon olarak kabul edildi. Numunelerin negatif veya kontamine olması durumunda, yanlış negatif veya pozitif sonuçları önlemek için testler tekrarlandı. Her iki örnekte de üreme olmayınca sonuçlar enfeksiyon yok olarak kabul edildi.

3.BULGULAR

3.1. Tespit Limitinin Belirlenmesi

Sağlıklı süt numunelerinin referans suşlar ile kontamine edilerek elde edilen farklı dilüsyonlarında, %5-7'lik kanlı agara yapılan ekimlerde her besi yerinde üreme gerçekleşti ve dilüsyonlara göre besi yerlerinde azalarak şekillenen koloni görülmesi dilüsyonun doğru şekilde yapıldığını gösterdi. Sağlıklı süt numunesi içeren ve negatif kontrol olarak kullanılan tüplerden yapılan bakteriyolojik ekim sonucu üreme gözlenmedi.

Çizelge 3.1. Referans suşlar ile yapılan farklı dilüsyonlar sonucunda her bir etken için Speed Mam Color TM kitine ait tespit limiti sonuçları ve kontrol grubu sonuçları.

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Streptococcus uberis</i> ATCC 700407			<i>Streptococcus uberis</i> ATCC 700407			<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			Sağlıklı Süt Numunesi (Kontrol Grubu)		
Tüp No	Dilüsyon Miktarı	Tespit Limiti Sonucu	Tüp No	Dilüsyon Miktarı	Tespit Limiti Sonucu	Tüp No	Dilüsyon Miktarı	Tespit Limiti Sonucu	Tüp No	Dilüsyon Miktarı	Tespit Limiti Sonucu	Tüp No	Dilüsyon Miktarı	Tespit Limiti Sonucu
1	10x7	+	1	10x7	+	1	10x7	+	1	10x7	+	1	bakteri (-)	negatif
2	10x6	+	2	10x6	+	2	10x6	+	2	10x6	+	2	bakteri (-)	negatif
3	10x5	+	3	10x5	+	3	10x5	+	3	10x5	+	3	bakteri (-)	negatif
4	10x4	+	4	10x4	+	4	10x4	+	4	10x4	+	4	bakteri (-)	negatif
5	10x3	+	5	10x3	+	5	10x3	+	5	10x3	+	5	bakteri (-)	negatif
6	10x2	+	6	10x2	-	6	10x2	-	6	10x2	+	6	bakteri (-)	negatif
7	10x1	+	7	10x1	-	7	10x1	-	7	10x1	+	7	bakteri (-)	negatif

Her bir referans suşun farklı dilüsyonlarından Speed Mam Color TM kiti ile yapılan testlerin sonuçları her bir etken için Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

İnkübasyonun 12., 24., 36., ve 48. saatlerinde Speed Mam Color TM kiti test sonuçları kontrol edildi. 12. saatte pozitif kontrol bölmesinde net olmayan kırmızı renk değişimleri görüldü ve bakterilere ait bölmelerde renk değişimlerinin başladığı gözlemlendi. Yirmi dördüncü saatte kitin pozitif kontrol bölmesinde tam bir kırmızı renk değişikliği meydana geldiği ve bakterilere ait bölmelerde renk değişimlerinin devam ettiği gözlemlendi. 36. saatte yapılan kontrollerde *Staphylococcus* spp. ve *E. coli* için tam renk değişikliği gözlemlendi ancak *Streptococcus* spp. ve özellikle *S. uberis* için renk değişikliğinin devam ettiği gözlemlendi. Speed Mam Color TM prospektüsünde de önerilen 48. saatin sonunda bakterilerin teşhisi için yapılan bakıda tüm bakteriler için üreme değerlendirildi. *Streptococcus* spp. ve *S. uberis* 'in 10¹ ve 10² CFU/ml bakteri içeren dilüsyonlarında herhangi bir üreme ve dolayısıyla renk değişikliği

görülmediği ve pozitif kontrol bölmesinde renk değişikliği olmadığı ancak 10^3 CFU/ml bakteri içeren suşlarında pozitif sonuç verdiği saptandı. *Staphylococcus* spp. ve *E. coli* için 48. saatin sonunda 10^1 CFU/ml bakteri içeren dilüsyonlardan itibaren tümünde kitin pozitif sonuç verdi. Buna göre yapılan testler sonucunda 48 saatin sonunda Speed Mam Color™ kitine ait tespit limiti sonuçları *Staphylococcus* spp. için 10^1 CFU/ml; *Streptococcus* spp. için 10^3 CFU/ml; *S. uberis* için 10^3 CFU/ml; *E. coli* için 10^1 CFU/ml olarak bulundu.

Kontrol amacıyla kullanılan sağlıklı süt örneklerinde 12., 24., 36., ve 48. saatlerde yapılan kontrollerde Speed Mam Color™ kitinde herhangi bir renk değişikliği olmadı. Bu sonuçlar negatif olarak değerlendirildi.

3.2 Spesifite ve Sensitivite Belirlenmesi

Duyarlılık ve özgüllüğün belirlenmesi amacıyla her bir hedef bakterinin, Speed Mam Color™ prospektüsünde belirtilen tespit limitinin üzerindeki ($>10^3$ CFU/ml) farklı konsantrasyonları ile kontamine edilmiş 25 süt numunesi ve sağlıklı olduğu bilinen 25 süt numunesi kullanıldı. Her hedef için elde edilen Speed Mam Color™ test kiti sonuçları spesifite ve sensitivite hesaplamaları için altın standart olarak kabul edilen kültür yöntemi ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2., Çizelge 3.3., Çizelge 3.4. ve Çizelge 3.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. *Staphylococcus* spp. pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Staphylococcus</i> spp.		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color™ Sonuçları	Pozitif(P)	25	0
	Negatif (N)	0	25

Speed Mam Color™ testinin *Staphylococcus* spp. spesifitesi %100, sensitivitesi %100, PPV %100, NPV %100 ve Ac %100 olarak hesaplandı.

Çizelge 3.3. *Streptococcus* spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Streptococcus</i> spp.		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	23	0
	Negatif (N)	2	25

Speed Mam Color TM testinin *Streptococcus* spp için. spesifitesi %100, sensitivitesi %92, PPV %100, NPV %93 ve Ac %96 olarak bulundu.

Çizelge 3.4. *Streptococcus uberis* için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Streptococcus uberis</i>		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	23	0
	Negatif (N)	2	25

Speed Mam Color TM testinin *S. uberis* için. spesifitesi %100, sensitivitesi %92, PPV %100, NPV %93 ve Ac %96 olarak bulundu.

Çizelge 3.5. *Escherichia coli* için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Escherichia coli</i>		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	24	0
	Negatif (N)	1	25

Speed Mam Color TM testinin *E. coli* için. spesifitesi %100, sensitivitesi %96, PPV %100, NPV %96 ve Ac %98 olarak hesaplandı.

3.3. Testin Doğrulaması (Verifikasyon)

Bu amaçla, toplanan 318 adet subklinik mastitisli süt numunesinin Speed Mam Color™ test sonuçları altın standart yöntem olarak kabul edilen mikrobiyolojik kültür yöntemi ile karşılaştırıldı. Mikrobiyolojik kültür yöntemi sonucunda hedeflenen bakterilerin farklı kombinasyonlarda ürediği belirlendi. Bu farklı hedef bakteri üreme kombinasyonlarına ilişkin sonuçlar Çizelge 3.6.'da sırasıyla gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Testin doğrulanması kapsamında süt örneklerinin mikrobiyolojik kültür ve Speed Mam Color™ sonuçlarının karşılaştırılması.

Bakteriler ve Bakteri Kombinasyonları	Mikrobiyolojik Kültür Sonucu	Speed Mam Color™ Sonucu
<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>S. uberis</i> , <i>E. coli</i>	6	6
<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>S. uberis</i>	42	42
<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	18	18
<i>Staphylococcus</i> spp.	84	78
<i>Streptococcus</i> spp.	42	30
Üreme yok	126	144
TOPLAM	318	318

Kitin verifikasyonu için yapılan karşılaştırmalı testler sonucunda her bir hedef bakteri için elde edilen spesifite ve sensitivite sonuçları Çizelge 3.7., 3.8., 3.9. ve 3.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. *Staphylococcus* spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Staphylococcus</i> spp.		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color™ Sonuçları	Pozitif(P)	144	0
	Negatif (N)	6	120

Staphylococcus spp. için yapılan verifikasyon çalışmasında testte ve kültürde pozitif çıkan 144 numune için, testin pozitif kontrol bölmesinde olması beklenen renk değişikliği görüldü. *Staphylococcus* spp. ürettiği görülen 144 numuneden 18’inde *Staphylococcus* spp. ile birlikte *Streptococcus* spp. üretti; 48’inde ise *Staphylococcus* spp. *Streptococcus* spp. ve *S. uberis* birlikte ürerken, 6 numunede *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* birlikte ürettiği görüldü. Testin pozitif, kültürün negatif olduğu numune saptanmadı. Testin negatif, kültürün pozitif olduğu 6 numunede kitin pozitif kontrol ve bakteri bölmesinde renk değişikliği olmadığı görüldü. Bu durum testin çalışmadığı ya da bakterinin miktarının tespit limitinin altında olduğu şeklinde değerlendirildi. Yüz yirmi negatif numunedan 12’inde testin pozitif kontrol bölmesinde renk değişikliği görülmesine rağmen, testin ilgili bakteri bölmesinde renk değişikliği yoktu ve kültür sonucu da bu numuneler için negatifti. Testte ve kültürde sonuçları negatif olarak değerlendirilen numuneler her bir bakteri için spesifikite ve sensitivite çalışmaların da toplam negatif numune sayısı olarak ortak değerlendirildi. Yapılan hesaplamalar doğrultusunda Speed Mam Color TM testinin *Staphylococcus* spp.’yi saptamada spesifikitesi %100, sensitivitesi %96, PPV %100, NPV %95 ve Ac %98 olarak bulundu.

Çizelge 3.8. *Streptococcus* spp. için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Streptococcus</i> spp.		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	90	6
	Negatif (N)	18	120

Streptococcus spp. için yapılan verifikasyon çalışmasında testte ve kültürde pozitif çıkan 90 numune için her Speed Mam Color Testi’nin kontrol bölmesi pozitif reaksiyon verdi. Bu numunelerden 30’unda *Streptococcus* spp. tek başına; 18 numunede *Staphylococcus* spp. ile birlikte; 48’inde *Staphylococcus* spp. ve *S. uberis* ile birlikte ve 6 numunede *Staphylococcus* spp., *S. uberis* ve *E. coli* birlikte üretti. Testin pozitif kültür sonucunun negatif olduğu 6 süt numunesinde *Streptococcus* spp. test kitinde tek başına üretti. Testin negatif, kültürün pozitif çıktığı 18 numunede, kitin pozitif kontrol bölmesi ve bakteri bölmesi negatif reaksiyon verirken, kültür sonuçlarında tek başına *Streptococcus* spp. ürettiği gözlemlendi. Yüz yirmi negatif numunedan 12’inde testin pozitif kontrol bölmesinde renk değişikliği görülmesine rağmen, testin ilgili bakteri bölmesinde renk değişikliği yoktu ve kültür sonucu

da bu numuneler için negatifti. Testte ve kültürde sonuçları negatif olarak değerlendirilen numuneler her bir bakteri için spesifite ve sensitivite çalışmaların da toplam negatif numune sayısı olarak ortak değerlendirildi. Yapılan hesaplanmalar doğrultusunda Speed Mam Color TM testinin *Streptococcus* spp.'yi saptamada spesifitesi %95, sensitivitesi %83, PPV %94 , NPV %87 ve Ac %90 olarak bulundu.

Çizelge 3.9. *Streptococcus uberis* için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Streptococcus uberis</i>		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	48	0
	Negatif (N)	0	120

S. uberis 'in ürettiği test ve kültür sonuçlarının pozitif olduğu 48 süt numunesinde *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. birlikte üredi. Değerlendirmeye alınan diğer bakterilerin ümediği görüldü. Testin pozitif, kültürün negatif olduğu ve testin negatif, kültürün pozitif olduğu sonuçlara rastlanmadı. Yüz yirmi negatif numuneden 12'inde testte kontrol bölmesi rağmen, testin ilgili bakteri bölmesinde renk değişikliği olmadı ve kültür ise negatifti. Testte ve kültürde sonuçları negatif olarak değerlendirilen numuneler her bir bakteri için spesifite ve sensitivite çalışmaların da toplam negatif numune sayısı olarak ortak değerlendirildi. Yapılan hesaplanmalar doğrultusunda Speed Mam Color TM testinin *S. uberis* 'i saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %100, PPV %100, NPV %100 ve Ac %100 olarak bulundu.

Çizelge 3.10. *E.coli* için pozitif ve negatif numune sonuçları.

<i>Escherichia coli</i>		Mikrobiyolojik Kültür Sonuçları	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
Speed Mam Color TM Sonuçları	Pozitif(P)	6	0
	Negatif (N)	0	120

E. coli üreyen, test ve kültür sonuçlarının pozitif olduğu 6 süt numunesinde *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *S. uberis* birlikte üredi. Testin pozitif, kültürün negatif olduğu ve testin negatif, kültürün pozitif olduğu sonuçlara rastlanmadı. Yüz yirmi negatif numuneden 12'inde testte kontrol bölmesi rağmen, testin ilgili bakteri bölgesinde renk değişikliği olmadı ve kültür ise negatifti. Testte ve kültürde sonuçları negatif olarak değerlendirilen numuneler her bir bakteri için spesifite ve sensitivite çalışmaların da toplam negatif numune sayısı olarak ortak değerlendirildi. Yapılan hesaplamalar doğrultusunda Speed Mam Color TM testinin *E. coli* 'yi saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %100, PPV %100, NPV %100 ve Ac %100 olarak bulundu.



4. TARTIŞMA

İneklerde mastitise 140'tan fazla mikroorganizma neden olmaktadır. Bu nedenle mastitisten sorumlu etkenin önceden bilinmesi, etkili bir tedavi açısından oldukça önemlidir. Çünkü mikroorganizmalara karşı kullanılacak antibiyotik, antibiyotik uygulama yolu, tedavi süresi ve hastalığın prognozu birbirinden farklılık göstermektedir. Örneğin meme içi tedavi bazı patojenlerinin neden olduğu mastitislerin tedavisinde başarısız olmaktadır (*S. aureus*'un neden olduğu kronik mastitislerde ve Gram negatif bakterilerin neden olduğu orta şiddetteki klinik mastitislerde) (Berkema vd., 1999). *S. uberis* ve *S. aureus*'un neden olduğu meme içi enfeksiyonlarda tam bir bakteriyolojik iyileşme için tedavi süresi uzun tutulmalıdır. Mikoplazma türleri, mantar ve koliform grubu bakterilerin neden olduğu orta dereceli mastitislerde ve *S. aureus* kaynaklı kronik mastitislerde, tedavi genellikle başarısız olmaktadır. Sonuç olarak her ne kadar saha şartlarında mastitise neden olan mikroorganizmaların izolasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmamakla birlikte, tedavinin başarısı; patojenin bilinmesi ve ona yönelik spesifik bir tedavi planı oluşturulmasıyla yakından ilişkilidir (Baştan, 2019).

Mastitis, çok sayıda bakterinin neden olduğu ve tedavi başarısının birçok faktörce etkilendiği bir hastalıktır. Patojenlerin virulens faktörleri, memenin hangi bölümünde enfeksiyon oluşturduğu, sistemik bir semptom şekillendirme potansiyeli, subklinik enfeksiyonun süresi ve kendiliğinden iyileşme oranları birbirinden farklıdır. Örneğin Gram pozitif patojenlere (*S. aureus*) bağlı klinik mastitislerin tedavi başarı olasılığı %25, çevresel streptokoklar ve koagülaz negatif stafilokokların %65-70, *E. coli*'ye bağlı enfeksiyonlarda ise %75'ten fazladır. Klinik mastitislerin %25-40'ında klinik semptomlar görülmesine rağmen, mikrobiyolojik olarak negatiftir. İşletmelerin birçoğunda klinik mastitise *E. coli* neden olmakta ve bu bakteriye bağlı mastitislerin 2/3'ünde yangısal semptomlar sadece memede görülmektedir. *E. coli*'ye bağlı şekillenen orta şiddetteki klinik mastitislerde enfeksiyon memenin kanal ve meme bezi sisternasındaki süperfisiyal mukoza yüzeyinde şekillendiğinden, kendiliğinden iyileşme oranı oldukça yüksektir. *E. coli* dışında klinik mastitise neden olan diğer önemli patojen çevresel streptokoklardır. Bu grup bakterilerden *S. dysgalactia*'ya bağlı mastitisin, *S. uberis* göre kendiliğinden iyileşme şansı daha yüksektir. Çevresel streptokok türü bakterilerin meme içi antibiyotiğe yanıtları oldukça fazladır, kendiliğinden iyileşme oranı düşüktür ve antibiyotik tedavisi yapılmadığında nüks olasılığı yüksektir (Cheng vd., 2020; Dalanezi vd., 2020).

İneklerde meme içi enfeksiyonlar genellikle bakterilere bağlıdır. Meme içi enfeksiyonların tedavisinde değişik tedavi yöntemleri önerilmekle birlikte, en kabul gören tedavi şekli antibiyotiklerin kullanılmasıdır. Son 10-15 yılda çok sayıda antibakteriyel ilaca karşı direnç kazanan patojenlerin sayısında önemli oranda artış olmuştur, insan ve veteriner hekimlikte bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç problemi büyüyerek devam etmektedir. İki bin-ön dört yılında İngiltere Hükümetinin kurduğu bir komisyon raporunda her yıl yaklaşık 700.000 insanın enfeksiyondan antibiyotik çoklu-dirençlilik nedeniyle öldüğü, 2050 yılında özellikle ekonomik olarak az gelişmiş ülkelerde bu sayının her yıl 10.000.000'a çıkacağı öngörülmektedir. Bu nedenle dünya sağlık örgütü ve değişik ülkeler ve ilgili kuruluşlar konunun önemine dikkat çekmeye ve antibiyotik dirençliliği önlemek üzere bir dizi önlemler almaya başlamışlardır. Örneğin Almanya'da 2011-2015 yılları arasında antibiyotik kullanımı, %53 azaltılmıştır (Baştan, 2019).

Hayvanlarda ve insanlarda enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde benzer grup antibiyotikler kullanılmaktadır. Oysa insanlarda kullanılan antibiyotikler, hayvanlar için kullanılmamalıdır. Avrupa İlaç Ajansı insan sağlığı için kritik önemine göre antibiyotikleri 3 gruba ayırmıştır. Birinci grupta, insan sağlığı için az veya sınırlı risk taşıyan antibiyotikler, ikinci grupta insan sağlığı için kritik önemi olan, aynı zamanda insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da kullanılan antibiyotikler yer almaktadır. Bu grupta yer alan antibiyotikler; fluorokinolonlar, üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlerdir. Bu grup ilaçlardan özellikle sefalosporinler, ülkemizde de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Sefalosporinler birçok ülkede klinik mastitis tedavisinde ilk seçim olarak düşünülmektedir. Fluorokinolonlar ve üçüncü-dördüncü kuşak sefalosporinler, hatta kısmen makrolidler insan sağlığı açısından en kritik antibiyotiklerdir (Baştan, 2019).

Sütçü ineklerde antibiyotikler, birçok enfeksiyöz hastalığın tedavisinin yanısıra klinik ve subklinik mastitisler ile kuru dönem tedavisi için kullanılmaktadır. Bu amaçla genellikle sefalosporinler (sefasetril, sefalekssin, sefapirin, sefaperazon), aminoglikozidler (gentamisin, neomisin, kanamisin), makrolidler (spiramisin), linkozamidler (linkomisin), beta-laktamlar (amoksisilin, kloksasilin, penisilin) ve beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine beta-laktamlar (amoksisilin klavulanik asit) tercih edilmektedir. Antibiyotiklerin sık kullanılması, antibiyotik direnç gelişimi riskini artırmaktadır (Heringstadt vd., 2020).

Çevresel patojenlere bağlı meme içi enfeksiyonun bazıları antibiyotik ile başarılı şekilde tedavi edilir iken, bazıları tedavi edilememektedir. Büyük işletmelerde meme içi enfeksiyonlardan izole edilen bakteri tipinin değişmesi, yeni bir tedavi protokolünün

oluşturulması zorunluluğunu doğurmuştur. Bu nedenle klinik mastitise neden olan patojen belirlenmeden asla tedaviye başlanmamalıdır. Önce klinik mastitisli meme lobundan süt örneği alınır ve sorumlu patojen tespit edilir. Enfeksiyondan sorumlu patojenin tespitinde, çiftliklerde uygulanabilen hızlı testlerden yararlanılır, bu testlerle 24 saat içinde sonuç alınmaktadır. Klinik mastitislerin saha şartlarında teşhisi amacıyla kullanılan yöntemler; Minnesota Easy Kültür Sistem II, 3M Petri Sistem, Accumast, CHROMagar Mastitis ve Dry Kültür Medyumudur. Minnesota Easy Kültür Sistem II, saha kültür sistemi olup, kültür sisteminde MacConkey agar (Gram negatif bakteriler bu agarda ürer) ve Gram pozitif bakterilerin (stafilokoklar, streptokoklar ve streptokoklara benzeyen bakteriler) üremesi için 2 selektif kültür medyumunu bulunmaktadır. Bu sisteme alternatif Tri-Plate sistem geliştirilmiştir. Tri-Plate sisteme Bi-Plate sistemden farklı olarak streptokoklar ve streptokok benzeri bakterilerin üremesi için 3. bir selektif agar (MTKT agar) eklenmiştir. Bakteri kültüründe enfekte memeden *E. coli* veya *K. pneumoniae* (her ikisi de Gram negatif bakteridir) izole edilirse antibiyotik kullanmaya gerek duyulmaz, ilgili meme lobu izlenir, gerek görüldüğünde, sadece destekleyici tedavi yapılır. Şayet meme içi enfeksiyondan Gram pozitif bir bakteri izole edilirse, o zaman yukarıda belirtilen konvansiyonel yöntemde önerilen protokol uygulanır (Griffonen vd.,2018; Elbehiry vd., 2016; Adkins vd., 2018).

Klinik mastitislerde enfeksiyondan sorumlu patojenin önceden belirlenmesiyle antibiyotik kullanımı azaltılabilir ve bu durum işletmeye önemli ekonomik yararlar sağlar. Sonuç olarak; klinik mastitislerde ilgili meme lobunda yangıya neden olan patojen belirlendikten sonra tedaviye başlanmasının hem ekonomik hem de tedavi şeklinin belirlenmesinde önemli yararları vardır. Bu nedenle klinik mastitislerde (çok şiddetli değil ise) yapılacak ilk işlem; mastitise neden olan patojenin tespiti olmalıdır. İneğin yaşam parametrelerinin ciddi derecede etkilendiği durumlarda acilen destekleyici tedaviye başlanmalıdır. Mastitis patojenlerinin tespiti için altın standart olarak kabul edilen bakteriyolojik kültür standart bir laboratuvarla veya çiftlik şartlarında yapılabilir. Standart laboratuvarlarda bireysel veya tank sütü örneklerinden standart besi yerine ekim yapılır ve inkübasyondan sonra üreyen bakteri veya bakteriler belirlenir (Jong vd., 2023).

Süt kültürü yapacak laboratuvarların günün her saati açık olmaması, hafta sonu kapalı olması ve konvansiyonel yöntemde sonuçlar için asgari 48 saat gibi bir zamana ihtiyaç duyulması, mastitise neden olan mikroorganizmaları çiftlik koşullarında belirleyebilen hızlı yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu amaçla da çiftlikte bakteriyolojik kültürlerin yapılabileceği yöntemler (on-farm culturing) geliştirilmiştir. Bu sistem basit bir sistemdir, bir çiftlikte ucuz bir inkübatör ve steril swapın olması test için yeterlidir. Bu amaçla bir inkübatör

ve kültür medyumunu alınmalıdır. Bu sistemlerde kültür medyumunu olarak Speed Mam Color, Accumast, Minnesota Tri-plate sistem ve Bi-plate sistem MacConkey agar kullanılmaktadır. Bu iki sistemden birine yapılacak ekimde mastitisin Gram negatif veya pozitif bakterilerden mi kaynaklandığı kolaylıkla belirlenebilir. Kültür sonucunda Gram negatif bakteriler izole edilir ise antibiyotik kullanımına gerek yoktur, Gram pozitif bakteriler izole edilirse konvansiyonel tedavi yöntemi uygulanır. Bu sistem sayesinde gereksiz antibiyotik kullanımı önlenmiş olur (Baştan, 2019).

Günümüzde on-farm culturing sistemlerin kullanılması yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu kültürleri kullanmanın en önemi avantajı saha koşullarında uygulanabilir olmalarıdır. Bu sistemlerin dezavantajı ise spesifikite ve sensivitelerinin değişkenlik göstermesi ve sonuçların yorumlayıcıya göre değişmesidir.

Yapılan bir çalışmada ise klinik mastitis süt sığırlarının en yaygın ve pahalı hastalıklarından biri olduğu, selektif bir tedavi kararı vermek için neden olan patojeni bilmek önemine dikkat çekilmiş ve klinik mastitis vakalarının yaklaşık %30'unda bakteri üremesinin tespit edilemediği belirtilmiştir. Tedavi protokolünü belirlemeden önce mastitise neden olan patojenin Gram pozitif mi yoksa negatif mi olduğunu bilmenin önemli olduğu bildirilmiştir. Bu amaçla mastitis patojenlerini çiftlik şartlarında belirleyen 3M Petrifilm™ ürününün klinik tanıda 24 saatlik hızlı teşhis olarak kullanılıp kullanılmayacağını, geleneksel mikrobiyolojik teşhis yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Çalışmada Aerobic Count (AC)-Petrifilm™ ve Coliform Count (CC)-Petrifilm™, klinik mastitis vakalarından alınan numunelerdeki toplam bakteri sayısını ve Gram-negatif bakterileri tanımlamak için kullanılmıştır. Her iki plakada da yetersiz bakteri üremesi, bakteri tespiti yapılmaması şeklinde sınıflandırmışlar, yalnızca AC-Petrifilm™ üzerindeki büyüme Gram-pozitif olarak değerlendirilmiş ve her iki Petrifilm™ plakasındaki büyüme de Gram-negatif bakteri büyümesi olarak kabul edilmiştir. Ayrıca süt örnekleri referans yöntem olarak kabul edilen konvansiyonel mikrobiyolojik tanı yöntemiyle analiz edilmiştir. Genel olarak klinik mastitis vakalarından 616 örnek analiz edilmiş, referans yöntemi kullanılarak numunelerin sırasıyla %32,6, %20,0, %2,5, %14,1 ve %1,1'inde Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, karışık bakteri üremesi, kontamine numuneler ve maya belirlenmiş, örneklerin %29,7'sinde mikrobiyolojik üreme tespit edilememiştir. Oysa Petrifilm™ konsepti kullanılarak kültür negatif numunelerin %59'unda bakteri üremesi tespit edilmiş, Petrifilm™'in Gram pozitif ve Gram negatif MCP'ye yönelik duyarlılığı sırasıyla %85,2 ve %89,9 olarak bulunmuştur. Spesifikite Gram pozitif için %75,4 ve Gram negatif bakteriler için %88,4, kültür negatif örnekler için duyarlılık %41,0 ve özgüllük %91,0 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar sonuçların Petrifilm™

yönteminin çiftlik düzeyinde mastitis tedavisine karar verme için uygun olduğunu açıklamışlardır (Erika vd., 2016).

Yapılan bir başka çalışmada, iki farklı altın standart yaklaşımı kullanarak süt ineklerinde klinik mastitis ile ilişkili patojenlerinin tanımlanması için çiftlik içi kültür sistemini değerlendirmeyi amaçlanmış, kültür sisteminin etkinliğini standart laboratuvar kültürü ve 16S rRNA dizilimi yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Bu amaçla mastitisli meme lobları (n=538), 3 seçici kromojenik ortam (Accumast—FERA Animal Health LCC, Ithaca, NY) içeren tek bir plaka kullanılarak çiftlikte ve bir referans laboratuvarında kültüre etmişlerdir. Doğruluk, duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPV) ve negatif tahmin değeri (NPV), çalışma 1’de standart laboratuvar kültürüne göre 16S rRNA sıralama sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Accumast’ın genel doğruluğu %84,9, benzer şekilde Gram-negatif bakterilerin, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp.’nin tanımlanmasında doğruluk sırasıyla %96,4, %93,8 ve %91,5 bulunmuştur. Duyarlılık, özgüllük, PPV ve NPV, *E. Coli* tanımlaması için %75,0, %97,9, %79,6 ve %97,3, *S. aureus* için %100, %99,8, %87,5 ve %100, %70, %95 olmuştur. Diğer *Staphylococcus* türleri için %45,7 ve %98,1 ve *Streptococcus* türleri için %90, %92,9, %91,8 ve %91,2’dir. Çalışma 2’de Accumast PPV sırasıyla *E. Coli* için %96,7, *Enterococcus* spp. için %100, diğer Gram negatifler için %100, *Staphylococcus* spp. için %88,2 ve *Streptococcus* spp. için %95 bulunmuştur. Araştırmacılar çalışma sonucunda Accumast, sırasıyla %82,3 ve %89,9 genel duyarlılık ve özgüllük sunan, mastitis ile ilişkili patojenlerin çiftlikte tanımlanması için kullanılabilecek bir test olarak belirtilmiştir (Royster vd., 2016).

Başka bir çalışmada ise birinci amaç olarak Minnesota Üniversitesi Üçlü Plakası ve 3M Petrifilm Staph Express (STX) Sayım Plakasının mikrobiyolojik sonuçlarını, *S. aureus* ‘un neden olduğu klinik mastitisin tanımlanmasına yönelik standart kültür teknikleriyle karşılaştırmak, ikinci amaç olarak ise üçlü plakanın *Streptococcus* spp.’yi ayırt etme yeteneğini diğer Gram-pozitif organizmalardan değerlendirmek olarak açıklanmıştır. Testlerin ilgili patojenleri doğru tanımlamalarını belirlemek için klinik olarak pozitif mastitisli süt numuneleri (n = 282) kullanılmış, Tri-plate yönteminin duyarlılığı %97,9 ve özgüllüğü %81,8, Petrifilm’in duyarlılığını ise %92,1, özgüllüğü ise %93,1 olarak açıklamışlardır (Lago and Godden, 2018).

Bir başka çalışmada Speed Mam Testi’nin mastitis patojenlerini saptama etkinliği konvansiyonel yöntemle karşılaştırılmış, konvansiyonel yöntemde bakteri üreyen örneklerin

%96'sı Speed Mam Color testinde pozitif çıkmıştır. Bu sonuç, hızlı test sonuçları ile klasik bakteriyolojik analiz arasında çok iyi bir korelasyon %96 olduğunu ve dolayısıyla meme içi enfeksiyonların tanımlanmasında kullanılan bu testin güvenilirliğinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Saidi vd., 2019).

Jones vd., bakterileri tanımlamak ve süt örneklerinden antibiyotik duyarlılık testi bilgileri sağlamak için tasarlanmış bir çiftlik testi olan Mastatest'in performansını, standart mikrobiyolojik kültür yöntemleriyle karşılaştırmış, bu amaçla klinik mastitis vakalarından alınan toplam 292 süt örneği incelenmiş ve her iki testin etkinliği değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda Mastatest'in tüm patojenlere karşı tahmini duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %94,6 ve %72,1; standart kültürde ise %90,5 ve %73,9 olarak açıklanmıştır (Jones vd., 2019).

Bu tez çalışması önemli mastitis patojenlerinin tanısında kullanılan Speed Mam Color testinin duyarlılığını ve özgüllüğünü altın standart olarak kabul edilen klasik mikrobiyoloji yöntemiyle karşılaştırarak belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması sonuçlarına göre ise Speed Mam Color TM testinin *Staphylococcus* spp.'yi saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %96, *Streptococcus* spp.'yi saptamada spesifitesi %95, sensitivitesi %83, *S. uberis* 'i saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %100 ve *E. Coli* 'yi saptamadaki spesifitesi %100, sensitivitesi %100 olarak bulunmuştur.

Mastitise neden olan patojeni bilmek, mastitisin kontrol altına alınmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesi açısından son derece önemlidir. Klinik mastitise neden olan patojeni bilmek selektif tedaviye imkân verir. Bu durumda antibiyotik kullanımı nedeniyle maliyetler ile tedavi gören inek sayısı azalır, daha az oranda süt dökülür ve antibiyotik dirençlilik gelişme riski azalır. Patojene yönelik tedavi, mastitis patojenlerinin hızlı ve doğru tanımlanmasına esasına dayanır. Speed Mam Color Test (çiftlikte kullanılabilen bir kültür sistemidir), veteriner hekimlerin çiftlik koşullarında klinik mastitis ile ilişkili başlıca bakterileri basit bir şekilde tanımlamasını sağlamak üzere tasarlanmış bir testtir. Bu test kullanılarak tanımlanabilen mikroorganizmaların spektrumu hem Gram pozitif hem de negatif patojenler ile *Mycoplasma* spp.'yi kapsar. Bu bakteriler sütçü inek ırklarında mastitis olgularında sık izole edilen mikroorganizmalardır. Speed Mam Color TM testinin subklinik mastitis *Staphylococcus* spp.'yi saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %96, *Streptococcus* spp.'yi saptamada spesifitesi %95, sensitivitesi %83, *S. uberis* 'i saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %100 ve *E. Coli* 'yi saptamadaki spesifitesi %100, sensitivitesi %100 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, subklinik mastitis ile ilişkili patojenlerin çiftlikte tanımlanması,

hedefe yönelik tedavi protokollerinde karar verilmesi ve patojen prevalansının belirlenmesinin bu kültür sisteminin kullanımının önemini desteklemektedir.

Mastitiste rol oynayan bulaşıcı patojenlerin kontrolünde büyük ilerlemeler, sağım hijyeni ve yönetim uygulamalarının iyileştirilmesi yoluyla elde edilmiştir. Bununla birlikte, *S. aureus*'un neden olduğu meme içi enfeksiyonlar bir sorun olmaya devam etmektedir ve bu patojene bağlı enfeksiyonları sürü içinde kontrol altında tutmak için sürekli gözetim, agresif antibiyotik tedavisi ve enfekte ineklerin sürüden çıkartılması veya kesime gönderilmesini gerekir. Çiftlik içi kültür sistemleriyle, sürü içindeki mastitisli ineklerde bakterilerin Gram pozitif ve negatif olarak veya 24 ila 32 saatlik inkübasyondan sonra büyüme yok şeklinde karakterize etmek mümkündür. Oysa renk değişimi esasına dayanan testlerde kapsamlı mikrobiyoloji eğitimi olmayan okuyucular tarafından cins ve/veya tür düzeyinde sınıflandırma yapılmaya çalışıldığında tutarsız sonuçlar elde edilmektedir. Örneğin, Minnesota Üniversitesi Tri-plate'in sınırlı mikrobiyoloji eğitimi olan 4 okuyucu tarafından *S. aureus*'un tanımlanmasına yönelik duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %43,2 ila %59,1 ve %93,8 ila %95,9 arasında değişmektedir. Kapsamlı mikrobiyoloji eğitimi olmayan 2 okuyucunun *S. aureus*'u tanımlamak için aynı sistemi kullandığı başka bir çalışmada, duyarlılık %52 ile %78 arasında ve özgüllük %92 ile %98 arasında değişmiştir. Benzer şekilde, diğer araştırmacılar Gram negatif bakterilerin, stafilokokların ve diğer Gram pozitif bakterilerin tanımlanması için farklı bir üçlü plaka kullanmışlar ve *S. aureus*'un tanımlanmasında %65 ve %94'lük duyarlılık ve özgüllük elde edilmiştir. Oysa bu tez çalışmasında Speed Mam Color Test'in kullanımı, standart mikrobiyolojik muayene sonuçlarıyla karşılaştırıldığında saha koşullarında *Staphylococcus spp.*'yi saptamada spesifitesi %100, sensitivitesi %96 bulunmuştur.

Speed Mam Color Test'in kullanımı, standart laboratuvar kültürü ile karakterize edilen türden bağımsız olarak streptokokların tanımlanmasında yüksek genel duyarlılık ve özgüllüğe sahipti. Bu test *Streptococcus spp.*'nin tanımlanmasında Speed Mam Color Test plakalarının spesifite ve sensitivitesi bu konuda daha önce yapılan çalışma sonuçlarıyla benzer nitelikteydi. Bu sonuç Speed Mam Color Testi'nin *Streptococcus spp.* bakterileri tanımlamada başarıyla kullanılabileceği sonucunu doğurmuştur. Suojala vd., (2013), inek mastitisine neden olan *E. coli*'nin tedavisini değerlendiren çalışmalardan verileri derlemiş ve hafif ve orta dereceli klinik mastitislerde meme içi antibiyotik tedavisinin önerilmemesi gerektiği sonucuna varmışlardır. Bu nedenle öncelikle *E. coli* ile enfekte olmuş mastitisli ineklerin belirlenmesi, antibiyotik kullanımının azaltılmasına yönelik kritik bir adımdır. Bu araştırma sonuçlarına bakıldığında da da Speed Mam Color Test'in *E. coli*'yi tanımlamadaki doğruluğu yüksekti. Bu sonuç Suojala vd., (2013) bulgularıyla uyumlu, fakat Accumast testinin sonuçlarından

yüksek bulunmuştur. Bu durum test içinde kullanılan spesifik medyumlardan, örnekler içindeki bakteri sayısından veya örneklerin subklinik veya klinik mastitisli meme loblarından alınıp alınmadığından kaynaklanmış olabilir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması bulguları ışığında;

1. Speed Mam Color TM kitine ait tespit limiti sonuçları *Staphylococcus* spp. için 10¹ CFU/ml; *Streptococcus* spp. için 10³ CFU/ml; *S. uberis* için 10³ CFU/ml; *E. coli* için 10¹ CFU/ml olarak bulundu.

2. Speed Mam Color Test'in önemli mastitis patojenlerinin tanısında yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğunu ve bu nedenle önemli mastitis patojenlerinin tanısında güvenle kullanılabileceği,

3. Bu test ile mastitis patojenlerinin kısa sürede belirlenebileceği,

4. Test sonuçları dikkate alındığında mastitisin seçici tedavisi, hafif ve orta dereceli vakaların tedavisinde antibiyotik kullanımının azaltılarak ekonomik tasarruflar sağlanabileceği, antibiyotik kullanımının azaltılması aynı zamanda sütteki kalıntı riskini azaltabileceği ve de antibiyotik dirençlilik riskinin azaltılabileceği,

4. Patojenin bilinmesinin spesifik tedavi ile tedavi etkinliğini artırabileceği sonucuna varılmıştır.

Sütün bakteriyolojik muayenesi için çiftlik içi bir sistemin kullanılması, çiftliklerde mastitise neden olan bakteri türünün kısa sürede belirlemesine olanak tanır. Patojenin belirlenmesinin kısa sürede yapılması veteriner hekimlerin antibiyotik seçiminde yol gösterici olabilir ve doğru antibiyotik seçimi tedavi başarı şansını önemli oranda etkilemektedir. Tez çalışmasının sonuçları, sütün bakteriyolojik kültürü için çiftlik içi bir sistemin kullanılmasının antibiyotik seçimini etkileyebileceğini ve mastitis tedavisi için antibiyotik kullanımının azalmasına neden olabileceğini göstermiştir. Mastitis tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin (veteriner hekimlikte kullanılan antibiyotiklerin %38'i mastitis tedavisi ve korunmada kullanılmaktadır) miktarını en aza indirmek çiftlik ekonomilerine önemli faydalar sağlayabilir. Çünkü çiftliklerde önemli oranda antibiyotik kullanımı söz konusudur. Ayrıca antibiyotik kullanımının azaltılması, sütün gereksiz yere atılmasını önleyecek ve tedavi maliyetlerini azaltarak süt işletmeleri için önemli bir ekonomik etki sağlayacaktır. Azalan antibiyotik kullanımı sütte kalıntı olasılığını da azaltacaktır. Bakteriyolojik kültür sonuçlarının antibiyotik tedavi seçenekleri için bir yol gösterici olarak kullanılmasının da tedavi sonuçlarını iyileştirmesi beklenebilir.

KAYNAKLAR

- Abdelmegid S., Murugaiyan J., Abo-Ismael M., Caswell J.L., Kelton D. & Kirby G.M. (2017). 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*, 19(1), 78.
- Abebe R., Hatiya H., Abera M., Megersa B. & Asmare K (2016). Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Vet Res*, 12, 1-11.
- Addis, M.F., Tedde V., Dore S., Pisanu S, Puggioni G.M.G., Roggio A.M., Pagnozzi, D., Lollai S, Cannas Ea. & Uzzau S. (2016). Evaluation of milk cathelicidin for detection of dairy sheep mastitis. *J Dairy Sci*, 99(8), 6446–6456.
- Adkins, P.R.F. and Middleton, J.R. (2018). Methods for diagnosing mastitis. *Vet Clin N Am.-Food Anim Pract*, 34, 479-491.
- Ak, S., (2000). Trakya yöresinde sığır mastitisinden sorumlu bulaşıcı ve çevresel bakteriyel etkenler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 26(2), 353-365.
- Akan, M. (2006). *Staphylococcus enfeksiyonları, Streptococcus enfeksiyonları* (ss.5-29.) In: Veteriner Mikrobiyoloji, Ed: Aydın, N. ve Paracikoğlu, J. Ankara İlke Emek Yayınları.
- Akçay, A., Sarıözkan, S., Abay, M., Canoğlu, E. ve Gürbulak, K. (2014). Sütçü ineklerde mastitis tedavisinde homeopatik ilaç kullanımının finansal analizi. *Vet Hekim Der Derg*, 85(1), 1-8.
- Akers, S.R.M. and Nickerson, S.C. (2011). Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 16, 275-289.
- Alaçam, E., Tekeli, T., Sezen, Y. ve Erganiş, O. (1986). Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde Cefoperazone'un etkisi üzerinde çalışma. *S.Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 1(2), 65–74.
- Alpay, Y.G. ve Yeşilbağ, K. (2009). Mastitis olgularında virüslerin rolü. *Uludağ University Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 28, 1-39.
- Arda, M., Aydın, N., Ilgaz, A., Minbay, A., Kahraman, M., İzgür, M., Leloğlu, N., Akay, Y. Ö., Diker, K.S. (1997). *Özel mikrobiyoloji* (ss. 91-96). 4.Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi
- Ashraf, A. and İmran, M. (2018). Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm. *Trop Anim Health Prod*, 50(6), 1193–1202.
- Ashraf, A., İmran, M., Yaqub, T., Tayyab, M., Shehzad, W. & Thomson, P.C. (2017). A novel multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically significant bacterial pathogens associated with bovine mastitis. *Mol Cell Probes*, 33, 57–64.
- Astrup, L.B., Pedersen, K., & Farre, M. (2022). Microbiological diagnoses on clinical mastitis—comparison between diagnoses made in veterinary clinics versus in laboratory applying MALDI-TOF. *Antibiotics*, 11, 271.
- Atasever, S. ve Erdem, H. (2008). Süt sığırlarında mastitis ile sütün elektriksel iletkenliği arasındaki ilişkiler, *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2), 131-136.
- Ayvazoglu, P., Eski, F. (2019). Estimate by quantitative methods of the effect on some milk yield traits with CMT score of subclinic mastitis in cows: Pilot Study. *Van Vet J*, 30, 177-182.

- Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Lam, T.J., Beiboer, M.L., Benedictus, G. & Brand, A. (1999). Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci*, 82, 1643–1654.
- Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Lam, T.J., Beibour, M.L., Benedictus, G. & Brand, A. (1998). Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *J Dairy Sci*, 81(7), 1917-27.
- Barker, A., Schrick, F., Lewis, M., Dowlen, H. & Oliver, S. (1998). Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *J Dairy Sci*, 81, 1285.
- Barker, A., Schrick, F., Lewis, M., Dowlen, H. & Oliver, S. (1998). Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *J Dairy Sci*, 81, 1285.
- Baştan, A. (2013). *İneklerde meme sağlığı ve sorunları, Genişletilmiş II. Baskı* (ss. 76-358). Ankara: Kardelen Ofset Matbaacılık.
- Baştan, A. (2019). *İneklerde meme sağlığı ve sorunları, genişletilmiş III. baskı*. (ss. 46-264). Ankara: Neyir Matbaacılık.
- Başustaoglu A ve Dürdal Us A, (2017). *Koneman Renkli Atlas ve Tanısal Mikrobiyoloji Kitabı*, Ankara: Hipokrat Yayınevi.
- Benic, M., Macesis, N., Cvetnic, L., Habrun, B., Cvetnic, C.Z., Türk, R., Duricic, C.D., Lojnic, M., Dobrani, C.V. & Valpotic, H. (2018). Bovine mastitis: A persistent and evolving problem requiring novel approaches for its control-a review. *Vet Arhiv*, 88, 535–557.
- Benoit, F. and Treilles, M. (2013). *Evaluation of a commercial in-clinic diagnostic test for combined germ identification and antibiotic sensitivity testing in bovine mastitis* [Bildiri sunumu/Poster]. Poster presented at the European Buiatrics Forum.
- Bian, Y. and Li, Q. (2014). Identification of diagnostic protein markers of subclinical mastitis in bovine whey using comparative proteomics. *Bull Vet Inst Pulawy*, 58(3), 385–392.
- Blowey, R. and Edmonson, P. (1995). *Mastitis-causes, epidemiology and control. In: Mastitis control in dairy herds* (ss.27-35). NY. USA: Farming Press. Books.
- Blowey, R. and Edmonson, P. (2010). *Mastitis control in dairy herds*. In: CAB International. 1st Edition, UK: Oxford- shire.
- Boonyayatra, S., Fox, L.K., Gay, J.M., Sawant, A. & Besser, T.E. (2012). Discrimination between *Mycoplasma* and *Acholeplasma* species of bovine origin using digitonin disc diffusion assay, nisin disc diffusion assay and conventional polymerase chain reaction, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24, 7–13.
- Bradley, A.J. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, 164, 116-128.
- Bray, D.R. and Shearer, J.K. (2015). *Milking machine and mastitis control handbook*.
- Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, A. & Duchateau, L. (2003). Severity of *Escherichia coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research*, 34, 521–564.
- Çalışkan, Ç. (2010). *Laktasyondaki ineklerde nonrezidüel H₂O' nin intrasisternal uygulamasının subklinik mastitiste sağaltıcı etkinliği*. [Doktora Tezi]. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Canadian Bovine Mastitis Research Network (2016). *Improving udder health an aconomic gain*. Erişim tarihi: 12.06.2020.
- Cantekin, Z, Saidi, R., Solmaz, H. ve Ergun, Y. (2014). A duplex PCR for detection of *S. aureus* and *Staphylococcus* spp. from culture and bovine milk samples. *YYU Vet Fak Derg*, 25, 11-13.
- Cattel, M.B., Dinsmore, R.P. & Belschner, A.P. (2001). Environmental gram-positive mastitis treatment: in vitro sensitivity and bacteriologic cure. *J Dairy Sci*, 84, 2036–2043.
- Chebel, R. (2007). Mastitis effects on reproduction. *NMC Regional Meeting Proceedings*. California: School of Veterinary Medicine, University of California Davis Tulare.
- Cheng, W.N. and Han, S.G. (2020). Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments- A review. *Asian Australas J Anim Sci*, 33, 1699–1713.
- Cohen, J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement*, 20(1), 37-46.
- Crowley, B.P., Fisher, R. K., Getzh, K. & Johnson, R. (2012). Evaluation of the VITEK™ 2 Gram-negative (GN) microbial identification test card: collaborative study. *J AOAC Int*, 95(3), 778.
- Dairy Autralia Guide (2020). *Bacterial identiftication: What techniques can be used to identify bacteria other than traditional milk culture?* (ss. 1-15.) FAQ Sheet.
- Dalanezi, F.M., Joaquim, S.F., Guerra, S.T.& Langoni, H. (2020). Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows. *J Dairy Sci*, 103, 3648-3655.
- De Vlieghe, S., Fox, L.K., Piepers, S., McDougall, S. & Barkema, H.W. (2012). Invited review: mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *J Dairy Sci*, 95(3), 1025–1040.
- Djabri, B., Bareille, N. and Seegers, H. (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research* 33(4), 335–357.
- Driskell, J.D. and Tripp R.A. (2009). Emerging technologies in nanotechnology-based pathogen detection, *Clinical Microbiology Newsletter*, 31, 137–144.
- Duarte, C.M., Freitas, P.P.& Bexiga, R. (2015). Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *J Vet Diagn Invest.*, 27(6), 665–672.
- Elbehry, Y. A., Al-Dubaib, M. & Edrees, H. (2016). Performance of MALDI biotyper compared with Vitek™ 2 compact system for fast identification and discrimination of *Staphylococcus* species isolated from bovine mastitis. *Microbiol Open*, 5(6), 1061–1070.
- El-Sayed, A., Awad, W., Abdou, N.E. & Castaneda, H. (2017). Molecular biological tools applied for identification of mastitis causing pathogens, *International Journal Of Veterinary Science and Medicine*, 5, 89-97.
- Erdem, H. ve Atasever, S. (2004). Süt sığırlarında mastitisin tanımı, teşhisi ve korunma yolları. *Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fakültesi Derg*, 19(2), 100–108.
- Ergün, Y., Aslantaş, Ö., Doğruer, G. ve Cantekin, Z. (2004). Hatay İlindeki Aile Tipi Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Subklinik Mastitislerin Epidemiyolojisi. *Vet Bil Derg*, 20, 25-28.
- Ferguson, J.D., Azzora, G.& Licitra, G. (2007). Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily from 2000 to 2006. *J Dairy Sci*, 90, 5798-5813.

- Ferreira, J.C., Gomes, M.S. & Stewart, J.L. (2018) Comparative analysis of four commercial on-farm culture methods to identify bacteria associated with clinical mastitis in dairy cattle. *PLoS ONE*, 13(3), 1-15.
- Friedman, S., Shoshan, I.E. & Ezra, E. (2004). Ekonomical loses from clinical mastitis in 4 dairy herds in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 59, 1-2.
- Garcia, A. (2004). *Contagious vs. environmental mastitis* (ss.126). Extension Extra. http://openprairie.sdstate.edu/extension_extra/126. [2020 March 4].
- Gelgie, A., Korsaa, A. M. & Dego, O.K. (2022). *Mycoplasma bovis* mastitis. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100-123.
- Gey, Y. A., Werckenthin, C., Poppert, S. & Straubinger, R.K. (2013). Identification of pathogens in mastitis milk samples with fluorescent in situ hybridization, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25, 386–394.
- Gleeson, D., O'Brien, B., Flynn, J., O'Callaghan, E. & Galli, F. (2009). Effect of pre-milking teat preparation procedures on the microbial count on teats prior to cluster application. *Irish Vet J*, 62, 461- 467.
- Gonçalves, J.L., Tomazi, T., Barreiro, J.R., Beuron, D.C., Arcari, M.A., Lee, S.H. & Santos, V.M. (2016). Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *The Veterinary Journal*, 209, 87-92.
- Göncü, S. (2000). *Adana entansif süt sığırcılığı işletmelerinde yetiştirilen saf ve melez siyah alaca inek sütlerinde somatik hücre sayısına etki eden faktörler ve mastitis ile ilişkisi*. [Doktora Tezi]. Çukurova Üniversitesi.
- Griffoen, K., Velthuis, A.G.J., Lagerwerf, L.A., Heuvelink, A.E. & Lam, T.J.G.M. (2018). Agreement between four commercial diagnostic tests and routine bacteriological culture of milk to determine the udder infection status of dairy cows. *Prev Vet Med*, 157, 162–173.
- Gül, B. (2002). *Biyofilm, tolerans ve infeksiyon bölgesinde direnç* [Bildiri sunumu/Poster]. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı.
- Hansen, P., Sotop, P. & Natzke, R. (2004). Mastitis and fertility in cattle – possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *American Journal of Reproductive Immunology*, (51), 294–301.
- Harmon, R.J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 77, 2103–2112.
- Harmon, R.J., Eberhart, R.J., Jasper, D.E. & Wilson, R.A. (1990). *Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection*. National Mastitis Council Inc. VA, USA: Arlington,
- Haxhiaj, K., Wishart, S.D. & Ametaj, N.B. (2022). Mastitis: What It is, Current diagnostics, and the potential of metabolomics to identify new predictive biomarkers. *Dairy*, 3(4), 722-746.
- Heringstad, B., Klemetsdal, G. & Ruane, J. (2000). Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science*, 64, 95-106.
- Hertl, J.A., Grohn, Y.T., Leach, J.D., Welcome, F.L. & Schukken, Y.H. (2010). Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein Dairy Cows. *J Dairy Sc.*, 93, 1551–1560.

- Hogan, J. and Smith, K.L. (2003). Coliform mastitis. *Vet Res*, 34, 507-519.
- Hogewen, H., Huips K. & Lam, T.J.G.M. (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59, 1, 16-23.
- Hogewen, N.H., Kamphuis, C., Steeneweld, W. & Mollenhorst, T. H. (2010). Sensors and clinical mastitis the quest for the perfect alert. *Sensors*, 10(9), 7991–8009.
- Honkanen-Buzalski T. & Pyölä, S. (1995). *Monitoring and management of udder health at the farm. In: The bovine udder and mastitis* (ss. 332-3378). Ed.:Sandholm. M., Honkanen-Buzalski, T.H.Y., Kaartinen, L., & Pyölä. S. University of Helsinki, Finland.
- Hulsen, J., Lam, T. & Schukken, Y.H. (2013). Udder health, Large herd edition, A practical guide to first-rate udder health. Zutphen, The Netherlands: Roodbont Publishers.
- Hussein, H.A., Razik, K.A., Gomaa, A.M., Elbayoumy, M.K., Abdelrahman, K.A. & Hosein, H.I. (2018). Milk amyloid A as a biomarker for diagnosis of subclinical mastitis in cattle. *Veterinary World*, 11(1), 34–41.
- Janosi, S.Z. and Huzzenica, G. (2001). The use of the dry cow therapy in the control of bovine mastitis. *Vet Med Czech*, 46 (2), 55-60.
- Jones, G., Bork, O., Ferguson, S.A. & Bates, A. (2019). Comparison of an on-farm point-of-care diagnostic with conventional culture in analysing bovine mastitis samples. *Journal of Dairy Research*, 86, 222–225.
- Jones, G.F. and Ward, G.E. (1990). Evaluation of systemic administration of gentamicin for treatment of coliform mastitis in cows. *J Am Vet Med Assoc*, 97, 731–735.
- Jones, G.M. (2009). *Environmental streptococcal and coliform mastitis*. www.ext.vt.edu
- Jong, E.D., McCubbin, K.D., Speksnijder, D., Dufour, S., Middleton, J.R., Ruegg, P.L., Lam, T.J.G.M., Kelton, D.F., Kromker, V. & Barkema, H.W. (2023). Invited review: Selective treatment of clinical mastitis in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 106(6), 3761-3778.
- Kabelitz, T., Aubry, E., Van Vorst, K., Amon, T. & Fulde, M. (2021). The role of *Streptococcus* spp. in Bovine Mastitis. *Microorganisms*, 9, 1497.
- Kamphuis C., Sherlock R., Jago, J., Mein, G. & Hogeveen, H. (2008). Automatic detection of clinical mastitis is improved by in-line monitoring of somatic cell count. *J Dairy Sci*, 91(12), 4560–4570.
- Kandeel, S.A., Megahed, A.A., Arnout, F.K. & Constable, P.D. (2018a). Evaluation and comparison of 2 on-farm tests for estimating somatic cell count in quarter milk samples from lactating dairy cattle. *J Vet Intern Med*, 32(1), 506–515.
- Kandeel, S.A., Megahed, A.A., Ebeid, M.H., Constable, P.D. (2018b). Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, 102(2), 1417–1427.
- Kelton, D., Peterson, C., Leslie, K. & Hansen, D. (2001). *Associations between clinical mastitis and pregnancy on Ontario dairy farms* [Bildiri sunumu/Poster]. Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Canada.
- Khan, I.U., Hassan, A.A., Lammler, C., Wolter, W. & Zschock, M. (2003). Identification and epidemiological characterization of *S. uberis* isolated from bovine mastitis using conventional and molecular methods. *J Vet Scien*, 4, 213-224.

- Khan, S., Kuldeep, D., Ruchi, T., Musadir, B.G., Mohd. I.Y., Shailesh, K.P., Mamta, P. & Wanpen, C. (2021). Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 107-136.
- Khan, S., Kuldeeph, T., Musadir, B.G., Karam, P.S. & Wanpen, C. (2021). Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Vet Q*, 41(1), 107-136.
- Kirk, J., Mellenberger, R. (2013). *Mastitis control program for Pseudomonas mastitis in dairy cows*. Erişim adresi: http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/mastitis-control-program_pseudomonasmastitis.pdf, Erişim tarihi: 21.06.2020.
- Klaas, I.C. and Zodak, R.N. (2017). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transbound Emerg Dis*, 65(1), 166-185.
- Kock, J., Wente, N., Zhang, G. Y., Paduc, H., Leimbach, H. & Kromker, V. (2018). Accuracy of 12h-Petrifilm-plates as a rapid on-farm test for evidence-based mastitis therapy on a dairy farm in Germany. *Milk Science International*, 71, 10-13.
- Kour, S., Sharma, N., Balaji, N., Kumar, R.P., Soodan, J.S. & Santos, M.V.D, Son, Y.O. (2023). Advances in diagnostic approaches and therapeutic management in bovine mastitis. *Vet Sci*, 10, 449.
- Krishnamoorthy, P., Goudar, A.L., Suresh, K.P. & Roy, P. (2021). Global and countrywide prevalence of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle and buffaloes by systematic review and meta-analysis. *Res Vet Sci*, 136, 561–586.
- Krishnamoorthy, P., Suresh, K.P., Saha, S., Govindaraj, J. G. & Shome, B.R., R.O. (2017). Meta-Analysis of prevalence of subclinical and clinical Mastitis, major mastitis pathogens in dairy cattle in India. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 6, 1214–1234.
- Kromker, R.V. and Wente, N. (2020). *Streptococcus dysgalactiae*-Contagious or Environmental? *Animals*, 10, 2185.
- Kurt, T.S. and Eşki, F. (2021). Pathogen isolation and antibiogram analysis in dairy cows with clinical mastitis in Adana region, Turkey. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 32 (1), 20-26.
- Lago, A. and Godden, S.M. (2018). Use of Rapid Culture Systems to Guide Clinical Mastitis Treatment Decisions. *Vet Clin Food Anim*, 34, 389–412.
- Lago, A., Godden, S.M., Bey R., Ruegg P.L. & Leslie, K. (2011b) The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. *J Dairy Sci*, 94: 4457–4467.
- Lago, A., Godden, S.M., Bey. R., Ruegg, P.L. & Leslie, K. (2011a) The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *J Dairy Sci*, 94, 4441–4456.
- Langerhuus, S.N., Ingvarsen, K.L., Bennedsgaard, T.W. & Rontved, C.M. (2012). Gram-typing of mastitis bacteria in milk samples using flow cytometry. *J Dairy Sci*, 96, 267–277.
- Lee, K.H., Lee, J.W., Wang, S.W., Liu, L.Y., Lee, M.F., Chuang, S.T., Shy, Y.M., Chang, C.L., Wu, M.C. & Chi, C.H. (2008). Development of a novel biochip for rapid multiplex detection of seven mastitis-causing pathogens in bovine milk samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20, 463–47.

- Lee, P. (2017). DNA amplification in the field: move over PCR, here comes LAMP. *Molecular Ecology Resources*, 17, 138–141.
- Leimbach, S. and Krömker, V. (2018). Laboratory evaluation of a novel rapid tube test system for differentiation of mastitis-causing pathogen groups. *J Dairy Sci*, 101, 6357–6365.
- Leslie, K. (2006). *Mastitis prevention strategies for the dry period*. Erişim adresi: <http://www.nmconline.org/articles/dryperiod.htm>. Erişim tarihi: 19.06.2020.
- Leslie, K.E. and Petersson-Wolfe, C.S. (2012). Assessment and Management of Pain in Dairy Cows with Clinical Mastitis. *Vet Clin N Am-Food Anim Pract*, 28, 289–305.
- Lui, C., Cady, N.C. & Batt, C.A. (2009). Nucleic acid-based detection of bacterial pathogens using integrated microfluidic platform systems. *Sensors*, 9, 3713–3744.
- Lundberg, A., Nyman, A., Ericsson Unnerstad, H. & Persson Waller, K. (2014). Prevalence of bacterial genotypes and outcome of bovine clinical mastitis due to *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis*. *Acta Vet. Scand*, 56, 80.
- Malcata, F. B. P. T., Pepler, E. L., O'reilly, N. B., Eckersall, P. D., Zadoks R. N. & Viora, L. (2020). Point-Of-Care Tests For Bovine Clinical Mastitis: What Do We Have And What Do We Need? *J. Journal of Dairy Research*, 87(S1), 60–66.
- Mansion-De. V.E., Knorr, N., Paduch, J.H., Zinke, C., Hoedemaker, M. & Kromker, V. (2014). A field study evaluation of Petrifilm™ plates as a 24-h rapid diagnostic test for clinical mastitis on a dairy farm. *Preventive Veterinary Medicine*, 113 (4), 620–624.
- Mccarron, J.L., Keefe, G.P., Mckenna, S.L., Dohoo, I.R. & Poole, D.E. (2009) Evaluation of the University of Minnesota Tri-plate and 3M Petrifilm for the isolation of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* species from clinically mastitic milk samples. *J Dairy Sci*, 92, 5326–5333
- Mcdougall, S., Niethammer, J. & Graham, E.M. (2018). Antimicrobial usage and risk of retreatment for mild to moderate clinical mastitis cases on dairy farms following on-farm bacterial culture and selective therapy. *NZ Vet J*, 66, 98–107.
- Meiri-Bendek, I., Lipkin, E., Friedmann, A., Leitner, G., Saran, A., Friedman, S. & Kashi, Y. (2002). A PCR-Based method for the detection of *Streptococcus agalactiae* in milk. *J Dairy Sci*, 85, 1717–1723.
- Memmedova, N. (2012). *Süt sığırlarında mastitisin bazı yapay zeka yöntemleri kullanılarak erken dönemde tespiti*. [Doktora Tezi]. Selçuk Üniversitesi.
- Milne, M.H., Biggs, A.M. & Fitzpatrick J.L (2003). Use of clinical information to predict the characteristics of bacteria isolated from clinical cases of bovine mastitis. *Vet Rec*, 152, 615–617.
- Moore, D. and Kirk, J. (2005). Evaluation of factors that affect embryonic loss in dairy cattle. *Veterinarians School of Veterinary Medicine University of California Davis. Extension*, 226 (7), 1112–1117.
- Morin, D.E., Shanks, R.D. & McCoy, G.C. (1992). Comparison of antibiotic administration in conjunction with supportive measures versus supportive measures alone for treatment of dairy cows with clinical mastitis. *J Am Vet Med Assoc*, 213, 676–684.
- Moroni P., Nydam, D.V., Ospina, P.A., Scillieri-Smith, J.C., Virkler, P.D., Watters, R.D., Welcome, F.L., Zurakowski, M.J., Ducharme, N.G. & Yeager, A.E. (2018) *Diseases of the Teats and Udder*. In *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle* (ss. 389–465). Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp.:

- Mujawar, L.H., Moers, A., Norde, W. & Van Amerongen, A. (2013). Rapid mastitis detection assay on porous nitrocellulose membrane slides, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 7669–7676.
- Munoz, M.A., Ahlstrom, C. & Rauch, B.J. (2006). Fecal shedding of *Klebsiella pneumoniae* by dairy cows. *J Dairy Sci*, 89, 3425-3430.
- Murphy, S.C., Martin, N.H., Barbano, D.M. & Wiedmann, M. (2016). Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *J Dairy Sci*, 99, 10128–10149.
- Mutluer, B. (2001). Süt inekçiliğinde mastitis sempozyumu. 04-05 Mayıs, Burdur. Yayın Ünitesi 2, 1. Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi
- Neeser, N.L., Hueston, W.D. & Godden, S.M. (2006). Evaluation of the use of an on-farm system for bacteriologic culture of milk from cows with low-grade mastitis. *J Am Vet Med Assoc*, 228, 254–60.
- NMC. (2009). NMC recommended mastitis control program. Available online: www.nmconline.org/docs/NMCchecklistInt.pdf (accessed 25 August, 2023).
- NMC. (2017). *The Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*, 3rd edn. National Mastitis Council Inc, New Prague, Minnesota, USA.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28, E63.
- Ohnishi, M., Sawada, T., Hirose, K., Sato, R., Hayashimoto, M., Hata, E., Yonezawa, C. & Kato, H. (2011). Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from mastitis. *Vet Microbiol*, 154(1-2), 202-207.
- Oliver, S.P., Gillespie, B.E., Jayarao, B.M. (1998). Detection of new and persistent *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysgalactiae* intramammary infections by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *FEMS Microbiology Letters*, 160, 69-73.
- Oliver, S.P. and Pighetti, G.M. (2002). Mastitis Pathogens: Environmental Pathogens. *Encycl Dairy Sci*, 1728–1734.
- Ott, S. (1999). *Costs of herd-level production losses associated with subclinical mastitis in US Dairy Cows* (ss. 152 – 156). In Proceedings: 38th Annual meeting of National Mastitis Council. Arlington VA.
- Özdemir, M. (2005). Mastitisli inek sütlerinden *Staphylococcus* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 1, 1-12.
- Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J. & Ruegg, P.L. (2009). *Associations among milk quality indicators in raw bulk milk*. Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison 53706. American Dairy Science Association.
- Patil, M.P., Nagvekar, A.S., Ingole, S.D., Bharucha, S.V. & Palve, V.T. (2015). Somatic cell count and alkaline phosphatase activity in milk for evaluation of mastitis in buffalo. *Veterinary World*, 8(3), 363–366.
- Pedersen, L.H., Aalbaek, B., Rontved, C.M., Ingvarsen, K., Sorensen, N.S., Heegaard, P.M. & Jensen, H.E. (2003). Early pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to *Streptococcus uberis*. *J Comp Patho*, 128, 156- 164.

- Penterman, P.M., Holzhauer, M., Van Engelen, E., Smits, D., & Velthuis, A.G.J. (2022). Dynamics of *Mycoplasma bovis* in Dutch dairy herds during acute clinical outbreaks. *The Veterinary Journal*, 283.
- Perreten, V., Endimiani, A., Thomann, A., Wipf, J.R.K., Rossano, A., Bodmer, M., Raemy, A., Sannes-Lowery, K.A., Ecker, D.J., Sampath, R. & Bonomo, R.A. (2013). Evaluation of PCR electrospray-ionization mass spectrometry for rapid molecular diagnosis of bovine mastitis, *J Dairy Sci*, 96, 3611–3620.
- Petersson-Wolfe, C.S., Tholen, A.R., Currin, J. & Leslie, K.E. (2013). Practical methods for mastitis control. *WCDS Adv Dairy Technol*, 25, 341-358.
- Philpot, W.L.V. and Nickerson, S.C. (2000). *Winning the fight against mastitis*. Naperville: Wesffalia Surge Inc.
- Pinedo, P.J., Melendez, P., Villagomez-Cortes, J.A. & Risco, C.A. (2009). Effect of High Somatic Cell Counts on Reproductive Performance of Chilean Dairy Cattle. *J Dairy Sci*, 92, 1575–1580.
- Polat, B., Colak, A., Cengiz, M., Yanmaz, L.E., Oral, H., Bastan, A., Kaya, S. & Hayırlı, A. (2010). Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci*, 93(8), 3525-3532.
- Puerto, M.A., Shepley, E., Cue, R.I., Warner, D., Dubuc, J. & Vasseur, E. (2021). The Hidden Cost of Disease: Impact of the First Incidence of Mastitis on Production and Economic Indicators of Primiparous Dairy Cows. *J Dairy Sci*, 104, 7932–7943.
- Pumipuntu, N., Tunyong, W., Chantratita, N., Diraphat, P., Pumirat, P., Sookrung, N., Chaicumpa, W. & Indrawattana, N. (2019). *Staphylococcus* spp. associated with subclinical bovine mastitis in central and northeast provinces of Thailand. *Peer J*, 7, e6587.
- Pyorola, S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res*, 34, 565-578.
- Rainard, P., Foucras, G., Fitzgerald, J.R., Watts, J.L., Koop, G. & Middleton, J.R. (2018). Knowledge gaps and research priorities in *Staphylococcus aureus* mastitis control. *Transbound Emerg Dis*, 65, 149–165.
- Rajala-Schultz, P.J., Grohn, Y.T., McCulloch, C.E. & Guard, C.L. (1999). Effect of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci*, 82, 1213–1220.
- Randy, T., Dingwell, K.E., Leslie, Y.H., Schukken, J.M., Sargeant, L.L. & Timms, N. (2003). Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Can Vet J*, 44, 413–416.
- Rathod, P., Shivamurthy, V. & Desai A.R. (2017). Economic Losses Due to Subclinical Mastitis in Dairy Animals: A Study in Bidar District of Karnataka. *Indian J Vet Sci Biotechnol*, 13, 37–41.
- Rhoda, D.A. and Pantoja, J.C.F. (2012). Using Mastitis Records and Somatic Cell Count Data. *Vet Clin N Am-Food Anim Pract*, 28, 347–361.
- Ribeiro, M.G., Motta, R.G., Paes, A.C., Allendorf, S.D., Salerno, T., Siqueira, A.K, Fernandes, M.C & Lara, G.H.B. (2008). Peracute bovine mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 60 (2), 485-488.
- Richard, Z., Richard, S., José, F.G. & Leonardo, A.R. (2023). *Recent Developments on Mastitis-Treatment and Control*. Chapter: Attitudes, Social Influences and Decision-Making in the Choice of Antimicrobials for the Treatment of Bovine Mastitis (ss. 1-20.)

- Richardet, M., Solari, H.G., Cabrerave, M., Vissio, C., Agüero, D., Bartolomé, J.A., Bó, G.A., Boghi, C.L. & Larriestra, A.J. (2023). The Economic Evaluation of Mastitis Control Strategies in Holstein-Friesian Dairy Herds. *Animals*, 13, 1701.
- Roberson, J.R. (2003). Establishing treatment protocols for clinical mastitis. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19 (1): 223-234.
- Roberson, J.R. (2003). Treatment of Clinical Mastitis. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28 (2), 271–288.
- Roberson, J.R. (2007). *Treatment of severe clinical mastitis* (ss. 286–288). In: Proceedings of American College of Veterinary Internal Medicine Forum; Seattle (WA). Ontario (Canada): Content Management Corp.
- Roberson, J.R., Warnick, L.D. & Moore, G. (2003). Mild to moderate clinical mastitis: efficacy of intramammary amoxicillin, frequent milkout, a combined intramammary amoxicillin, and frequent milk-out treatment versus no treatment. *J Dairy Sci*, 87, 583–592.
- Rossi, R.S., Amarante, A.F., Correia, L.B.N., Guerra, S.T., Nobrega, D.B., Latosinski, G.S., Rossi, B.F., Rall, V.L.M. & Pantoja, J. (2018). Diagnostic accuracy of Somaticell, California mastitis test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. *J Dairy Sci*, 101(11), 10220–10229.
- Royster, E., Godden, S., Goulart, D., Dahlke, A., Rapnicki P, & Timmerman, J. (2014). Evaluation of the Minnesota Easy Culture System II Bi-Plate and Tri-Plate for identification of common mastitis pathogens in milk. *J Dairy Sci*, 11, 2013–7748.
- Royster, E., Godden, S., Goulart, D., Dahlke, A., Rapnicki, P. & Timmerman, J. (2014). Evaluation of the Minnesota Easy Culture System II Bi-Plate and Tri-Plate for identification of common mastitis pathogens in milk. *J Dairy Sci*, 97, 3648–3659.
- Ruegg, P.L. (2011). *Managing Mastitis and Producing Quality Milk* (ss. 345- 380). In Dairy Production Medicine; Risco, C.A., Retamal, P.M., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ, USA.
- Ruegg, P.L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J. Dairy Sci*, 100, 10381–10397.
- Şahin, M., Çolak, A., Otlı, S., Aydın, F., Genç, O., ve Güler, M. (1997). Kars yöresi ithal simental ineklerinde subklinik ve klinik mastitislerin görülme oranı ve etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. *Kafkas Üniv. Vet.Fak. Dergisi*, 3(1), 49-55.
- Saidi, R., Cantekin, Z., Khelef, D., Ergün, Y., Solmaz, H. & Kaidi, R. (2015). Antibiotic susceptibility and molecular identification of antibiotic resistance genes of *staphylococci* isolated from bovine mastitis in Algeria. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 21, 513-520.
- Saidi, R., Mimoune, N., Benaissa, M.H., Baazizi, R., Khelef, D. & Kaidi, R. (2019). Evaluation D'un Test De Diagnostic Rapide Des Mammites: Speed Mam Color. *Journal Algérien des Régions Arides*, 13(2), 140–152.
- Sandip, C., Kuldeep, D., Ruchi, T., Mohd, I.Y., Sandip, K.K., Rekha, K., Ashok, M., Palanivelu, M., Asok, K., Mithilesh, S., Rajendra, S., Vivek, K.G. & Wanpen, C. (2019). Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population review. *Veterinary Quarterly*, 39,1,76-94,
- Sandolm, M. (1995). Dedection of inflammatory changes in milk. *Gummerus Jyvaskyla Finland*, 3, 89-104.

- Sathiyabarathi, M., Jeyakumar, S., Manimaran, A., Jayaprakash, G., Pushpadass, H.A., Sivaram, M., Ramesha, K.P., Das, D.N., Kataktalware, M.A., Prakash, M.A. & Kumar, R.D. (2016a). Infrared thermography: a potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. *Veterinary World*, 9(10), 1075–1081.
- Sathiyabarathi, M., Jeyakumar, S., Manimaran, A., Jayaprakash, G., Pushpadass, H.A., Sivaram, M., Ramesha, K.P., Das, D.N., Kataktalware, M.A., Prakash, M.A. & Kumar, R.D. (2016). Infrared thermography: A potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. *Veterinary World*, 9, 1075-1081.
- Savaşan, S. ve Kaya, O. (2004). Sığır mastitislerinde Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin filtrasyon-boyama yöntemi ile çabuk tanısı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51, 29-34.
- Schrack, F., Hockett, M., Saxton, A., Lewis, M., Dowlen, H., & Oliver, S. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci*, 84, 1407-1412.
- Schroeder, J.W. (1997). *Mastitis control programs: Bovine mastitis and milking management* (ss. 1129-1130). North Dakota State University Extension Service.
- Seyrek, K. and İntaş, K. (1997). *Meme hastalıkları ders notu* (ss. 57-86). Bursa: Uludağ Üniversitesi Basım Evi .
- Sharif, A. and Muhammad, G. (2009). Mastitis control in dairy animals. *Pakistan Vet J*, 29, 145-148.
- Sharma, N., Singh, N.K. & Bhadwal, M.S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Australas. J Anim Sci*, 24, 429–438.
- Shim, E.H., Shanks R.D. & Morin D.E. (2008). Milk loss and treatment costs associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci*, **87(8)**, 2702–2708.
- Shook, G.E., Kirk, R.B., Welcome, F.L, Schukken, Y.H. & Ruegg, P.L (2017). Relationship between intramammary infection prevalence and somatic cell score in commercial dairy herds. *J Dairy Sci*, 100(12), 9691–9701.
- Silva, B.O., Caraviello, D.Z., Rodrigues A.C. & Ruegg, P.L. (2005). Evaluation of Petrifilm for the isolation of *Staphylococcus aureus* from milk samples. *J Dairy Sci*, 88, 3000–3008.
- Sinha M.K., Thombare, N.N. & Mondal, B. (2014). Subclinical Mastitis in Dairy Animals: Incidence, Economics, and Predisposing Factors. *Sci World J*, 523984.
- Sipka, A., Wieland, M., Biscarini, F., Rossi, R.M., Roman, N., Santisteban, C., Moroni, P. & Nydam, D. (2021). Short communication: Comparative performance of 3 on-farm culture systems for detection of mastitis pathogens interpreted by trained and untrained observers. *J. Dairy Sci*, 104, 4936–4941.
- Smith K.L. and Hogan J.S. (1999). *Managing dry cows to control mastitis* (pp.: 79-86.) Proceedings of the British Mastitis Conference.
- Stalberger, J.R., and Kesting, W.K. (1988). Peracute toxic coliform mastitis. *The Veterinary Student*, 50(16), 48-53.
- Taponen, J., and Myllys, V. (1995). *The economic impact of mastitis. The bovine udder and mastitis* (ss. 261-2649). Ed: Sandhom, M., Hankanen-Buzalksi, T., Kaartinen, L. and Pyörala S. Finland: Gummerus Kirjapaino Oy.

- Teich, K., Morlet, J. & Krömker, V. (2013). *Speed™ Mam Color - mastitis rapid test to pathogen differentiation and resistance testing for bovine practice - field trial results* [Bildiri sunumu/Poster]. 16th International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 5th to 8th June 2013, Berlin.
- Tmanova, L. (2003). *Detection of Mycoplasma bovis, Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae by PCR assay directly from milk*. [Doktora Tezi].
- Todhunter, D.A., Smith, K.L. & Hogan, J.S. (1995). Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci*, 78, 2366–2374.
- Türütoğlu, H., Ateşoğlu, A., Salihoğlu, H., ve Öztürk, M. (1995). Marmara bölgesi süt ineklerinde mastitise neden olan aerobik etkenler. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 26, 125-137.
- Türütoğlu, H., Mudul, Ş. & Türkmen, M. (2002). *Mastitisli inek sütlerinden izole edilen S. auerus etkenlerinde beta- laktamaz enzimi varlığı* (ss.1-15). Burdur: Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Raporu.
- Vaarst, M., Paarup-Laursen, B. & Houe, H. (2002). Farmers' choice of medical treatment of mastitis in Danish dairy herds based on qualitative research interviews. *J Dairy Sci*, 85, 992–1001.
- Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K. & O'kenney, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol*, 27, 486-493.
- Viora, L., Graham, E.M., Mellor, D.J., Reynolds, K., Simoes, P.B. & Geraghty, T.E. (2014). Evaluation of a culture-based pathogen identification kit for bacterial causes of bovine mastitis, *Veterinary Record*, 175, 89.
- Wallace, J.A., Bouchard, É., Descôteaux, L., Messier, S., Du Tremblay, D. & Roy, J.P. (2011) Comparison of results for commercially available microbiological media plates with results for standard bacteriologic testing of bovine milk. *American Journal of Veterinary Research*, 72, 1622–1630.
- Wellenberg, G.J., Van Der Poel, W.H.M. & Van Oirschot, J.T. (2002). Viral infections and bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 88.
- Wente, N., Grieger, A.S., Klocke, D., Paduch, J.H., Zhang, Y., Leimbach, S., Tho Seeth, M., Mansion-De Vries, E.M., Mohr, E. & Krömker, V. (2020). Recurrent mastitis–persistent or new infections? *Vet. Microbiol*, 244, 108682.
- Williams, A.M. and Collins, M.D. (1990). DNA fingerprinting of *Streptococcus uberis* based on polymorphism of DNA encoding rRNA. *Letters in Applied Microbiology*, 12, 23-28.
- Wolska, K., Bukowski, K., Anusz, Z. & Jakubczak, A. (1999). Bacterisidal activity of human, swine and cattle serum against *Pseudomonas aeruginosa*. *Strains. Med Dosw Microbiol*, 51 (3-4), 399-445.
- Zadoks, R.N., Middleton, J.R., McDougall, S., Katholm, J. & Schukken, Y.H. (2011). Molecular Epidemiology of Mastitis Pathogens of Dairy Cattle and Comparative Relevance to Humans. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*, 16, 357–372.
- Zaninelli, M., Redaelli, V., Luzi, F., Bronzo, V., Mitchell, M., Dell'orto, V., Bontempo, V., Cattaneo, D. & Savoini, G. (2018). First evaluation of infrared thermography as a tool for the monitoring of udder health status in farms of dairy cows. *Sensors*, 18(3), 862.

Zdanowicz, M., Shelford, J.A., Tucker, C.B., Weary, D.M. & Von Keyserlingk, M.A.G. (2004). Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. *J Dairy Sci*, 87, 1694-1701.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba OĞUZ

1. Öğrenim Durumu

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Doğum ve Jinekoloji Doktora Programı (18.07.2023 – Halen, GANO: 3,44)

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Hekimliği Bölümü (15.09.2013- 04.06.2018, GANO: 3,43)

Mobil Anadolu Lisesi (13.09.2009- 15.06.2013, Sayısal, GANO: 89)

2. Ünvanları

Veteriner Hekim

3. Mesleki Deneyimi

Türkiye Jokey Kulübü Ankara 75. Yıl Hipodrom Müdürlüğü, Spor ve Yarış Atları Veteriner Hekimi (06.08.2018 -19.01.2020)

Eryaman İhtisas Veteriner Kliniği, Veteriner Hekim (02.02.2020- 14.04.2020)

Hasvet Medikal Yazılım Sağlık Hizmetleri A.Ş., Yönetim Kurulu Başkanı Asistanı (12.10.2020- 01.06.2023)

İnosante Medikal A.Ş., İş Geliştirme Müdürü (07.07.2021 – Halen)

4. Yayınları

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

SARIÇAM İNCE SEYYİDE, BAŞTAN AYHAN, SALAR SEÇKİN, DİKMEOĞLU EZGİ, **OĞUZ TUĞBA**, AKAN MEHMET (2021). Detection of Bacterial Isolation and Antimicrobial Resistance Profiles in Goat Mastitis. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 27(6), 741-747., Doi: 10.9775/kvfd.2021.26239

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

SALAR SEÇKİN, KAYA BAVER, SÖKMEN İREM, ÇALIŞICI OĞUZ, ÇALIŞICI DUYGU, DİKMEOĞLU NEMUTLU EZGİ, **OĞUZ TUĞBA**, BAŞTAN AYHAN (2021). The effects of individual traits on the effectiveness of Ovsynch combined with intravaginal progesterone in cyclic and non-cyclic Holstein and Simmental dairy heifers. IV. International Congress of Fertility and Mastitis in Dairy Farms (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

SARIÇAM SEYYİDE, BAŞTAN AYHAN, SALAR SEÇKİN, DİKMEOĞLU EZGİ, **TUĞRUL TUĞBA**, AKAN MEHMET (2020). Keçi mastitisinde bakteriyel etiyoloji ve antimikrobiyal direncin tespiti. 14. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

