

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK VE SUBKLİNİK MASTİTİSTE *STAPHYLOCOCCUS*
***AUREUS*' UN KÜLTÜREL VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ VE**
İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Faruk ÖKSÜZ

DANIŞMAN

DOÇ. DR. AYŞE EBRU BORUM

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.14

Proje No: 2023/149 -Balıkesir Üniversitesi BAP

BALIKESİR

2025



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde **Faruk ÖKSÜZ** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

“Klinik ve Subklinik Mastitiste *Staphylococcus aureus*’ un Kültürel ve Moleküler Teşhisi ve İzolatların Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi”

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15 / 01 / 2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Ziya İLHAN
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Doç. Dr. Ebru Ayşe BORUM
Balıkesir Üniversitesi
Üye (Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Semiha YALÇIN
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 24/01/2025 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

24/01/2025

Faruk ÖKSÜZ

TEŐEKKÜR

Tez çalıőmamın, araştırılması ve yürütölmesi esnasında, değerli zamanını ve bilgilerini benimle paylaşan kıymetli danışman hocam; Sayın Doç. Dr. Ayşe Ebru BORUM başta olmak üzere. Bana bilimsel katkılarını esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi ve Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ziya İLHAN. Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Zeynep KARAPINAR hocama. Bana laboratuvarını aan Balıkesir Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği Yönetim Kuruluna ve Yüksek Lisans yolculuğına baőlamamda bana cesaret aőılayan, destek olan Balıkesir Üniversitesi Kepsut Meslek Yüksek Okulu Müdürü aynı zamanda Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Anatomi Anabilim dalı öğretim üyesi, Prof. Dr. şükrü Hakan ATALGIN hocama. Ve desteklerini her zaman arkamda hissettiğim, canımdan çok sevdiğim eőim Hatice ÖKSÜZ, kızlarım Deren ÖKSÜZ ve Selen ÖKSÜZ' e sonsuz teőekkür ve őükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sığır Mastitis Hastalığının Tanımı	3
2.2. Sığır Mastitisi Risk Faktörleri	5
2.2.1. Patojen Faktörler	5
2.2.2. Konakçı Faktörü	6
2.2.2.1. Islah ve Genetik	6
2.2.2.2. Meme Yapısı	6
2.2.2.3. Yaş	6
2.2.2.4. Kuru Dönem	6
2.2.2.5. Konakçının Beslenme Stresi ve Bağışıklık Sistemi	7
2.2.2.6. Sağım Sistemi ve Hijyen	7
2.2.3. Çevresel Faktörler.....	7
2.3. Sığır Mastitis Enfeksiyonun Bulaşması	8
2.4. Sığır Mastitis Türleri	9
2.4.1. Bulaşma Şekillerine Göre Mastitis Türleri	9
2.4.1.1. Klinik Mastitis	10
Akut Mastitis	11
Perakut Mastitis.....	11
Subakut Mastitis.....	11
2.4.1.2. Subklinik Mastitis.....	12
2.4.1.3. Kronik Mastitis.....	13
2.4.2. Çevresel Mastitis.....	13

2.4.3. Yaz Mastitisi.....	15
2.5. Sığır Mastitis Enfeksiyonuna Neden Olan Başlıca Patojenler	15
2.5.1. <i>S. aureus</i> ' Taksonomisi.....	17
2.5.2. <i>S. aureus</i>	17
2.5.3. Koagülaz Negatif <i>Staphylococcus</i> spp. (KNS)	20
2.6. Sığır Mastitis Tanı Yöntemleri	21
2.6.1. Geleneksel Saha Testleri	22
2.6.2. Somatik Hücre Sayımı	22
2.6.3. İn Vitro Kültüre Dayalı Tanı	23
2.6.4. PCR	23
2.6.4.1. Multipleks PCR	23
2.6.4.2. Real-Time PCR	24
2.6.5. Yeni Teşhis Araçları Olarak Dolaşımdaki miRNA.....	24
2.6.6. İmmünoassay	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Gereç	25
3.2. Yöntem	25
3.2.1. California Mastitis Testi (CMT).....	25
3.2.2. Süt Örnekleri	25
3.2.3. Stafilokok İzolasyonu	26
3.3. İdentifikasyon	26
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	27
3.5. Antibiyogram Testi	27
3.6. Somatik hücre sayımı	27
4. BULGULAR	29
4.1. CMT	32
4.2. Bakteri İzolatları	33
4.3. Mikroskopik İnceleme Sonuçları	35
4.4. Biyokimyasal Test Sonuçları	35
4.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi	36
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ	44
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖZET

KLİNİK VE SUBKLİNİK MASTİTİSTE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*' UN KÜLTÜREL VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ VE İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Çalışmada materyal olarak Balıkesir İlindeki bir süt işletmesinin 4 farklı sürüsünde bulunan toplam 305 adet sağmal inek, klinik olarak muayene edilmiştir. Hayvanların her meme lobundan ayrı olarak alınan toplam 1.220 adet süt örneği, California mastitis testiyle (CMT) test edilmiştir. CMT sonucunda 1, 2 ve 3 olarak skorlanan hayvanların ilgili meme loblarından laboratuvar alanalizleri için süt örnekleri alınmıştır. 107 (%8.77) adet örnek pozitif olarak değerlendirilmiştir. CMT pozitif 107 örnek, 100 adet hayvandan alınmıştır. CMT pozitif tüm örnekler, somatik hücre sayısı bakımından da analiz edilmiştir. Mastitis enfeksiyonu şüpheli sütler için somatik hücre sayımları (SHS) Bentley FTS/FCM Combi 400 Cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. 200.000 hücre/mL'ye eşit veya daha yüksek sayımlar, yaygın olarak subklinik mastitisli hayvanların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir..

CMT pozitif sonuç veren toplam 107 adet süt örneği izolasyon amaçlı kullanılmıştır. Örnekler %7 koyun kanlı agara inoküle edilerek, 37°C'de ve aerobik koşullarda 1-3 gün inkübe edilmiştir. Aynı zamanda şüpheli örneklerden mannitol salt agar (MSA), Saboraud dextrose agar'a (SDA) ekimler yapıldı. MSA ve MacConkey agar'lar 37°C'de ve aerobik koşullarda 1-3 gün inkübe edilmiştir. SDA'a ekimler iki seri olarak yapıp, bir seri 25°C'de diğer seri ise 37°C'de 7 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyonu takiben kanlı agarda üreyen koloniler öncelikle makroskopik ve mikroskopik morfolojileri yönünden incelenmiştir. Gram pozitif koklar konvansiyonel testlerle identifiye edilmiştir. Bu amaçla katalaz, koagülaz, çeşitli karbonhidrat fermantasyon testleri, eskulin, indol, metil red, üre ve sitrat testleri gerçekleştirilmiştir. MSA ve MacConkey agara yapılan ekimlerde koloni morfolojisi dikkate alınmıştır. 107 süt numunesinden toplam 156 izolat elde edilmiştir. Miks olarak izole edilen izolat sayısı 83 (%53.20), saf kültür olarak izole edilen etken sayısı ise 73 (%46.79) olarak bulunmuştur.

S. aureus dışında izole edilen türler *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Bacillus* spp. ve maya olarak identifiye edilmiştir. İzolatların *Staphylococcus* spp. olarak identifikasyonlarının doğrulanması amacıyla konvansiyonel PCR çalışması yapılmıştır. Bu amaçla cins spesifik primerler (756 bp) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan izolatların fenotipik olarak identifikasyonları sonucunda *Staphylococcus* spp. şüpheli izolatların tümü %100'ü *S. aureus* olarak identifiye edilmiştir. Tüm izolatların *Staphylococcus* spp. 16S rRNA (geni (756 bp) içerdiğinin belirlenmesiyle identifikasyon doğrulanmıştır.

İzole edilen toplam 24 adet *S. aureus* suşu brain heart infusion brothta (BHIB) (1.10493.0500, Merck) üretilip (McFarland No:0.5), Mueller-Hinton agar (MHA)'da (1.05437.0500, Merck) antibiyogram testi yapılmıştır. Test, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır (Bauer ve vd., 1966). Teste sefoperazon (75 µg, Oxoid), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, Oxoid), oksitetrasiklin (30 µg, Oxoid), penisilin G (10 µg, Oxoid), sulphametaxazole/trimethoprim (25 µg, Oxoid), enrofloksasin (5 µg, Oxoid), vankomisin (30 µg, Oxoid), gentamisin (10 µg, Oxoid), eritromisin (15 µg, Oxoid) ve sefalotin (30 µg, Oxoid) kullanılmıştır (CLSI, 2017). İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonucunda oluşan zon çapları CLSI (2019)'a uygun olarak değerlendirilmiştir. İzolatlar arasında, en yüksek direnç %80.76 (n=21) ile penisilin G'ye karşı olduğu, daha sonra sırası ile %73.07 (n=19) eritromisin, %65.38 (n=17) gentamisin, %46.15 (n=12) enrofloksasin ve %42.30 oksitetrasiklin (n=11) olarak belirlenmiştir. İzolatların en duyarlı olduğu antibiyotik %69.23 ile (n=18) sefoperazon olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla %65.38 ile (n=17) sefalotin, %61.53 ile (n=16) amoksisilin/klavulanik asit, %53.84 ile (n=14) vankomisin ve trimetoprim/sulfametoksazol olarak belirlenmiştir. Çalışmada izole edilen 26 *S. aureus* suşunun 4 tanesinin (%15.38) çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu tespit edilmiştir. Üç tane izolatın 3 farklı antibiyotik sınıfına, 1 izolatın ise 4 farklı antibiyotiğe dirençli olduğu belirlenmiştir. Toplam 22 izolatın ise çoklu antibiyotik direncine sahip olmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sığır, mastitis, patojen, izolasyon, identifikasyon.

ABSTRACT

CULTURAL AND MOLECULAR DIAGNOSIS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN CLINICAL AND SUBCLINICAL MASTITIS AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SENSITIVITIES OF ISOLATS

In addition to *S. aureus*, the following species were identified: *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Bacillus* spp. and yeast. A conventional PCR study was performed in order to confirm the identification of the isolates as *Staphylococcus* spp. For this purpose, genus-specific primers (756 bp) were used. As a result of the phenotypic identification of the isolates used in the study, 100% of all *Staphylococcus* spp. suspected isolates were identified as *S. aureus*. The identification of all isolates as *Staphylococcus* spp. was confirmed by determining the 16S rRNA (gene (756 bp) value. A total of 24 *S. aureus* strains were isolated and produced (McFarland No: 0.5) in brain heart infusion broth (BHIB) (1.10493.0500, Merck) and an antibiogram test was performed on Mueller-Hinton agar (MHA) (1.05437.0500, Merck). The test was performed according to the Kirby-Bauer disk diffusion method (Bauer et al., 1966). The test was performed with cefoperazone (75 µg, Oxoid), amoxicillin/clavulanic acid (20/10 µg, Oxoid), oxytetracycline (30 µg, Oxoid), penicillin G (10 µg, Oxoid), sulfamethoxazole/trimethoprim (2 5 µg, Oxoid), enrofloxacin (5 µg, Oxoid), vancomycin (30 µg, Oxoid), gentamicin (10 µg, Oxoid), erythromycin (15 µg, Oxoid) and cephalothin (30 µg, Oxoid) were used (CLSI, 2017). The zone diameters of the isolates as a result of the antibiotic test were evaluated in accordance with CLSI (2019). The isolates exhibited varying degrees of resistance to the different antibiotics. The highest resistance was determined to be to penicillin G, with 80.76% (n=21) of the isolates being resistant. This was followed by erythromycin, with 73.07% (n=19) of the isolates being resistant. Other antibiotics that were effective against the isolates included gentamicin, with 65.38% (n=17) of the isolates being resistant, enrofloxacin, with 46.15% (n=12) of the isolates being resistant, and oxytetracycline, with 42.30% (n=11) of the isolates being resistant. The antibiotic to which the isolates demonstrated the greatest sensitivity was identified as cefoperazone, with 69.23% (n=18) of isolates exhibiting sensitivity to this agent. This was followed by cephalothin with 65.38% (n=17), amoxicillin/clavulanic acid

with 61.53% (n=16), vancomycin and trimethoprim/sulfamethoxazole with 53.84% (n=14). It was determined that four of the 26 *S. aureus* waters isolated in the study (15.38%) exhibited multiple antibiotic resistance. Of the 3 isolates exhibiting resistance to three different antibiotic classes, one isolate demonstrated resistance to four different antibiotics. Concurrent studies are being conducted on a total of 22 isolates that do not demonstrate multiple antibiotic resistance.

Key Words: *Cattle, mastitis, pathogen, isolation, identification.*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMC	: Amoksisilin / Klavulanik Asit
AMR	: Antimikrobiyal Direnç
BHIB	: Brain-Heart Infusion Broth
BTSCC	: Süt Tankı Somatik Hücre Sayısı
CFP	: Cefaperazone
CFX / K	: Sefalekssin / Kanamisin
CLSI	: Klinik Laboratuar Standartları Enstitüsü
CNS	: <i>Koagülaz Negatif Stafilokoklar</i>
CMT	: Kalifornia Mastitis Testi
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotid Trifosfat
EMB	: Eosin Methylene Blue Agar
HCl	: Hidrojen Klorür
IMI	: Meme içi enfeksiyonu
KA	: Kanlı Agar
KOH	: Potasyum hidroksit
MCA	: MacConkey Agar
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MSA	: Mannitol Salt Agar
MR-VP	: Metil Red-Voges Proskauer Medium
N	: Neomycin
NB	: Nutrient Broth
NBT	: Neomisin / Basitrasin / Tetrasiklin
OT	: Oksitetrasiklin
P	: Penisilin G

PBP	: Penisilin Bağlayıcı Proteinler
PCR	: Polimeraz Zincir Tepkimesi
RFLP	: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
SHS	: Somatik Hücre Sayısı
SSA	: Simmons Sitrat Agar
TB	: Tryptophan Broth
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Broth

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Memenin Anatomik Yapısı.....	4
Şekil 2. Sığır Mastitisinin Sınıflandırılması	9
Şekil 3. Klinik Semptomlarına Göre Farklı Mastitis Tiplerinin İnsidensi	11
Şekil 4. Farklı Besi Yerlerinde Mikroorganizmaların Görünümleri	21
Şekil 5. Somatik Hücre Sayımında Kullanılan Cihaz Bilgisi.....	28
Şekil 6. Sahada CMT Uygulaması Yapılma Anı.....	33
Şekil 7. PCR Sonucu	34
Şekil 8. MSA Agarda <i>Staphylococcus aureus</i> Kolonilerinin Görüntüsü	35
Şekil 9. Antibiyotik Duyarlılık Testi Uygulama Anı	36

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Mastitis Enfeksiyonuna Neden Olan Patojenlerin Sınıflandırılması	16
Tablo 2. Çalışmamızda Kullanılan Oligonükleotid Primer Dizilileri.....	27
Tablo 3. Somatik Hüce Sayım Sonuçları	29
Tablo 4. Tarama Sonrası CMT Sonuçları.....	32
Tablo 5. Çiftlikte CMT Uygulama Sonrası Oransal Durum	33
Tablo 6. İzole Edilen Mikroorganizmaların Yüzdalık Dağılımı	34
Tablo 7. Antibiyotik Duyarlılık Testi Oranları	37

1. GİRİŞ

Dünyada yaklaşık 220 milyon süt sığırı (Song vd., 2020)., ülkemizde ise 2024 TÜİK verilerine göre, toplamda 16 milyon 396 bin baş sığır yetiştirilmektedir (TUIK, 2024). Süt ve süt ürünleri, dünya nüfusunun büyük bir kısmı için en temel gıda kaynakları arasındadır. Süt ürünlerine yönelik artan küresel talep, inek başına ortalama süt verimini artırma ihtiyacını artırmaktadır. Ülkemizde 2023 TÜİK verilerine göre 21 milyon 481 bin 567 ton süt üretiminin 19 milyon 961 bin 908 litresini inek sütü oluşturmaktadır (TUIK,2023). Ülkemizde çiğ süt üretiminin %92,9' nu inek sütü oluşturmaktadır. Yüksek süt verimini etkileyen en önemli sorunlardan biri mastitis enfeksiyonu dolayısıyla da kötü meme sağlığıdır (Cobirka vd., 2020). Mastitis çok faktörlü bir hastalıktır ve genellikle çeşitli faktörlerin etkileşiminden kaynaklanır (Rani vd., 2022).

Mastitis, dünya çapında süt endüstrisi için ekonomik kayıp yönünden ve hayvan sağlığı açısından önemli bir hastalıktır. Klinik mastitis, prevalansının farklı ülkelerde 17-48 vaka /100 inek (yaklaşık %30), subklinik mastitisin küresel prevalansının ise ortalama %15 - 75 arasında değiştiği bildirilmektedir (Song vd., 2020). Mastitis, süt üretiminde ve çiftliklerin gelirinde ciddi bir düşüşe neden olur. Bu hastalıktan etkilenen inekler, önemli ekonomik kayıplara ve refah sorunlarına da neden olmaktadır (Rani vd., 2022).

Mastitisin özellikle subklinik formu uzun süre tespit edilemediğinden ekonomik açıdan çok daha önemli hale gelmektedir. Çünkü ekonomik kaybın %70-80'i subklinik mastitislerden kaynaklanmaktadır (Rani vd., 2022).

Mastitis, sonucu ortaya çıkan ekonomik zararlar; süt veriminde düşüş, sağılan sütün kullanılmasının uygun olamaması sonucu atılması, süt kalitesinde meydana gelen bariz azalma, veteriner hekim hizmetlerindeki yüksek mali artış, harcanan emek, mastitisli hayvanların sürüden ayrılmasıyla hayvanların mali değerinin düşmesi ve mastitis hakkında çiftliklerdeki kontrol ve koruma tedbirlerinin getirdiği ek tedbir ve giderler olarak sıralanmaktadır (Rani vd., 2022).

Halk sağlığı yönünden ele alındığında süt ve süt ürünlerinde mastitisten dolayı bulunan patojen mikroorganizmaların insanlara bulaşma riski vardır (Cobirka vd., 2020). Mastitis ve sağlık arasındaki ilişkide diğer önemli hususlardan birisi de, mastitis tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin sütte kalıntı

bırakabileceğinin bilinmesidir. Sütteki bu antibiyotik kalıntıları sütün kalitesini etkilediği gibi insan sağlığını da tehdit ettiği çeşitli araştırmalarda da gösterilmiştir. Bu antibiyotik kalıntıları insanlarda alerjik reaksiyonlara ve antibiyotiklere dirençli suşların gelişimine yol açmaktadır (Cobirka vd., 2020).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), subklinik ve klinik mastitis vakalarında en sık karşılaşılan kronik mastitis etkenlerinden biridir. Mastitis vakaları genellikle subklinik olup süt ve memede gözle belirlenebilir değişiklikler oluşturmaz. Subklinik mastitisler sürüdeki diğer hayvanlar için önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Subklinik mastitislerin klinik mastitislerden daha sık görülmesi hem ekonomik hem de sürü içinde yayılması nedeniyle önem taşır (Khan ve Khan; 2006). Günümüzde *S. aureus* kaynaklı sığır mastitis vakalarının yaygın olması, yetiştiricilerin sürüdeki enfekte hayvanları belirleyememesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca teşhisteki yetersizliklere bağlı olarak tüm enfeksiyonların belirlenememesi ve birçok antibiyotik tedavi uygulamaları sonucunda ortaya çıkan antibiyotik dirençliliği yüzünden başarılı olamamaktadır (Mullarky vd., 2001).

Ayrıca ineklerin mastitisten korunmasında ve tedavisinde bilinçsiz antibiyotik kullanımı oldukça yaygındır. Bu durum antibiyotik dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle antibiyotiklere dirençli bakterilerin tespiti özellikle de *S. aureus*'ların belirlenmesi oldukça önemli hale gelmektedir (Erskine vd., 2003; Petersson-Wolfe vd., 2010).

2. GENEL BİLGİLER

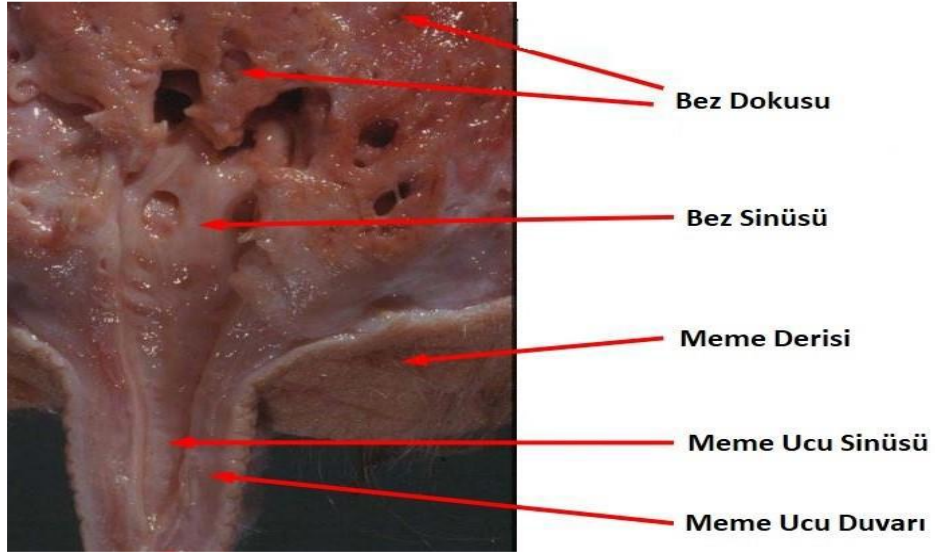
2.1. Sığır mastitis hastalığının tanımı

Terim olarak mastitis, Yunanca Mammae veya Mastos kelimesinden türetilmiştir ve sırasıyla meme ve iltihaplanma anlamına gelir (Rani vd., 2022). Mastitis, süt sığırlarında en yaygın ve önemli hastalıklardan biri olup, süt endüstrisinde büyük kayıplara yol açmaktadır. Mastitis, meme bezindeki mekanik, kimyasal veya termal travma veya mikroorganizmaların meme üzerindeki enfeksiyonlarına bağlı olarak meme bezi parankiminin iltihaplanması olarak tanımlanır (Sarma ve Hussain, 2021).

Sığır mastitisleri çeşitli formlarda ortaya çıkan meme bezi yangısı olup önemli ekonomik kayıplara neden olmakla birlikte hayvan refahını da olumsuz şekilde etkilemektedir (Şekil 1). Mastitisin ortaya çıkışında mikrobiyel, çevresel ve hayvana bağlı birçok faktör etkili olup insidens de değişiklik göstermektedir. Mastitisin en önemli nedenleri arasında bakteriyel etkenler ilk sırada yer almaktadır (Baştan, 2007).

Mastitis çok faktörlü bir hastalıktır ve genellikle çeşitli faktörlerin etkileşiminden kaynaklanır (Rani vd., 2022). Mastitis, 150'den fazla organizma türünün neden olduğu çok etiyolojili kompleks bir hastalıktır (Kuang vd., 2009; Watts, 1988). Bakteriler (*Aerobacter aerogenese*, *Campylobacter jejuni*, *Corynebacterium bovis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycobacterium bovis*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Trueperalla pyogenes* vb.), aktinomisetler (*Nocardia asteroides*), mantarlar (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Pichia farinose*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces fragillis* ve *Trichosporon beigeli*), *Mycoplasma* spp., virüsler ve algler (*Prototheca* spp.) sebep olmaktadır (Gudmundson ve Chirino-Trejo, 1993; Jensen vd., 1996;

Kulkarni ve Kaliwal, 2013; Pal ve Mehrotra, 1983; Pal ve Lee, 1997; Pal vd., 2017; Watts, 1988; Wellenberg vd., 2002).



Şekil 1. İnek memesinin anatomik yapısı (Özdemir, 2018).

Meydana gelen mastitis enfeksiyonlarının %90'ı bakteriyel kökenlidir. Patojenik bakteriler, meme bezinin iltihaplanmasından, süt üreten dokuların tahrip edilmesinden ve süt kalitesindeki değişikliklerden büyük ölçüde sorumludur. Tüm dünyada süt ürünleri işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara ve gıda güvenliği konusunda problemlere sebep olur (Rani vd., 2022).

Etken olan tüm bakteri türleri arasında *E. coli*, *Klebsiella* spp. ve *Pseudomonas* türleri mastitisin klinik formuna yol açar. *Streptococcus agalactiae* spp. üyeleri, mastitisin subklinik formlarından büyük ölçüde sorumluyken, *S. aureus* her iki mastitis formuna da neden olabilir (Rani vd., 2022).

2.2. Sığır mastitis risk faktörleri

2.2.1. Patojen faktörler

Bakteriyel meme içi enfeksiyonun (IMI), sığır mastitisinin ana nedeni olduğu düşünülmektedir. Sığır mastitisine neden olan etkenlerin çoğunluğunu bakteriler

oluşturur. Bu bakteriyel enfeksiyonlar, bakteriyel kökenli, bulaşıcı ve çevresel olmak üzere 2 tipte sınıflandırılabilir (Lakew vd., 2019). Bulaşıcı mastitis, özellikle sağım sırasında inekten ineğe bulaşabilen mastitisi ifade eder (Schreiner ve Ruegg, 2002). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) gibi bulaşıcı patojenler ve *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) ve *Corynebacterium* spp. gibi daha az yaygın olan türler, ineğin meme ve meme başı derisinde yaşar, kolonize olur ve meme başı kanalına doğru gelişir (Kibebew, 2017). Bunlar, genellikle Somatik hücre sayısında (SHS)'de bir yükselme ile birlikte subklinik enfeksiyonlar oluşturma kapasitesine sahiptir. SHS, IMI enfeksiyonunun önemli bir göstergesidir ve lökositlerden (yani nötrofiller, makrofajlar, lenfositler ve eritrositler) ve epitel hücrelerinden oluşur (Sharma vd., 2011). Bulaşıcı enfeksiyonlar, rezervuarlar ve enfekte olmayan inekler arasındaki temasın azaltılmasıyla kontrol edilebilir. Bu nedenle, sağım ekipmanının uygun şekilde bakımı, sağım sonrası meme dezenfeksiyonu, itlaf ve kuru dönem tedavisi bulaşıcı enfeksiyonları önlemek için önemlidir (Sharma vd., 2011).

Sığır mastitisinde bulaşıcı patojenlerin aksine, çevresel patojenler genellikle ineğin meme ve meme derisi üzerinde yaşamazlar; bunun yerine çiftliklerde büyükbaş hayvan altlıklarında ve barınaklarında bulunurlar. Fırsatçı patojenler olarak da tanımlanırlar. İneğin doğal bağışıklığının zayıf olduğu durumlarda klinik mastitise neden olabilirler. *E. coli* veya *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) gibi çevresel patojenler ineğin memesini istila eder ve çoğalır, konakçının bağışıklık tepkisini uyarır ve hızla ortadan kaldırılır (Bradley, 2002). *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., vb. gibi birçok bakteri türünün çevresel mastitise neden olduğu rapor edilmiştir (Bogni vd., 2011). Çevresel enfeksiyonun kontrolü, meme uçlarının çevresel patojenlere maruz kalmasının azaltılması, antibiyotik uygulaması ve aşılama yoluyla ineğin IMI'ya karşı direncinin artırılması sağlanabilir (Smith ve Hogan, 1993).

2.2.2. Konakçı faktörü

2.2.2.1. Islah ve genetik

Genetik faktörler ve süt ineği yetiştiriciliği mastitis duyarlılık veya direnç üzerinde etkilidir. Saf yüksek verimli sığırların cinsi veya melezi, özellikle de

Holstein-Friesian sığırları, orta verim veren ırklara göre mastitise karşı genetik olarak daha duyarlıdır. Ayrıca, çok doğum yapan inekler, immün yetmezlik nedeniyle ilk doğumunu yapan ineklere göre IMI'ya karşı daha duyarlıdır (Shaheen vd., 2016).

2.2.2.2. Meme yapısı

Memenin yapısı da enfeksiyona yatkınlığı etkiler. Buzağı doğumundan sonra büyük huni biçiminde meme uçları, sarkık ve büyük meme yapısı veya meme başları körleşmiş olan sığırlar, subklinik mastitis açısından daha büyük risk altındadır (Persson vd., 2014).

2.2.2.3. Yaş

Enfeksiyonları etkileyen bir diğer faktör ise yaştır. Yaşlı inekler enfeksiyonlara karşı daha duyarlıdır, bunun nedeni büyük olasılıkla sık sağım sonucu meme kanalının daha geniş veya kalıcı olarak meme sfinkterinin kısmen açık olmasıdır (Kibebew, 2017). Ayrıca, yaşlı ineklerin meme epitelinin geçirgenliği, daha önceki inflamasyonların neden olduğu geri dönüşü olmayan hasar nedeniyle artmıştır (Król, vd., 2013).

2.2.2.4. Kuru dönem

Kuru dönem, ineklerde memenin sağlığını etkileyen en önemli dönemlerden biri olarak kabul edilir ve aynı zamanda mastitis riskinin de çok arttığı bir dönemdir (Drackley, 1999). Araştırmacılar IMI'ların doğumda ve laktasyonun ilk ayında diğer dönemlere göre daha fazla ortaya çıktığını gösterdi. Bu dönemde ineğin fizyolojik, metabolik ve hormonal durumunda, öncelikle meme bezi dokusunun yenilenmesinde dinamik değişiklikler meydana gelir. 305 günlük bir laktasyon dönemi için optimal kuru dönem uzunluğunun 40-60 gün olduğu kabul edilmektedir. Kuru dönemin ortadan kaldırılması veya kısaltılması, memenin inflamatuvar durumlara karşı direncini azaltır ve sonraki laktasyonda sütteki somatik hücre sayısında artışa yol açar. (De Visscher, vd., 2016; Fadlemula vd., 2009). Artan oksidatif stres ve düşük antioksidan savunma ile ilişkili olarak immünsüpresyon sonucu mastitis insidansının yüksek olduğu anlaşılmıştır (Abebe vd., 2016; Sharma, vd., 2011).

2.2.2.5. Konakçının beslenme stresi ve bağışıklık sistemi

Laktasyon sırasında süt sığırlarının kolostrum ve süt üretimi için daha fazla enerji ve besin maddesi ihtiyacı vardır. Yem alımı laktasyon taleplerini karşılamadığında sığırlar negatif enerji dengesi sergiler (Kibebew, 2017). Negatif enerji dengesi, iz elementler (selenyum, demir, bakır, çinko, kobalt, krom), amino asitler (lisin, L histidin) ve vitaminler (A, C, E, β -karoten, likopen) bakımından yetersiz diyetle ilişkilidir. Bu durum laktasyonun başlangıcında hücresel ve humoral düzeyde immünsüpresyona yol açarak enfeksiyonlara duyarlılığı artırır (Matsui, 2012; Shaheen vd., 2016). Bu nedenle, geçiş döneminde E vitamini ve çinko takviyesi gibi diyetin uygun şekilde verilmesi, mastitis enfeksiyonunu önlemek ve laktasyonu arttırmak için kritik öneme sahiptir (Bayril vd., 2015; Chandra vd., 2013).

2.2.2.6. Sağım sistemi ve hijyen

Sağım sırasında hijyene uyulması, sürüdeki bulaşıcı mastitisle mücadelede önemlidir. Sağımın geleneksel şekilde ve sağım öncesi el yıkamanın sık yapıldığı sürülerdeki ineklerde subklinik mastitis gelişme riskinin daha düşük olduğu belirtilmiştir (Kibebew, 2017).

2.2.3. Çevresel faktörler

Sürülerin çevresel koşulları ve yönetim uygulamaları hayvan sağlığı ve refahı üzerinde belirleyici etkilere sahiptir. Sürüyü temiz ve rahat tutmak mastitisin görülme sıklığını ve şiddetini azaltabilir (Mulim vd., 2021). Kalabalık sürüler, kirli zemin, ıslak yatak, zayıf havalandırma ve sıcak ve nemli iklim, mastitis patojenlerinin uygun ortam bularak daha fazla mastitis oluşumuna neden olabilir. (Abebe vd., 2016; Shaheen vd., 2016; Zeinhom vd., 2016).

2.3. Sığır mastitis enfeksiyonunun bulaşması

Enfeksiyon meme kanalı yoluyla gerçekleşir. Organizmalar gerek memeden gerekse çevreden meme başı kanalı yoluyla göç ederek meme bezine ulaşır. Enfekte

memede bulunabilen bakteriler veya enfekte meme dokusunu istila edip meme bezine zarar verebilen çevresel patojenler, meme ve meme bezinde hasara neden olarak mastitisi şekillendirebilir (Sarma ve Hussain, 2021).

Enfeksiyon, enfekte olmuş memeden veya kontamine çevreden kaynaklanır. Patojenlerin ana kaynakları ve bulaşma yolları arasında enfekte alanlar ve kirli meme, kontamine süt sağma makineleri, antiseptik daldırma (teat dipping kapları), sağımçıların elleri, kıyafetleri, insektler ve cerrahi aletler yer alır. Ayrıca laktasyonun evresi, laktasyon sayısı, meme, meme başı ve meme kanalı travması, gevşek meme sfinkteri, meme başı derisindeki lezyonlar, her bir meme bezinin immünolojik durumu, çevredeki enfeksiyon yoğunluğu ve yönetim koşulları belirleyiciler arasındadır (Kibebew, 2017).

Enfeksiyonlar meme kanalı yoluyla gerçekleşir. Etkenler gerek memeden gerekse çevreden meme başı kanalı yoluyla göç ederek meme bezine ulaşır. Enfekte memede bulunabilen *S. agalactiae* veya *S. aureus* veya *S. uberis* ve *S. dysgalactiae* gibi çevresel patojenler memeyi enfekte ederek meme bezinde hasara sebep olabilir (Sarma ve Hussain, 2021).

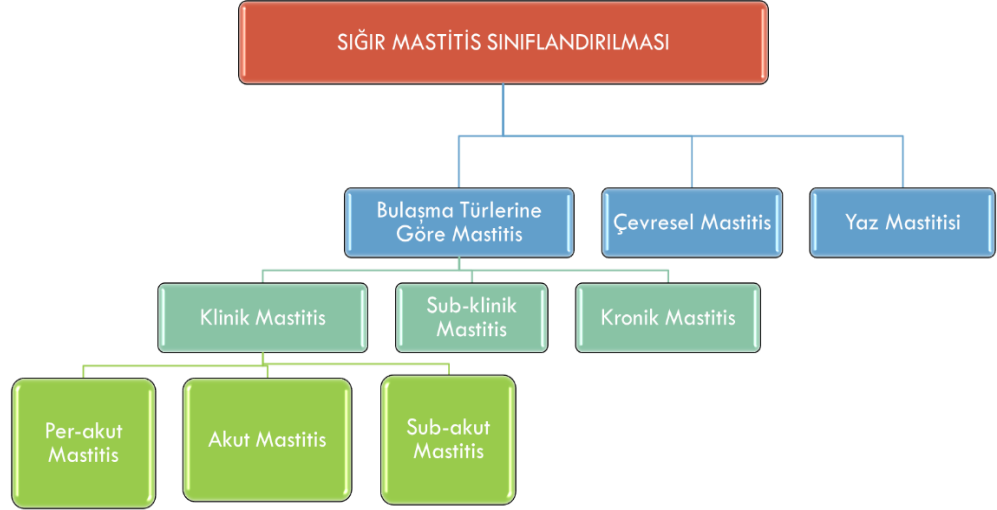
Memede enfeksiyona sebep olan bulaşıcı patojenlerden en yaygın olanları, primer olarak enfekte ineklerin memelerinde bulunan *S. agalactiae* ve *S. aureus*'tur. Koagülaz negatif *Staphylococcus*'un birçok türü genel olarak sığırlarda meme başı derisinde bulunur ve fırsatçı patojen olarak bilinirler.

S. uberis, *S. dysgalactiae* ve koliformlar, ahırlarda yataklık, su, toprak ve gübre gibi ortamlarda yaygın olarak bulunan çevresel patojenler olarak bilinirler (Shaheen vd., 2016; Zeinhom vd., 2016).

2.4. Sığır mastitis türleri

Patojenlerin bulaşma şekline göre mastitis, bulaşıcı ve çevresel mastitis olarak sınıflandırılabilir. Ayrıca ayrı bir başlık altında incelenen yaz mastitisi de vardır.

Klinik bulgulara göre de farklı sınıflandırılırlar. Klinik bulgularına göre farklı tipleri vardır. Semptomlarına göre mastitis sınıflandırılması Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Sığır mastitisinin sınıflandırılması (Kibebew, 2017).

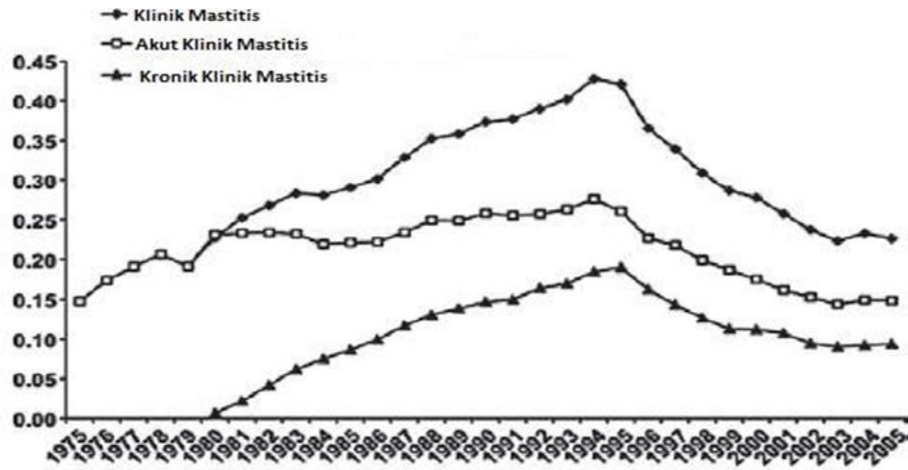
2.4.1. Bulaşma şekillerine göre mastitis türleri

Enfeksiyöz ajanlar arasında bakteriyel patojenler süt sığırlarında mastitisin en önemli sebeplerindendir. Bu mikroorganizmalar bulaşıcıdır, süt hayvanlarının çevresinde yaygın olarak bulunur ve meme enfeksiyonları prevalansını artırır (Sharif vd., 2009). Bulaşıcı mastitisin kaynakları enfekte ineklerdir ve bulaşma inekten ineğe, özellikle sağım sırasında sağım ekipmanı, sağımcının elleri ve kontamine temizlik bezleri yoluyla gerçekleşir. Başlıca bulaşıcı patojenler *S. agalactiae*, *S. aureus*, *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) ve *Mycoplasma spp'*dir. *S. aureus*, dünya çapında hem subklinik hem de kronik sığır mastitisinde en sık izole edilen bulaşıcı patojendir (Zecconi, 2006). Bulaşıcı mastitisin görülme sıklığı, ineğin maruz kaldığı etkenin miktarı ve türüne, fiziksel bariyerlere, doğuştan gelen ve kazanılan bağışıklık mekanizmalarına bağlıdır. Bakteriler arasında *S. aureus*, *S. agalactiae* ve *S. dysgalactiae*, sığırlarda bulaşıcı mastitisin ana nedenleri olarak kabul edilmiştir (Blowey ve Edmondson, 2010). *S. aureus*'un genellikle ineklerde meme içi enfeksiyonun en yaygın nedeni olduğu düşünülmektedir. Sürünün cinsine ve coğrafi konumuna bağlı olarak tüm ineklerin %7-40'ının enfekte olduğu tahmin edilmektedir (Fox ve Gay, 1993).

2.4.1.1. Klinik mastitis

Mastitis, genellikle sütte pıhtı, kan ya da irin bulunması, renk değişikliği veya sulu görünüm gibi anormal sütün görülmesiyle tespit edilir. Memede ödem, kızarıklık, sıcaklık, ağrı ve sertlik görülebilir. Ayrıca; hayvanda ateş, kalp atışında hızlanma ve iştahsızlık meydana gelebilir (Abrahmsen vd., 2014). Klinik mastitis gelişen ineklerde üretimde ani bir düşüş yaşanır ve klinik başlangıcı takip eden 60 gün boyunca önceki üretim seviyelerine geri dönemezler (Hundera vd., 2005). Her ne kadar klinik enfeksiyonlar buzağılamadan önce nadiren görülse de, rutin kontrolde anormal şişliklerin gözlemlenmesi önemlidir. Klinik mastitis, buzağılama öncesi ve sonrasında kolostrum veya sütte pıhtıların bulunması, anormal yapı veya renk değişikliği ile teşhis edilebilir (Malinowski ve Gajewski, 2010).

Genel olarak *S. aureus* ve *E. coli*' nin neden olduğu akut, kısa süreli bir enfeksiyondur. Klinik mastitis kısa sürede ortaya çıkar. Memede kangren oluşumu ile karakterize ve oldukça tehlikeli olan gangrenöz mastitise olarak sebep olabilir (Erskine vd., 1996). Klinik semptomlarına göre farklı mastitis tiplerinin insidensi Şekil 3' te verilmiştir.



Şekil 3. Klinik semptomlarına göre farklı mastitis tiplerinin insidensi (Özdemir, 2018).

Akut mastitis

Akut mastitiste en sık görülen klinik belirtiler memenin şiş, sert ve ağrılı olmasıdır. Sütte pıhtılar bulunabilir ve süt sulu olabilir. Akut mastitise

neden olan en yaygın bakteriler koliform organizmalardır (Sarma ve Hussain, 2021).

Perakut mastitis

Süt sığırlarında anormal süt verimine neden olan, sütün kanlı eksudat şeklinde görüldüğü mastitisin en ciddi şeklidir. Hayvanda ateş oldukça yüksektir, nefes almada zorluk ve taşikardi görülür. Meme şiş ve çok ağrılıdır. Özellikle, *S. aureus*, *S. dysgalactiae*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) etkenleri sebep olur (Sarma ve Hussain, 2021).

Subakut mastitis

Etkilenen hayvanlarda genel mastitis belirtileri görülmez ancak etkilenen hayvanın sütündeki değişiklikler, kültür ile tespit edilebilir (Sarma ve Hussain, 2021).

2.4.1.2. Subklinik mastitis

Sütte veya memede gözle görülebilen anormallikler bulunmamaktadır. (Kathiriya vd., 2014). Bir sürüdeki hayvanların %50' sinden fazlasında subklinik mastitis görülebilir. Normal memelerden alınan normal görünümlü sütlerde, somatik hücre sayısında ani bir artış, subklinik mastitisin varlığına işaret edebilir. Subklinik mastitisli hayvanlar genellikle tam potansiyellerinde süt üretmezler ve sağlıklı hayvanlar için potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olurlar (Tomita ve Hart, 2001). Süt ineklerinde mastitisin subklinik formu oldukça önemlidir. Çünkü bu form;

Klinik formdan 15 ila 40 kat daha yaygındır,

Genellikle klinik formdan daha önce gelişir,

Uzun sürelidir,

Tespit edilmesi zordur,

Süt üretimini azaltır,

Süt kalitesini olumsuz etkiler,

Bulaşıcı özelliğinden dolayı sürüdeki diğer hayvanları etkileyebilecek mikroorganizmalar için rezervuardır (Pyorala, 2003).

Süt üretiminde büyük kayıplara neden olmasının yanı sıra, subklinik olarak etkilenen hayvanlar, sürüdeki diğer hayvanlar için sürekli bir enfeksiyon kaynağı olmaya devam eder. Enfeksiyonun daha uzun sürdüğü durumlarda etkenler ile antibiyotikler arasında fibröz doku bariyeri oluşarak antibiyotik etkinliğini sınırlandırabilir. Subklinik mastitis, klinik mastitisten daha yaygındır. Subklinik mastitiste, somatik hücre sayısının (SHS) artması dışında meme dokularında ve sütün fiziksel görünümünde gözle görülür herhangi bir anormallik yoktur. Sağlıklı ineklerde, süt SHS'si genellikle <100.000 cfu/ml, subklinik mastitis sırasında >1.000.000 hücre/ml'ye yükselebilir. SHS'yi sürü ve bireysel düzeyde etkileyen ana faktör, meme içi enfeksiyonların (IMM) varlığıdır (Erskine vd., 1996).

Subklinik mastitis, klinik mastitis ile benzer şekilde laktasyondaki ineklerin üreme performansını azaltabilir. Genel belirtileri vücut ısısının artması (>39,5°C) ve iştah kaybıdır. Subklinik mastitis, sütte veya memede gözle görülür bir değişikliğin olmadığı ancak süt üretiminin azaldığı, sütte bakterilerin bulunduğu ve sütün bileşiminin değiştiği mastitis türüdür. Sütün laboratuvar incelemesi veya CMT ile teşhis edildiği için bu tür mastitislere “gizli” adı verilmektedir (Erskine, 2001).

Subklinik mastitisin ekonomik kayıp açısından büyüklüğü, tüm mastitis enfeksiyonlarıyla ilişkili toplam ekonomik kayıpların %60- 70'inden sorumlu olması nedeniyle ilgi çekicidir. Bazı ülkelerde *S. aureus*, subklinik mastitisin ana nedeni olmaya devam etmektedir. Önceden tamamen çevresel olduğu düşünülen patojenler de kalıcı enfeksiyona neden olabilir (Schrack vd., 2001). Ekonomik açıdan bakıldığında subklinik mastitis süt sektörüne daha fazla zarar vermektedir. Süt üretimini, tedavi maliyetleri ve antibiyotik kullanıldığı dönemde sütün atılması nedeni ile büyük ekonomik kayıplara neden olur. Subklinik vakalara neden olan en yaygın patojenler *Streptococcus* spp ve *S. aureus*'tur (Atasever ve Erdem, 2009).

2.4.1.3. Kronik mastitis

Kronik mastitis aylarca süren ve bir laktasyon döneminden diğerine devam edebilen inflamatuvar bir süreçtir. Çoğunlukla subklinik olarak bulunur ve kısa bir süre için periyodik olarak subakut veya akut forma dönüşebilir. Sonuç olarak memede bakterilerin bariyer oluşturması ve fibröz doku oluşumu nedeniyle sert yumrular meydana gelir (Taverna vd., 2007).

Kronik mastite neden olan en yaygın patojenler koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. ve *S. uberis*'tir. Sütte sarımsı sıvı veya pıhtılı beyaz sıvının varlığı gibi fiziksel değişiklikler belirgindir. Bazen süt, yeşil veya sarı-yeşil görünür ve kötü kokar. Meme, yoğun fibrozis nedeniyle sertleşir. Etkilenen kısım sertleşip nodüller oluşur ve atrofi şekillenebilir. Mastitisin kronik evresi California Mastitis Testi (CMT) ile tespit edilebilir. Kronik mastitis vakalarında somatik hücre sayısı hızla artar (Sarma ve Hussain, 2021).

2.4.2. Çevresel Mastitis

Çevresel mastitis, normalde deri yüzeyinde veya memede yaşamayan ancak ineğin kontamine bir ortamla teması sonucu meme kanalına giren organizmalardan kaynaklanır (Smith, 1986). Çevresel patojenlerin primer kaynağı ineğin yaşadığı ortamdır. Çevresel mastitise neden olan *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, koliformlar, vb patojenler yataklık, altlık, dışkı vb. çevrede bulunur. Bu patojenler genellikle ineğin yaşamının herhangi bir döneminde bulaşabilir: Bunlar sağım sırasında, sağımlar arasında, kuru dönem ve özellikle ilk buzağılamada bulaşabilir (Radostits vd., 2006). Çevresel mastitis riski, barınaklarda tutulan ineklerde, meraya çıkarılan ineklerden daha yüksektir. Ayrıca yatak malzemeleri çevresel patojenler için önemli bir kontaminasyon kaynağıdır. *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. ve *Streptococcus* spp. gibi çevresel bakterilerle enfeksiyonun kuru dönemin erken döneminde daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Öte yandan *E. coli* enfeksiyonları buzağılamadan hemen önce ve sonra ortaya çıkma eğilimindedir. Bu nedenle, yeni enfeksiyon riskini en aza indirmek için kurudaki ineklerin, kuru ve temiz yataklarla birlikte bölümlerde tutulması

çok önemlidir. Çevresel mastitis, genellikle sığırların sindirim kanalında veya çevresinde bulunan potansiyel patojenlerden kaynaklanır. Daha önce toplam mastitis vakalarının %10'undan daha azını oluştururken son zamanlarda çevresel mastitis vakalarında bir artış olmuştur. *E. coli* gibi bazı etkenler, normalde deride veya memede yaşamaz. Ancak inek kirli çevreyle temas ettiğinde meme kanalına girerler. Patojenler genellikle dışkıda, yataklık materyallerde ve yemde bulunur. Kirli ortamdaki patojenler sağım sırasında, sağımdan hemen sonra veya meme başı hasarından sonra meme başı deliği açıldığında memeyi enfekte eder. Dolayısıyla bu çevresel patojenler, meme bezinin fırsatçı istilacıları olarak tanımlanmaktadır. Sürülerdeki toplam mastitis vakalarının yalnızca %10'unu çevresel mastitis vakalarının oluşturduğu belirtilmektedir (Jones ve Bailey 2009). *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*), *K. pneumonia*, *Serratia marcescens* (*S. marcescens*), *S. uberis* ve *Streptococcus* spp. çevresel patojenlerdendir. Bu patojenler normalde dışkıda, yataklık materyalde, çiftliklerde ve yemde bulunabilir. Özellikle koliformlar, *E. coli* ve *S. uberis* süt hayvanlarında mastitise neden olan major çevresel organizmalar olarak tanımlanmaktadır (Blowey ve Edmondson, 2010).

Her ne kadar *S. dysgalactiae* çevresel bir patojen olarak kabul edilse de, mastitise neden olan bulaşıcı bir patojen olarak inekten ineğe bulaştığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Çevresel patojenlerin neden olduğu meme içi enfeksiyonların çoğunluğu kliniklidir ve kısa sürelidir (Smith ve Hogan, 1993). Çevresel mastitis, normalde deri yüzeyinde veya memede yaşamayan, ancak inek kontamine bir ortamla yakın temasa girdiğinde meme kanalına girebilen mikroorganizmaların neden olmasıyla bulaşıcı mastitisten farklıdır (Jones ve Bailey, 2009).

2.4.3. Yaz mastitisi

Kuru dönemdeki inek ve düvelerde görülen, memede büyük ve ağrılı hasara neden olan akut bir hastalıktır. Enfekte olan meme bölümü kalıcı olarak hasar görür ve bu da ineğin erken dönemde elden çıkarılmasına neden olur. İneklerin meme uçlarının kolayca hasara maruz kalabileceği ve sinek popülasyonunun yüksek olduğu ortamlarda bulunduğu enfeksiyonun

ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir. Yaz mastitisinin klinik belirtileri, kötü kokuyla karakterize yoğun bir salgı ile birlikte sıcak, sert ve şişmiş bir memedir (Blowey ve Edmondson, 2010).

2.5. Sığır mastitis enfeksiyonuna neden olan başlıca patojenler

Uluslararası Süt Ürünleri Federasyonu'na (IDF) (1987) göre mastitis travmatik veya toksik bir etiyolojiye sahip olsa da genellikle mikrobiyolojik enfeksiyonun bir sonucudur. Süt ineklerinde mastitiste 150'den fazla farklı patojen mikroorganizma türü tanımlanmıştır. Bakteriler, mantarlar ve mayalar mastitis etkenleri olabilir; ancak özellikle bakteriler mastitis etiyolojisinde en yüksek orana sahiptir (Quinn vd., 2002).

Klinik mastitis vakalarının yaklaşık %20-35'inin etiyolojisi tam olarak bilinmemesine rağmen (Wellenberg vd., 2002). Sığır mastitisleri çoğunlukla bakteriyel orjinlidir. Bu etkenler, bulaşıcı veya çevresel olarak sınıflandırılabilir. Memede yaşamaya uyum sağlamış *S. aureus*, *S. dysgalactiae* ve *S. agalactiae* gibi etkenler, subklinik enfeksiyonlara neden olur. *S. uberis* ve *E. coli* gibi çevresel patojenler ise, memede yaşamaya uyum sağlamamıştır. Bu etkenler invazyonu takiben hızla çoğalarak, hızlı bir bağışıklık tepkisi yaratarak elimine edilirler (Bradley, 2002).

Süt ineklerinde mastitis enfeksiyonlarından sorumlu olan ana etiyolojik ajanlar, ilgili mikroorganizmaların kaynağına bağlı olarak farklı gruplara ayrılabilir. Bunlar bulaşıcı patojenleri, çevresel bakterileri, fırsatçı bakterileri ve daha az sıklıkla mastitise neden olan diğer etkenleri içerir (Philpot ve Nickerson, 1991). Mastitis enfeksiyonuna neden olan patojenlerin sınıflandırılması Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Mastitis enfeksiyonuna neden olan patojenlerin sınıflandırılması.(Cobirka vd., 2020).

Kaynak	Meme Bezi	Çevre
Major Patojenler	<i>S. aureus</i>	Çevresel streptokoklar: <i>S. uberis</i> ,
	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. equinus</i> ,
	(<i>S. dysgalactiae</i>)	<i>S. bovis</i> ,
	<i>Mycoplasma bovis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>
		Enterococcus spp.:
		<i>E. faecalis</i>
		<i>E. faecium</i>
		<i>E. durans</i>
		Koliformlar:
		<i>E. coli</i> ,
		<i>K. pneumoniae</i> ,
		<i>K. oxytoca</i> ,
		<i>Enterobacter aerogenes</i>
		Koliform Olmayanlar:
	<i>Proteus spp.</i> ,	
	<i>Serratia spp.</i> ,	
	<i>Yersinia spp.</i>	
	Diğerleri:	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	
	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	
Minör Patojenler	Koagülaz negatif <i>Staphylococcus</i>	Mayalar
	spp. (KNS):	Mantarlar
	<i>S. chromogenes</i> ,	
	<i>S. haemolyticus</i> ,	
	<i>S. epidermidis</i> ,	
	<i>S. simulans</i> ,	
	<i>S. sciuri</i>	
	<i>Corynebacterium bovis</i>	

Mastitisten sorumlu patojenlerin yaklaşık %90'ı, barınak ortamında yaygın olarak bulunan çevresel patojenlerdir (Lassa ve Smulski, 2013). Barınaklarda nem ve kirliliğin artması, hayvanlardaki bakteri ve diğer patojenlerin sayısını artırır. Öncelikle klinik mastitisin *Actinomyces pyogenes* (*A. pyogenes*) dışındaki etiyolojik etkenleri hem klinik hem de subklinik mastitise sebep olabilir (Malinowski vd.,

2006). *S. aureus*, *E. coli* ve *Klebsiella* spp. mastitisli ineklerde önemli miktarda süt kaybına neden olur. Yaşlı ineklerde ise en önemli kayıplar *Streptococcus* spp., *S. aureus*, *A. pyogenes*, *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'den kaynaklanmaktadır (Gröhn vd., 2004).

Mastitis enfeksiyonuna neden olan etkenlerin, orijine dayalı sınıflandırılmasına ek olarak, prevalanslarına ve semptomların şiddetine göre majör ve minör patojenler olarak ayrılabilirler (Tablo 2). Major patojenler çoğunlukla klinik mastitise neden olur ve süt bileşiminde önemli değişikliklere yol açar (Djabri vd., 2002).

Mastitis enfeksiyonuna neden olan başlıca patojenler; *E. coli*, *S. aureus* ve Streptokoklardır. *E. coli* ve *S. aureus* zoonotik öneme sahiptir (Cobirka vd., 2020).

2.5.1. *S. aureus*' un taksonomisi

Taksonomik olarak *Staphylococcus* cinsi, *Staphylococcaceae* bakteri familyasından olup, daha az bilinen cinsleri (Gemella, Jeotgalicoccus, Macroccoccus, Nosocomiicoccus ve Salinicoccus) de kapsar. Şu anda *Staphylococcus* cinsinin 47 tür ve 21 alt tür mevcut olup, bunların çoğunluğu genellikle memelilerde görülür. *Staphylococcus*ların en sık enfeksiyonlarla ilişkili olan türleri; *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'tur. Fakat diğer *Staphylococcus* türleri de çeşitli enfeksiyonlarla ilişkili olabilmektedir (Prax vd., 2013).

2.5.2. *S. aureus*

Stafilokok türleri Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, çiftler halinde veya düzensiz kümeler halinde görülebilen, değişen boyutlarda olan bir mikroorganizmadır. Koloniler genelde opak ve beyaz veya krem rengindedir, ara sıra sarı ya da turuncu olabilmektedir. Optimum gelişme sıcaklığı 30-37°C arasındadır. Fakültatif anaeroblardır ve fermentatif metabolizma gösterirler. Stafilokok türleri genelde katalaz pozitifdir (Vernozy-Rozand vd., 2000).

S. aureus, süt çiftliklerinde ve düvelerde mastitis hastalığında en sık izole edilen major patojendir (Özdemir, 2018). *S. aureus* sığır mastitisinin başlıca nedenidir. Bakteri meme ucuna kolonize olur ve meme bezi kanalından meme bezine doğru ilerler. Bu bakteri birçok virülens faktöre sahiptir. Örneğin sütteki yağ dokuya

yapışarak meme dokusuna hızlı bir şekilde ulaşır (Middleton vd., 2007).

Çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan Stafilokok türleri fırsatçı patojenler olarak tanımlanarak insanlarda ve hayvanlarda pek çok hastalığa sebep olabilmektedir.

Mikroskobik olarak ortalama 0,5-1,5 µm çapında, tek tek, çiftler ya da düzensiz kümeler halinde görülürler. Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob, kemoorganotrofik bakterilerdir. Spor oluşturmazlar, ancak son derece dirençlidirler. Kültür ortamında çok hızlı üreyebilen ve temel besiyerinde düzgün, yuvarlak ve parlak görümlü 3-5 mm büyüklüğünde koloniler oluştururlar. *S. aureus*, özellikle belirli ortamlarda altın rengi veren karotenoid pigmentleri üretir (Özdemir, 2018).

S. aureus insanda ve hayvanda en patojen tür olarak kabul edilir. Çoğunlukla klinik mastitise neden olur ve bu da yaşam boyu süren kronik bir enfeksiyonla sonuçlanır. *S. aureus*'un neden olduğu mastitis subklinik ve kronik formda da olabilir. Geç laktasyonda erken laktasyona göre daha sık meydana gelir (Tenhagen, vd., 2006).

S. aureus aynı zamanda zoonotik bir bakteridir ve kronik olarak enfekte inekler, hem fiziksel temas (elle sağım sırasında) hem de pastörize edilmemiş süt tüketimi yoluyla insanlara bulaşmanın meydana gelebileceği bir rezervuar görevi görür. *S. aureus*'un bazı türleri hem ineklerde hem de insanlarda ciddi hastalıklara neden olabilecek toksinler üretir ve bu toksinler pastörizasyonla yok edilmez. Bu nedenle *S. aureus*'un neden olduğu meme enfeksiyonları yalnızca hayvanlar için değil aynı zamanda insanlar için de potansiyel olarak tehlikelidir. Etken birçok ülkede mastitis vakalarından en sık izole edilen patojen olduğu gösterilmiştir (Persson vd., 2011; Zadoks vd., 2011).

S. aureus inekten ineğe bulaşırken, aynı zamanda sağımlar arasında barınak ortamında da canlı kalabilmektedir. Düveler bu patojenin rezervuarlarıdır. İlk laktasyondaki ineklerin %12-15'i *S. aureus* ile enfekte olabilmektedir. Birçoğu tüm laktasyon boyunca fark edilmeden enfekte kalır ve enfeksiyonun sürüdeki diğer ineklere yayılması için rezervuar görevi görür (Trinidad vd., 1990).

S. aureus, inekten ineğe kolaylıkla yayılır. Genellikle SHS artışı ve zaman zaman görülen klinik mastitis ile birlikte kronik subklinik mastitis şekillendiren bulaşıcı bir patojendir. Düşük SHS olan sürülerde bulaşıcı suşlar büyük oranda kontrol altında tutulmaktadır. Tüm önlem ve uygulamalar rağmen *S. aureus* hala

önemli bir mastitis patojenidir. Kuru dönemde subklinik *S. aureus* eliminasyonu özellikle zordur. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar süt sığırlarında en önemli mastitis sorunu olmaya devam etmektedir. Çünkü laktasyon sırasında antibiyotik kullanımıyla tedavi oranı çok düşüktür ve çoğu durumda enfeksiyonlar kronikleşerek etkilenen hayvanların itlaf edilmesine neden olmaktadır (Khan ve Khan; 2006). Bu patojenin neden olduğu mastitis ancak yeni enfeksiyonların önlenmesi ve etkilenen hayvanların itlaf edilmesi yoluyla başarılı bir şekilde kontrol edilebilir. Diğer bulaşıcı patojenlere benzer şekilde sağım makinesi parçaları, sağım personelinin elleri ve meme ve el temizliğinde kullanılan bezler yoluyla yayılır (Peterson vd., 2010). Her ne kadar *S. aureus* suşları in vitro çok çeşitli antibiyotiklere duyarlı olsa da genellikle in vivo koşullar altında iyileşme oranlarının beklenenden düşüktür.

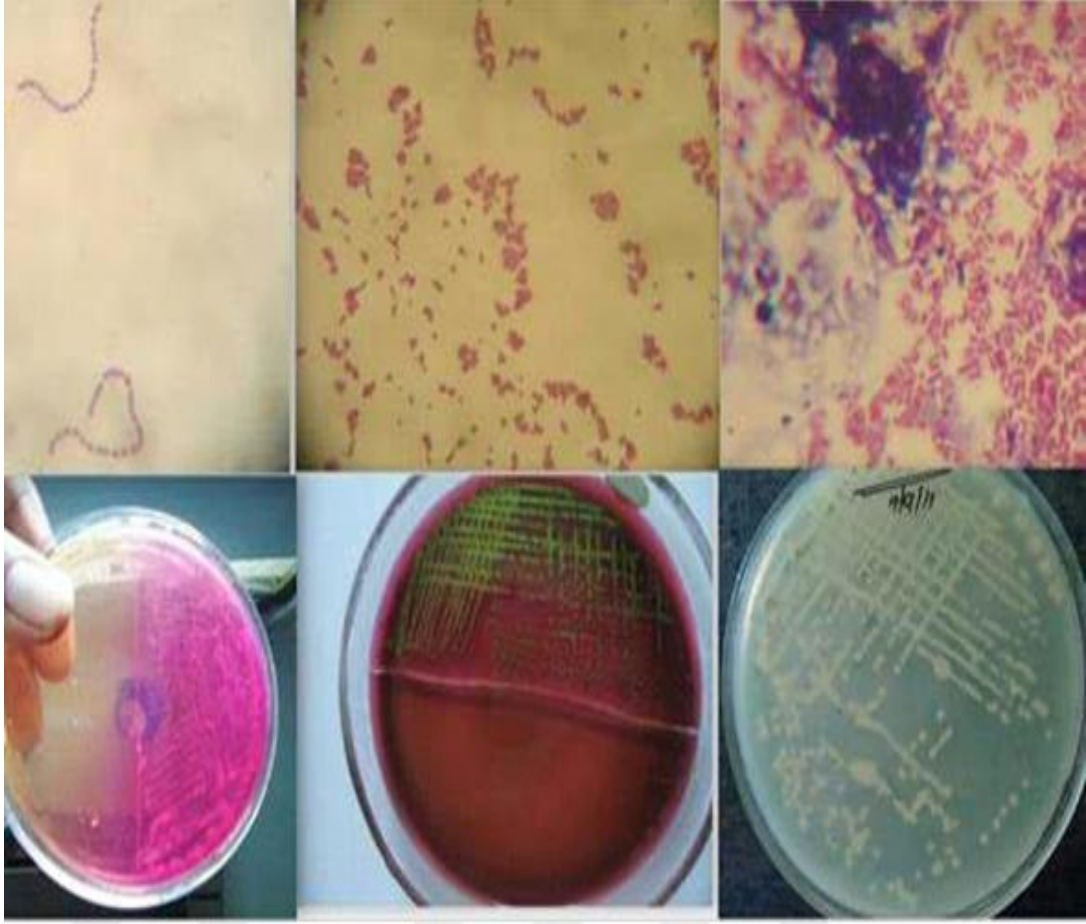
S. aureus'un nötrofil aktivitesine rağmen canlılığını sürdürme konusunda güçlü bir yeteneğe sahiptir (Mullarky vd., 2001). Memede fibrozisi indükler ve meme epitel hücrelerini istila eder (Gudding vd., 1984). Genel olarak *S. aureus*, klinik mastitis vakalarının %10-12'sine neden olmaktadır. Patojenin tedaviye yanıtı zayıftır ve *S. aureus* genellikle memede varlığını sürdürür. Ancak düşük iyileşme oranının temel nedeni, antibiyotiklerin patojene ulaşmasını engelleyen mikro apseler oluşturma yeteneğinde yatmaktadır (Erskine vd., 2003; Petersson-Wolfe vd., 2010). *S. aureus*'un biyofilm üretme ve konakçı ortamına uyum sağlama yeteneği, onu bu tür enfeksiyonun tedavisi için daha da zor bir hedef haline getirmektedir. *S. aureus* glikokaliks adı verilen bir ekzopolisakkarit üretir. Bu yapı, *S. aureus*'un meme epitel hücrelerine yapışmasına ve besin almasına yardımcı olur, hayatta kalmasına olanak tanır. Ayrıca antibiyotiklerin etkisinden, çevresel streslerden ve fagositozdan korunmasını sağlar (Arslan ve Özkardes, 2007; Melchior vd., 2006). Etkenin antibiyotik kullanılarak tedavi edilmesinin zor olmasının temel sebebi de budur. Çünkü antibiyotik hedef bölgeye minimum inhibitör konsantrasyonda (MIC) ulaşmaz, yalnızca patojeni öldüremeyen bir alt-MIC'de ulaşır. (Amini vd., 2009). Sonuç olarak *S. aureus*'un biyofilm oluşturma yeteneğini doğrudan hedef alan alternatif tedavilere ihtiyaç vardır (Aslı vd., 2017).

Araştırma bulgularına göre stafilokok mastitisinin neden olduğu üretim kayıpları genellikle uzun vadeli niteliktedir. Patojen, memenin salgı dokusunda kalıcı hasara neden olur ve bu hasar daha sonra meme bezinin yapısını bozarak ineğin süt üretme yeteneğini azaltır (Zhao ve Lacasse, 2008).

2.5.3. Koagulaz Negatif *Staphylococcus* spp. (KNS)

Koagulaz negatif stafilokoklar (KNS), sığırlarda IMI'nin en yaygın nedenidir (De Vlieghe vd., 2012). Koagulaz negatif Stafilokok türleri (KNS) genel olarak küçük bir patojen olarak kabul edilmiştir. Ancak son on yılda sığır mastitisinin yeni ortaya çıkan patojenleri olarak kabul edilmektedirler. Araştırmacılar KNS'yi bulaşıcı veya çevresel patojenler olarak değil, 'cilt florası fırsatçıları' olarak tanımlıyorlar. KNS, özellikle majör mastitis patojenlerinin neden olduğu meme enfeksiyonlarının başarıyla kontrol edildiği, iyi yönetilen ve yüksek verimliliğe sahip çiftliklerde özel bir sorun gibi görünmektedir. KNS enfeksiyonlarının en yüksek prevalansı ineklerden ziyade düvelerde ve özellikle buzağılama döneminde görülür. KNS enfeksiyonlarının meme bezi dokularının zarar görmesine bağlı olarak daha ciddi ve kalıcı enfeksiyonlara neden olabileceği görülmüştür (De Vlieghe vd., 2012). KNS'nin çok çeşitli rezervuarları tanımlanmıştır. *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* ve *S. warneri* gibi türler meme derisinin normal bakteri florasına aitken, *S. xylosus* ve *S. sciuri* çevre kökenlidir. *S. chromogenes* meme başı derisinde ve hayvanın kıl, vajina ve meme kanalı gibi vücudunun diğer kısımlarında kolonize olabilir. *S. chromogenes*, IMI'de bulunan en yaygın türdür; *S. equorum*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii* ve *S. sciuri* ise çevresel habitatlarda süten daha fazla bulunur, bu da çevresel bir kaynağı gösterir (Piessens vd., 2011). Ayrıca *S. chromogenes*, *S. simulans* ve *S. xylosus*'un meme sağlığı üzerinde diğer türlere göre daha önemli bir etkisi vardır. Farklı türlerin farklı patojenik etkileri olduğundan, bir sürüde veya bölgede hangi türlerin mevcut olduğunu bilmek önemlidir (Vanderhaeghen vd., 2014; Vanderhaeghen vd., 2015).

S. aureus'un invazyon yeteneği KNS suşlarınınkinden daha büyük olmasına rağmen, KNS'nin sığır meme hücrelerine neredeyse *S. aureus*'a eşit şekilde adheze olduğu gösterilmiştir. *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. hyicus* ve *S. xylosus* dahil olmak üzere sığır mastitis izolatlarının biyofilm oluşturan proteinleri bulunmuştur (Fry vd., 2014).



Şekil 4. Yukarıdan başlayarak soldan sağa doğru; *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., Gram negatif basiller, mannitol salt agarda koloni gelişimi, EMB'de *E. coli* metalik rengi, MHA'da koloni büyümesi (Özdemir, 2018).

2.6. Sığır mastitis tanı yöntemleri

Mastitis, süt sığırlarında önemli ekonomik kayıplara neden olan en yaygın hastalıklardan biridir. Süt üretimi, süt bileşimi ve kalitesi kayıpları, teşhis ve tedavi masrafları, tedavi sürecindeki sütün kullanılamaması, özellikle gram negatif bakterilerin sebep olduğu mastitisler mortaliteye sebep olması gibi direkt kayıplara sebep olur. Ayrıca tedavi yapılamayan ineklerin elden çıkarılması, laminitis, ketosis, abomasum deplasmanı gibi komplikasyonlar ve ekstra işçilik gibi masraflara sebep olan indirekt kayıplar da oluşturur (Pal vd., 2019).

Bakteriyel patojenler ve kimyasal kontaminantlar, meme dokusu üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir ve mastitise yol açarak süt kalitesini olumsuz yönde etkiler. Mastitis sebeplerinin doğru ve güvenilir bir şekilde teşhis edilmesi oldukça önemlidir. Mastitisin teşhisinde birçok yöntem kullanılır (Özdemir, 2018).

2.6.1. Geleneksel saha testleri

California Mastitis Testi (CMT), bu hücrelerdeki DNA'nın test reaktifi ile reaksiyona girerek bir jel oluşturmasını sağlayan, sütün somatik hücre sayımı tahminine dayanan subklinik mastitis için basit bir gösterge testidir (Middleton vd., 2004; Whyte vd., 2005). Reaksiyon, 0'dan (karışımın değişmeden kaldığı) 3'e (katı jel formları) kadar bir ölçekte puanlanır ve 2 veya 3'lük bir puan, pozitif bir sonuç olarak kabul edilir (McFadden vd., 2011).

R-mastitest, ineklerde mastitis tanısı için dolaylı bir test olarak kullanılır ve CMT prensibine dayanır (Sargeant vd., 2001). Sütün elektrik iletkenliği ile tuzu ve laktoz konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi tespit etmek için Mast-O-Test yöntemi (özel bir yöntem) kullanılır (Musser vd., 1998). Açıklanan diğer yöntemler Portacheck (esteraz katalizli enzimatik reaksiyon), Fossomatic SHS yöntemi, elektriksel iletkenlik ve pH testleri vb.'dir (Viguiet vd., 2009).

2.6.2. Somatik hücre sayımı

Somatik hücreler süt yoluyla salgılanan epitel (%25) ve lökosit (%5) hücreleridir. İnflamasyon yani mastitis meydana gelirse somatik hücre sayısı da artar ve bu da süte %90 civarında hatta daha fazla nötrofilin göç etmesinden kaynaklanır (Harmon, 1994). Süt örneklerinde somatik hücre ölçümüne Somatik Hücre Sayımı (SHS) adı verilmektedir. Mastitisin enfeksiyon düzeyi; laktasyon dönemi (Dohoo ve Meek, 1982), yaş ve ırk (Beckel ve Johnson, 1966; Singh, 2002), mevsim ve stres (Skrzypek vd., 2004; Khate ve Yadav, 2010), günlük değişiklikler (White ve Rattray, 1965) ve süt taşıma yönetimi (Gonzalo vd., 2003) gibi faktörler etkiler. SHS, 1×10^5 hücre mL^{-1} 'den düşükse, normal sütü gösterir, enfeksiyon döneminde ise 1×10^6 hücre mL^{-1} üzerine çıkabilir (Bytyqi vd., 2010). Dolayısıyla somatik hücre sayımı, mastitisin erken teşhisi için gösterge niteliğinde bir test olarak adlandırılabilir ve hücre sayısındaki herhangi bir değişiklik, potansiyel patojenin varlığını gösterir. Süt Tankı Somatik Hücre Sayımının (BTSCC) süt kalitesinin bir ölçüsü olarak iki ayda bir raporlanması gerekir. BTSCC'nin 2×10^5 cfu/ml'den az olması minimum enfeksiyon düzeyini gösterir. 5×10^5 cfu/ml'nin üzerindeki bir dizi BTSCC, alt klinik veya kronik enfeksiyonla ilgili bir sorunu gösterir (Scheper vd., 1997).

2.6.3. *In vitro* kültüre dayalı tanı

In vitro kültür, mastitis için altın standart test olarak kabul edilir (Pyorala, 2003). Belirli bir ortamda bakteriyel, viral ve mantar kültürü için Sütten Swap rnekleri alınabilir ve *Staphylococcus* spp. için gibi bakterilerin spesifik tespiti mikrobiyolojik/biyokimyasal testler uygulanabilir (Rajeev vd., 2009).

Bakteri kültürü yapmanın en önemli dezavantajı, belirli bir ortama ihtiyaç duymaları ve zaman almalarıdır. Üstelik viral etiyolojik etkenin izolasyonu ve teŖhisi sınırlıdır. Kronik enfeksiyon vakalarından veya ikincil istilaların olduğu vakalardan virüs izolasyonu oldukça zordur. Mantar patojenleri ise rutin mikrobiyal yöntemlerle kolayca izole edilebilir. Ancak mantarların laboratuvar ortamında geliŖmesi haftalar sürebildiğinden bu iŖlem zaman alıcıdır. Kültürün yalnızca canlı hücreleri tespit edebildiğini ve dolayısıyla kültür negatıf sonuçlarının klinik açıdan anlamlılığının daha fazla alıŖma gerektirdiğini belirtmek önemlidir (Koskinen vd., 2010).

2.6.4. PCR

Bakteri kültürü yöntemleriyle karŖılaŖtırıldıėında, doğrudan mastitisli süt örneklerinden PCR bazlı tespit daha az zaman alır (Amin vd., 2011). PCR testinin bir diğer temel avantajı DNA'ya dayanmasıdır ve dolayısıyla kültür bazlı tespit için kritik nokta olan canlı veya l organizmaların önemi yoktur, ancak bir dezavantajı PCR'nin kültür yöntemlerine kıyasla daha az sayıda organizmayı tespit etmesidir (Madico vd., 2000; Riffon vd., 2001; Yamagishi vd., 2007).

2.6.4.1. Multipleks PCR

Mastitiste, birden fazla etiyolojik etkenin rol oynadığı bilinmektedir ve çoğu zaman tedavinin baŖarısızlıėı, patojenin etkisiz hale getirilememesinden kaynaklanır. Multipleks PCR, tek bir reaksiyonda ve aynı anda birden fazla patojeni tanımlayabilir (Phuektes vd., 2001). Multipleks PCR'nin en önemli dezavantajı, dNTP'ler ve Taq polimeraz gibi maddeler için farklı primer setleri arasında duyarlılık azalabilir (Amin vd., 2011).

2.6.4.2. Real-time PCR

Real time PCR, süt numunelerindeki bakteriyel patojenlerin tespiti için in vitro kültüre bir alternatiftir. Ancak pahalı alet ve sarf malzemelerinin varlığı, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanımını zorlaştırmaktadır (Koskinen vd., 2010; Rajeev vd., 2009).

2.6.5. Yeni teşhis araçları olarak dolaşımdaki miRNA

MikroRNA/miRNA, 22 nükleotid uzunluğunda kodlanmayan RNA'dır. Genlerin ekspresyonu sırasında transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası düzenleme görevi görür (Chen ve Rajewsky, 2007). mRNA'nın 3'UTR bölgesine tamamlayıcıdırlar ve dolayısıyla gen düzenlemesine katılırlar. Biyoinformatik analiz, 18 mastitis aday geninde 89 varsayılan miRNA hedef bölgesinin mevcut olduğunu ortaya çıkardı (Wang vd., 2004).

2.6.6. İmmunoassay

S. aureus (Fox ve Adams, 2000), *Listeria monocytogenes* (Kalorey vd., 2007) için geliştirilmiştir. Anti-*S. aureus* monoklonal antikoru ile kaplanmış boncuklar kullanılarak stafilokokların tespiti için manyetik boncuk bazlı ELISA uygulanır (Yazdankhah vd., 1998). İmmnoanalizler aynı zamanda subklinik mastitisin farklı aşamalarında sütte bulunan inflamasyonla ilişkili haptoglobulin, akut faz protein gibi biyobelirteçleri tespit etmek için de kullanılır (Hiss vd., 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada, klinik olarak mastitis semptomları gösteren ve göstermeyen (sub-klinik mastitis) ineklerden alınan süt örneklerinin CMT ile değerlendirme, CMT pozitif örneklerin SHS, kültür, *in vitro* antibiyotik duyarlılığı ve *Staphylococcus* spp., yönünden cins spesifik PCR ile incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada materyal olarak Balıkesir İli'ndeki bir süt işletmesinin 4 farklı sürüsünde bulunan toplam 305 adet sağmal inek, öncelikle klinik olarak muayene edildi. Hayvanların her meme lobundan ayrı olarak alınan toplam 1.220 adet süt örneğine, California mastitis testi (CMT) uygulandı. Örneklerin 107 (%8.77) adeti pozitif olarak değerlendirildi. CMT pozitif 107 örnek, 100 adet hayvandan alındı (7 adet hayvanın 2 farklı memesine ait süt örnekleri pozitif sonuç verdi). CMT pozitif tüm örnekler, somatik hücre sayısı bakımından da analiz edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. California Mastitis Testi (CMT)

CMT için ticari test ayırıcı kullanıldı (55140921, Kerbatest, Germany). Öncelikle meme lobları temizlenip, ilk 3-5 sıkım süt örneği atıldı. Yaklaşık 5-7 ml. süt örneği plastik test kabına sağılarak, üzerine aynı miktarda CMT ayırıcı eklendi. Karışım, yatay bir düzlemde hafif dairesel hareketlerle yaklaşık 15-20 saniye (sn.) karıştırıldı. Sonuçlar çıplak gözle değerlendirildi. Skorlama: 0 (negatif), 1 (hafif koyulaşma var ancak jel oluşumu yok), 2 (belirgin koyulaşma ve hafif jel oluşumu var) ve 3 (ani ve güçlü jel oluşumu var) (Şekil 5) şeklinde gerçekleştirildi (Godden ve vd., 2017; Mendoza ve vd., 2017). CMT sonucunda 1, 2 ve 3 olarak skorlanan hayvanların ilgili meme loblarından mikrobiyolojik inceleme için süt örnekleri alındı.

3.2.2. Süt örnekleri

Çalışmada kültür ve somatik hücre sayımı (SHS) amacıyla süt örnekleri alındı. Bu amaçla meme lobları öncelikle temiz su ile temizlendi ve kurutuldu. Takiben %70'lik alkolle muamale edilip, kuruması sağlandı. Tek kullanımlık eldiven kullanılarak, ilk 3-5 sıkımlık süt atıldıktan sonra, steril plastik tüplere iki seri olarak 3-5 ml süt örneği alındı (National Mastitis Council, 2009). Örneklerin bir serisi somatik hücre sayımı, diğer serisi ise kültür amacıyla kullanıldı. Süt örnekleri kısa sürede ve soğuk zincirde laboratuvarlara ulaştırıldı. İzolasyon çalışması Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, SHS çalışması ise Balıkesir Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.3. Stafilokok izolasyonu

Araştırma kapsamında CMT pozitif sonuç veren toplam 107 adet süt örneği izolasyon amacıyla kullanıldı. Örnekler %7 koyun kanlı agara (LB.120, Laborlar Biyoteknoloji Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul) ekilerek, 37°C'de ve aerobik koşullarda 1-3 gün inkübe edildi. Diğer yandan örneklerden mannitol salt red agar (MSA) (63567, Sigmaaldrich, Switzerland), MacConkey agar (1.00205.0500, Merck, Darmstadt, Germany) ve Saboraud dextrose agar'a (SDA) (1.05438.0500, Merck) ekimler yapıldı. MSA ve MacConkey agar'lar 37°C'de ve aerobik atmosferde 1-3 gün inkübe edildi (Boynukara vd., 1999; Murray, 2003; Quinn ve vd. 2011). SDA'ya ekimler iki seri olarak yapıldı, bir seri 25°C'de diğer seri ise 37°C'de 7 gün inkübe edildi (İlhan ve vd., 2016; Larone, 2011).

3.3. İdentifikasyon

İnkübasyonu takiben kanlı agarda üreyen koloniler öncelikle makroskopik ve mikroskopik morfolojileri yönünden incelendi. Gram pozitif koklar konvansiyonel testlerle identifiye edildi. Bu amaçla katalaz, koagülaz, çeşitli karbonhidrat

fermantasyon testleri, eskulin, indol, metil red, üre ve sitrat testleri yapıldı MSA ve MacConkey agara yapılan ekimlerde koloni morfolojisi dikkate alındı.

SDA’da üreyen etkenler üreme süresi, makroskobik ve mikroskopik morfoloji ile identifiye edildi (Larone, 2011).

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İzolatların *Staphylococcus* spp. olarak identifikasyonlarının doğrulanması amacıyla konvansiyonel PCR çalışması yapıldı. Bu amaçla cins spesifik primerler (756 bp) kullanıldı (Çiftçi ve vd., 2009) (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışmada identifikasyon amacıyla kullanılan oligonükleotid primer dizileri.

Gen	Oligonükleotid dizisi (5’-3’)	bp
Staph756F	AAC TCT GTT ATT AGG GAA GAA CA	756
Staph756R	CCA CCT TCC TCC GGT TTG TCA CC	756

PCR testi için 25 µl’lik PCR karışımı oluşturuldu. Karışım DEPC-treated water, 1X PCR solüsyonu, 0.2mM dNTP, 1.0 U Taq DNA polimeraz, 2.5 mM MgCl₂ 0.12 µM primer ve 5 µl template DNA içerecek şekilde hazırlandı.

PCR aşamaları olarak 94°C’de 5 dk ön denatürasyonu takiben 94°C’de 1 dk denatürasyon, 50°C’de 1 dk primer bağlanma, 72°C’de 2 dk uzama olmak üzere 30 siklus ve 72°C’de 10 dk final uzama koşullarında amplifikasyon işlemine tabi tutuldu (Çiftçi ve vd., 2009). Amplikonlar %1.5’lik agaroz jel koşturularak, UV transilluminatör ile görüntülendi. Teste pozitif kontrol olarak *S. aureus* (ATCC 25923), negatif kontrol olarak distile su kullanıldı.

3.5. Antibiyogram testi

İzole edilen toplam 24 adet *S. aureus* suşu brain heart infusion brothta (BHIB) (1.10493.0500, Merck) üretilip (McFarland No:0.5), Mueller-Hinton agar (MHA)'da (1.05437.0500, Merck) antibiyogram testi yapıldı. Test, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı (Bauer ve vd., 1966). Teste sefoperazon (75 µg, Oxoid), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg, Oxoid), oksitetrasiklin (30 µg, Oxoid), penisilin G (10 µg, Oxoid), sulphametaxazole/trimethoprim (25 µg, Oxoid), enrofloksasin (5 µg, Oxoid), vankomisin (30 µg, Oxoid), gentamisin (10 µg, Oxoid), eritromisin (15 µg, Oxoid) ve sefalothin (30 µg, Oxoid) kullanıldı (CLSI, 2017).

3.6. Somatik hücre sayımı

Mastitis enfeksiyonu şüpheli sütler için somatik hücre sayımları (SHS) Bentley FTS/FCM Combi 400 Cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. 200.000 hücre/mL'ye eşit veya daha yüksek sayımlar, yaygın olarak subklinik mastitisli hayvanların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Rhoda ve Pantoja, 2012; Jashari ve vd., 2016).



Şekil 5. SHS yapılan cihaz Bentley FTS/FCM Combi 400 (Bentley Nexgen 400) modeli ile.

4. BULGULAR

Meme loplarından süt örnekleri alınmadan klinik mastitis olabileceği öngörülen sığırların inspeksiyonla muayenesinde; memelerinin kızarıklık oldukları görülmüştür. Ayrıca palpasyonla yapılan fiziki muayenede ise yine memelerin şiş ve sertleşmiş oldukları görüldü. Memede oluşan yangıdan dolayı elle sağım yapıldığında numune almakta problem yaşanmıştır. Tarama yapılan ve 305 hayvan arasında CMT sonucu en az +1 olan klinik ve subklinik mastitis pozitif numune alınan hayvan sayımız 100 numune alınan meme sayısı ise 107 dir.

SHS sonucu 15.000-9.999.000 arasında değişiklik gösterdi.

Somatik hücre sayım ve CMT sonuçları Tablo 3’ te verilmiştir.

Tablo 3. CMT ve Somatik hücre sayımı sonuçları.

S.N.	ALINAN MEME	KLİNİK BULGU	CMT SONUCU	SHS SONUÇ
1	SOL ÖN	YOK	1	1.334.000
2	SAĞ ÖN	YOK	1	1.838.000
3	SOL ARKA	YOK	1	9.999.000
4	SAĞ ARKA	YOK	2	371.000
5	SAĞ ÖN	YOK	1	9.999.000
6	SAĞ ÖN	YOK	2	4.823.000
7	SOL ARKA	YOK	2	789.000
8	SOL ÖN	YOK	2	1.738.000
9	SAĞ ÖN	YOK	2	1.940.000
10	SAĞ ARKA	YOK	1	7.931.000
11	SOL ÖN	YOK	1	7.338.000
12	SOL ÖN	VAR	3	1.764.000
13	SAĞ ÖN	VAR	3	5.663.000
14	SAĞ ÖN	VAR	3	433.000
15	SOL ÖN	VAR	3	986.000
16	SAĞ ÖN	YOK	2	2.936.000
17	SOL ARKA	YOK	3	1.617.000
18	SAĞ ÖN	YOK	2	1.541.000
19	SOL ARKA	YOK	2	679.000
20	SAĞ ARKA	YOK	2	2.360.000

21	SAĞ ÖN	VAR	3	87.000
22	SOL ÖN	YOK	2	87.000
23	SAĞ ARKA	YOK	2	1.195.000
24	SOL ARKA	VAR	3	1.105.000
25	SAĞ ARKA	YOK	2	1.711.000
26	SOL ÖN	YOK	2	2.180.000
27	SOL ARKA	YOK	2	9.999.000
28	SAĞ ARKA	YOK	2	1.057.000
29	SOL ÖN	YOK	2	2.415.000
30	SOL ARKA	YOK	2	1.426.000
31	SAĞ ARKA	YOK	3	1.980.000
32	SAĞ ARKA	YOK	2	1.608.000
33	SOL ARKA	YOK	2	713.000
34	SAĞ ARKA	YOK	2	3.399.000
35	SOL ÖN	VAR	3	5.146.000
36	SAĞ ARKA	VAR	3	1.211.000
37	SAĞ ARKA	YOK	2	1.542.000
38	SOL ARKA	YOK	2	6.557.000
39	SAĞ ÖN	YOK	2	5.283.000
40	SAĞ ARKA	YOK	2	9.177.000
41	SOL ÖN	YOK	2	9.999.000
42	SAĞ ARKA	YOK	2	2.156.000
43	SAĞ ÖN	YOK	2	2.737.000
44	SOL ARKA	YOK	2	4.252.000
45	SOL ÖN	YOK	2	266.000
46	SAĞ ÖN	YOK	2	7.177.000
47	SOL ÖN	YOK	2	305.000
48	SOL ARKA	YOK	2	1.680.000
49	SOL ARKA	YOK	2	124.000
50	SAĞ ÖN	YOK	2	241.000
51	SOL ARKA	YOK	2	9.999.000
52	SAĞ ARKA	YOK	2	8.151.000
53	SOL ÖN	YOK	1	4.782.000
54	SAĞ ARKA	YOK	1	581.000
55	SAĞ ÖN	YOK	2	4.020.000
56	SOL ÖN	YOK	2	1.805.000
57	SOL ÖN	VAR	2	262.000

58	SAĞ ÖN	VAR	2	3.760.000
59	SOL ARKA	VAR	3	477.000
60	SAĞ ARKA	VAR	1	4.838.000
61	SOL ÖN	YOK	2	9.999.000
62	SAĞ ARKA	YOK	2	2.756.000
63	SAĞ ÖN	YOK	2	647.000
64	SOL ÖN	YOK	3	5.038.000
65	SOL ARKA	YOK	3	4.361.000
66	SAĞ ARKA	YOK	2	745.000
67	SOL ÖN	YOK	2	563.000
68	SOL ARKA	YOK	2	584.000
69	SOL ÖN	VAR	3	RET
70	SOL ARKA	YOK	3	8.535.000
71	SOL ÖN	YOK	2	1.424.000
72	SAĞ ÖN	YOK	2	321.000
73	SOL ÖN	YOK	2	134.000
74	SAĞ ÖN	VAR	3	1.602.000
75	SOL ARKA	YOK	1	1.166.000
76	SAĞ ARKA	YOK	2	983.000
77	SAĞ ÖN	YOK	2	722.000
78	SAĞ ARKA	YOK	2	1.892.000
79	SOL ARKA	YOK	2	1.942.000
80	SOL ÖN	YOK	2	272.000
81	SOL ARKA	YOK	2	2.049.000
82	SOL ARKA	YOK	1	519.000
83	SAĞ ARKA	YOK	1	532.000
84	SOL ARKA	YOK	1	531.000
85	SOL ARKA	YOK	2	143.000
86	SOL ÖN	YOK	2	1.232.000
87	SAĞ ARKA	YOK	1	942.000
88	SOL ARKA	YOK	2	1.744.000
89	SOL ARKA	YOK	1	9.896.000
90	SAĞ ÖN	YOK	1	4.064.000
91	SAĞ ARKA	YOK	1	8.666.000
92	SOL ARKA	YOK	2	316.000
93	SAĞ ÖN	YOK	2	254.000
94	SAĞ ARKA	YOK	2	313.000

95	SOL ARKA	YOK	2	2.892.000
96	SOL ARKA	YOK	2	4.521.000
97	SOL ÖN	YOK	1	727.000
98	SAĞ ÖN	YOK	2	1.380.000
99	SAĞ ÖN	YOK	2	1.179.000
100	SAĞ ARKA	YOK	2	15.000
101	SAĞ ARKA	YOK	2	9.999.000
102	SOL ARKA	YOK	2	607.000
103	SAĞ ÖN	YOK	2	1.563.000
104	SAĞ ARKA	YOK	2	3.157.000
105	SOL ARKA	YOK	2	2.320.000
106	SAĞ ARKA	YOK	2	160.000
107	SOL ARKA	YOK	2	1.353.000

4.1. CMT

Çalışmada, Balıkesir ilindeki işletmelerdeki farklı yaş gruplarına mastitisi klinik bulgusu gösteren ve göstermeyen ineklere ait 100 süt örneğine California Mastitis Testi (CMT) uygulanmıştır. CMT testi sonucu aşağıdaki Tablo 4’ te belirtilmiştir.

Tablo 4 . Tarama sonrası CMT sonuçları

CMT SONUCU			
Skor +1	Skor +2	Skor +3	Toplam CMT Pozitif (+)
18	73	16	107

CMT taraması yaptığımız çiftliğin, tarama sonrası genel bilgileri Tablo 5’ te verilmiştir.

Tablo 5. CMT uygulanan çiftliğin tarama sonuçları.

Tarama yapılan toplam inek sayısı	305
Alınan toplam süt örneği sayısı	107
CMT pozitif inek sayısı	100
CMT pozitif meme lobu sayısı	107
Sadece ön meme lobu (en az biri) pozitif inek sayısı	45
Arka meme lobu (en az biri) pozitif inek sayısı	55
CMT negatif inek sayısı	205
CMT (+1) skorlanan meme lobu sayısı	18
CMT (+2) skorlanan meme lobu sayısı	73
CMT (+3) skorlanan meme lobu sayısı	16



Şekil 6. Sahada CMT uygulaması.

4.2. Bakteri izolatları

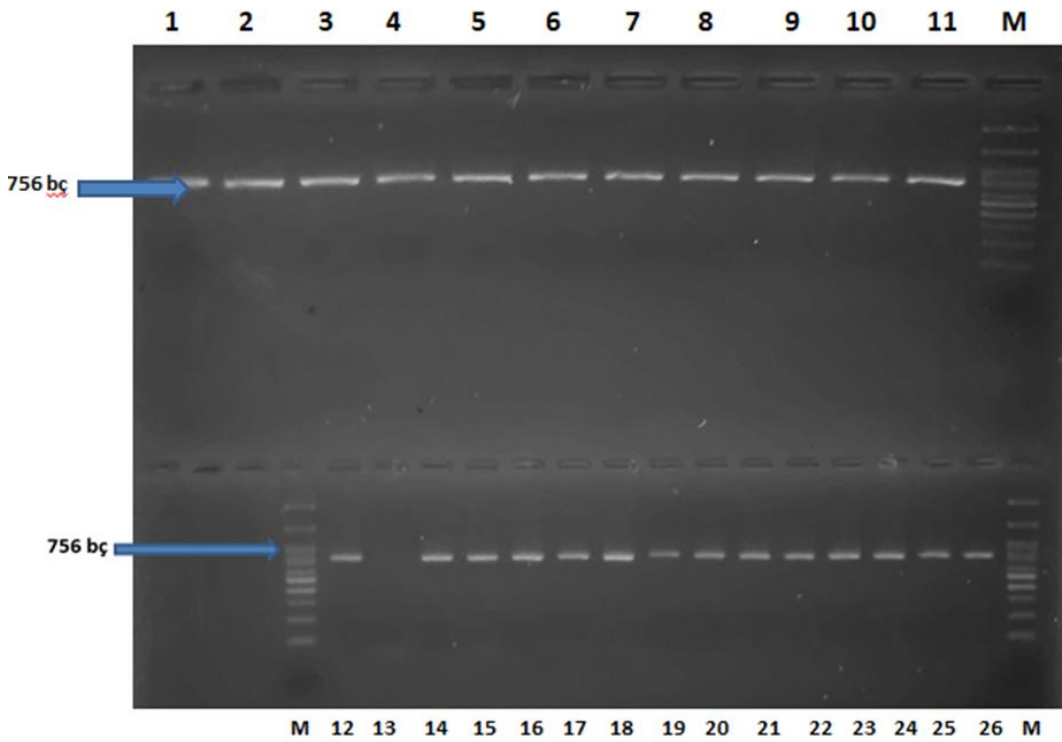
107 süt numunesinden toplam 156 izolat elde edildi. Miks olarak izole edilen izolat sayısı 83 (%53.20), saf kültür olarak izole edilen etken sayısı ise 73 (%46.79) idi.

S. aureus dışında izole edilen türler *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Bacillus* spp. ve maya olarak identifiye edildi (Tablo 6).

Tablo 6. İzole edilen mikroorganizma türlerinin yüzdelik dağılımı gösterilmiştir.

İzole edilen mikroorganizma türleri	İzolat sayısı
<i>E.coli</i>	39 (%25)
<i>Bacillus spp.</i>	32 (%20.51)
Maya	30 (%19.23)
<i>Streptococcus spp.</i>	29 (%18.58)
<i>S.aureus</i>	26 (%16.66)

Çalışmada kullanılan izolatların fenotipik olarak identifikasyonları sonucunda *Staphylococcus spp.* şüpheli izolatların tümü %100'ü *S. aureus* olarak identifiye edildi. Tüm izolatların *Staphylococcus spp.* 16S rRNA (geni (756 bp) içerdiğinin belirlenmesiyle identifikasyon doğrulandı.



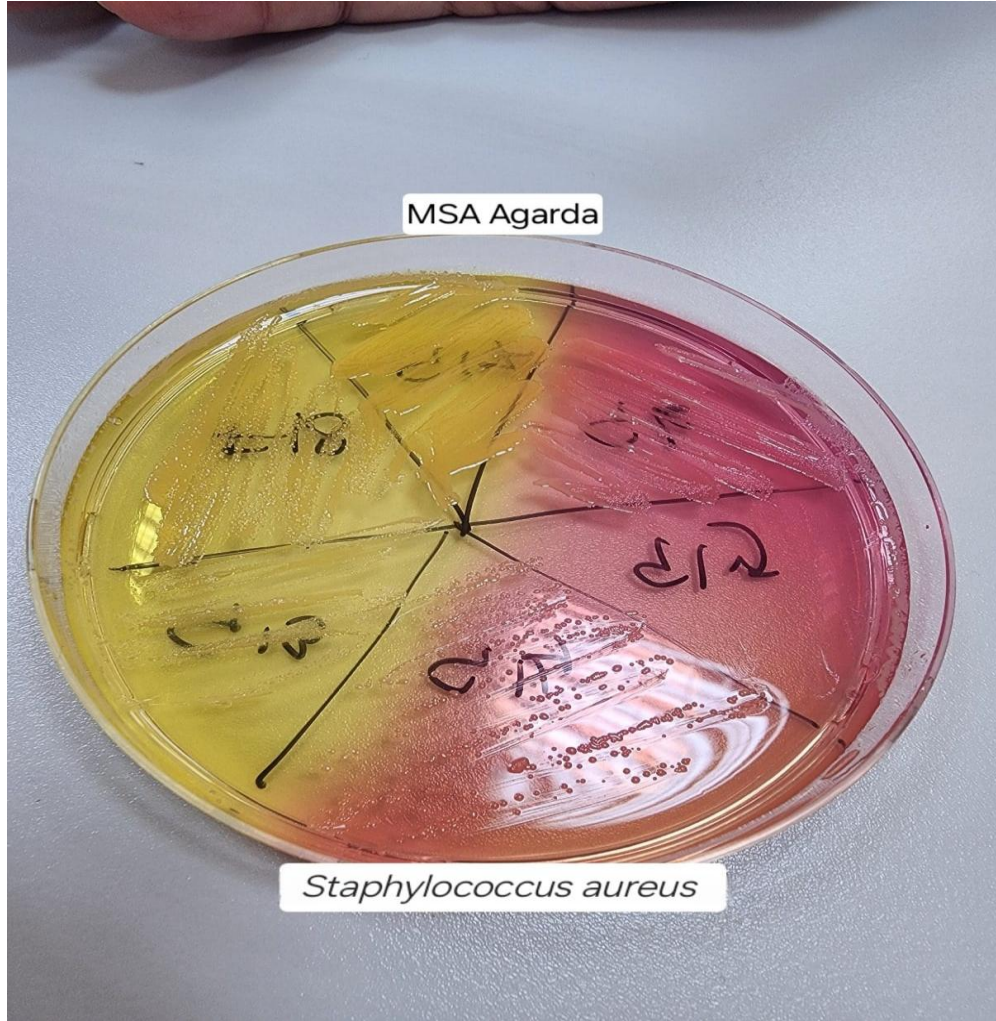
Şekil 7. İncelenen tüm izolatların *Staphylococcus spp.* genine sahip olduğu belirlendi.

İzolatların PCR elektroforez görüntüsü;

1.M:100 bç marker, 12:Pozitif kontrol, 13.Negatif kontrol 1-11, 14-26: İzolatlar

Tez çalışması kapsamında izolatların fenotipik ve genotipik identifikasyonları sonucunda 26 izolatın tamamının *Staphylococcus spp.* olduğu belirlendi. Fenotipik identifikasyonlar sonucu 26 tanesinin *S. aureus* olduğu tespit

edildi. Fenotipik identifikasyon amacıyla MSA'ya yapılan ekimler sonucunda üremeler şekil 7 de gösterilmiştir.



Şekil 8. MSA agarda *Staphylococcus aureus*.

4.3. Mikroskopik inceleme sonuçları

Çalışmada, şüpheli kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram boya yöntemi ile boyanarak mikroskop altında incelenmiştir. İnceleme sonrasında, Gram pozitif kok bakteriler tespit edildi.

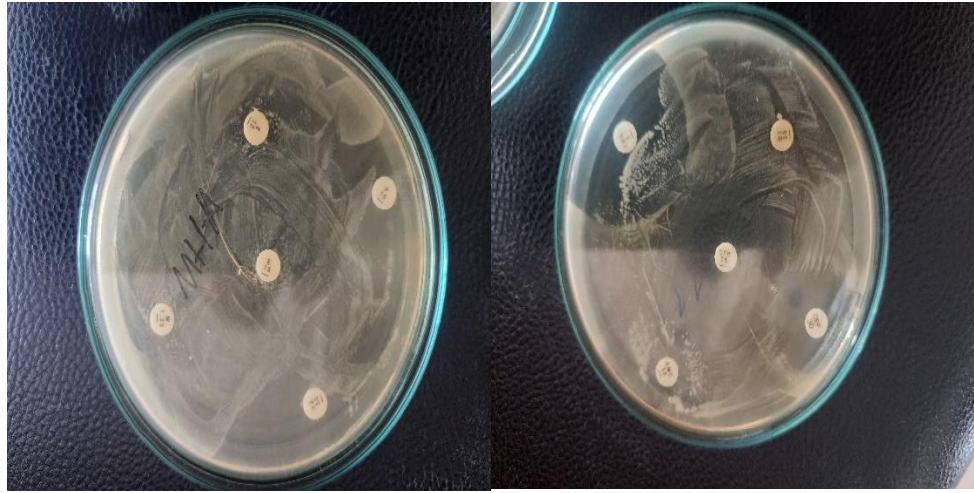
4.4. Biyokimyasal test sonuçları

Gram pozitif şüpheli koloniler Brain heart infusion broth'a (Oxoid CM1135) inoküle edilerek 37 ° C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda üreyen

koloni ve kùltùrlere katalaz, koagulaz, karbonhidrat fermentasyon testleri, indol, metil red- voges proskauer, ùre, sitrat kullanım testleri uygulandı. Yapılan biyokimyasal testler sonucunda 26 adet Şüpheli izolatın 26'sı (%100) *S. aureus* olarak tespit edildi.

4.5. Antibiyotik duyarlılık testi

Tùm *S. aureus* suşları mastitis sağaltımında yaygın olarak kullanılan çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık/dirençlilik durumlarının belirlenmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon testi kullanıldı.



Şekil 9. *In vitro* antibiyotik duyarlılık testi.

İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonucunda oluşan zon çapları CLSI (2019)'a uygun olarak değerlendirildi.

İzolatlar, en yüksek direnç oranının %80.76 (n=21) ile penisilin G'ye karşı olduğu, daha sonra sırası ile %73.07 (n=19) eritromisin, %65.38 (n=17) gentamisin, %46.15 (n=12) enrofloksasin ve %42.30 oksitetrasiklin (n=11) olarak belirlendi. En duyarlı olarak %69.23 ile (n=18) sefoperazon belirlendi. Bunu sırasıyla %65.38 ile (n=17) sefalotin, %61.53 ile (n=16) amoksisilin/klavulanik asit, %53.84 ile (n=14) vankomisin ve trimetoprim/sulfametoksazol olarak belirlendi. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına ait oranlar Tablo 7' de gösterilmiştir.

Tablo 7. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına ait oranlar.

Antibiyotik diskleri	R	I	S
Sefoperazon	2 (%7.69)	6 (%23.07)	18 (%69.23)
Sefalotin	1 (%3.84)	8 (%30.76)	17 (%65.38)
Enrofloksasin	12 (%46.15)	3 (%11.53)	11 (%42.30)
Vankomisin	4 (%15.38)	8 (%30.76)	14 (%53.84)
Oksitetrasiklin	11(%42.30)	5 (%19.23)	10 (%38.46)
Trimetoprim/sulfametoksazol	3(%11.53)	9 (%34.61)	14(%53.84)
Amoksisilin/klavulanik Asit	6(%23.07)	4(%15.38)	16 (%61.53)
Penisilin G	21 (%80.76)	2 (%7.69)	3(%11.53)
Gentamisin	17 (%65.38)	4(%15.38)	5(%19.23)
Eritromisin	19(%73.07)	3 (%11.53)	4 (%15.38)

Çoklu antibiyotik direnci, bir izolatın üç ya da daha fazla sayıda antibiyotiğe dirençli olması olarak ifade edilir (Magiorakos vd., 2012). Çalışmada izole edilen 26 *S. aureus* suşunun 4 tanesinin (%15.38) çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu tespit edildi. 3 tane izolatın 3 farklı antibiyotik sınıfına, 1 izolatın ise 4 farklı antibiyotiğe dirençli olduğu belirlendi. Toplam 22 izolatın ise çoklu antibiyotik direncine sahip olmadığı saptandı.

5. TARTIŞMA

Sığır mastitisleri özellikle süt işletmelerinde süt üretiminin azalması, tedavi ücretleri, kronik ve subklinik mastitislerde sürüye yayılma, tedavi edilememe nedeni ile memenin körleşmesi ve hayvanın yetiştirmeden çıkarılması gibi ekonomik kayıplara neden olur. Bu nedenle mastitis üreticiler için yüksek maliyeti olan bir hastalıktır (Ndahetuye vd., 2019). Sığır mastitisi, epidemiyolojik olarak bulaşıcı ve çevresel olarak sınıflandırılan çok çeşitli patojenlerin neden olduğu meme bezlerinin iltihabıdır. Üç ana faktörün etkileşiminden kaynaklanan karmaşık ve çok faktörlü bir hastalıktır: Hayvan, patojenler, çevresel ve yetiştirme faktörleri birlikte etkili olmaktadır. Bulaşıcı mastitiste, patojenlerin ana rezervuarı enfekte olan laktasyondaki ineklerin meme yapısıdır. *S. aureus*, *Mycoplasma* spp., *C. bovis* ve *S. agalactiae* gibi bakteriler, bulaşıcı mastitis patojenleridir. Çevresel mastitiste ise, birincil kaynak laktasyondaki ineklerin yaşadığı çevre olan mikroorganizmaların neden olduğu meme içi enfeksiyonlardır. *E. coli*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* ve *Klebsiella* spp. gibi bakteriler, yaygın çevresel patojenlerdir. Bu patojenlerin neden olduğu çevresel mastitislerin çoğunluğu klinik ve kısa sürelidir (Belay vd., 2022).

Mastitis, fiziksel ve kimyasal faktörler ile birlikte çoğunlukla çeşitli enfeksiyöz etkenler tarafından oluşturulmaktadır. Özellikle en sık rastlanan patojenler bakterilerdir. Mastitis vakalarında sütlerden bakteriyel, viral ve fungal olmak üzere 130'dan fazla farklı mikroorganizma türü izole edilmiştir (Belay vd., 2022; Ndahetuye vd., 2019; Vollenweider vd., 2023).

Bu araştırma kapsamında klinik ve subklinik mastitisli ineklerden elde edilen sütlerden izolasyon yapılmıştır. Fenotipik ve genotipik identifikasyonda 26 (% 16.66) adet stafilokok izolatu elde edilmiştir. Bu suşların tümünün *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların aynı zamanda antibiyotik dirençliliği de belirlenmiştir.

S. aureus en yaygın görülen kronik mastitis patojenlerindedir. Buzağılamadan sonra klinik mastitise görülse de genellikle subklinik mastitise daha sık rastlanır. Subklinik mastitiste sütte ya da memede klinik değişiklikler olmadan somatik hücre sayısında artış saptanır.

Ayrıca *S. aureus*, sığırlarda kontagiyöz enfeksiyona neden olan mastitis patojenlerindedir (Sezener vd., 2019). Mastitis izolatu *S. aureus* suşlarında

antibiyotik dirençliliğinin ve bazı virülens genlerinin araştırılması. (Gökdağ ve Ciftci., 2021). California mastitis testi (CMT), özellikle subklinik mastitislerin teşhisi için sütteki somatik hücre sayısının (SHS) yaklaşık olarak tahmin edilebilmesine olanak sağlayan bir testtir. Testin uygulanması için oldukça basittir. Kompleks ekipmanlara gerek duyulmaz, hızlı sonuç veren, önemli bir testtir. CMT, sütteki SHS miktarına yönelik sayısal bir değer vermez. Ancak hücre sayılarının yüksek veya düşük olduğuna dair fikir verir. CMT pozitif hayvanlara şüphe ile yaklaşılması genel bir uygulamadır. Ancak, CMT negatif olan hayvanlarında mastitis negatif olarak değerlendirilmemesi gereklidir (Gezgen ve Şeker., 2016; Vural vd., 2016). CMT mastitis olgularının erken tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. CMT testinin mastitislerin tanısında sensitivitesinin % 82,4 spesifitesinin % 80.6 olduğu belirtilmiştir (Dingwell vd., 2003). Araştırmada ayrıca mastitis tanısında CMT'nin hızlı, doğru ve ekonomik olduğu belirtilmektedir. CMT testinin mastitis tanısında kullanılabilir güvenilir 1057 meme lobundan alınan süt örneklerini CMT ve SHS (Somatik Hücre Sayısı) ölçümleri ile kontrol edildiğinde duyarlılığının sırasıyla % 61 ve % 76 olduğunu bildirilmiştir (Middleton vd., 2004).

Bu çalışmada CMT ve SHS testi yapılan ve pozitif olarak değerlendirilen 107 süt örneğinden 26 tanesinde etken *S. aureus* olarak belirlenmiştir. Araştırmamızda CMT +1 olarak derecelendirilen meme loblarında izole edilen *S. aureus* tüm *S. aureus* izolatları içinde %34.61, +2 olarak derecelendirilen meme loblarında %46.15 ve CMT +3 olarak derecelendirilen meme loblarında ise %19.23 olarak tespit edildi.

Mastitis etiyolojisinde rol oynayan mikroorganizmaların ve antibiyotik dirençliliği bölgesel olarak farklılık gösterebilmektedir (Hendriksen vd., 2008). Klinik ve subklinik mastitislerden izole edilen en önemli etken *S. aureus*'tur. Etken hem subklinik olarak enfeksiyona sebep olur hem de tedavisi zordur ve kronik hale gelir. 1126 süt örneğinin incelendiği bir araştırmada 316' sından (% 28,1) *S. aureus* identifiye edildiği bildirilmiştir (Türütoğlu vd., 1995).

Başka bir çalışmada ise 256 subklinik mastitis enfeksiyonu vakasında %40.2 non-aureus Stafilokok (NAS), %22 ise *S. aureus* izole edilmiştir (Ndahetuye vd., 2019). Subklinik mastitis pozitif 385 süt örneğinin %37,14'ünde (143/385) *S. aureus* tespit edilmiştir (Javed vd., 2021). Bir başka çalışmada ise mastitis pozitif ineklerden izole edilen patojen bakteriler *S. aureus* (%28,1), *E. coli* (%21,1), *Bacillus* spp. (%14), *Streptococcus* spp. (%14), *Koagülaz Negatif stafilokok* (%12,3),

Enterobacter spp. (%3,5), *Klebsiella* spp. (%1,8), *Corynebacterium* spp. (%1,8), *Actinobacillus* spp. (%1,8) ve *Proteus* spp. (%1,8) olarak belirlenmiştir. (Abebe vd., 2023).

Rüegsegger ve arkadaşları tarafından 2011 ve 2013 yılları arasında İsviçre'nin farklı bölgelerinde subklinik ve klinik mastitisli hayvanlardan toplanan 3954 süt örneğinden 1228 (%31) *S. uberis*, 1107 (%29) *Staphylococcus* spp., 598 (%15) *E. coli*, 490 (%12) *S. aureus*, 270 (%7) *Enterococcus* spp. ve 213 (%5) *S. dysgalactiae* izole edilmiştir. Ayrıca *Mannheimia hemolytica*, *P. aeruginosa*, *S. agalactiae*, *Pasteurella* sp., *Proteus* sp., *Serratia* sp. ve diğer *Streptococcus* spp. %1'den daha düşük oranda belirlenmiştir (Rüegsegger vd., 2014).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da mastitis vakalarında farklı oranlarda *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Diyarbakır'da yapılan bir çalışmada CMT pozitif subklinik mastitisli ineklerden elde edilen izolatların %24,63'ü *S. aureus* olarak belirlenmiştir. (Yeşilmen vd., 2012). Kırıkkale'de yapılan bir araştırmada CMT pozitif 836 meme lobundan alınan süt örneklerinden %28,17 oranında *S. aureus* identifiye edildiği bildirilmiştir (Macun vd., 2011). Kırıkkale'de belirlenen subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve antibiyotik direnç durumu. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8(2), 91-95.). Mastitisli ineklerde *Staphylococcus* türlerinin prevalansını araştırdığı bir araştırmada ise, 972 süt örneğinden %32,97 *S. aureus* izolasyon oranı rapor edilmiştir (Gezgen vd., 2016).

Bizim çalışmamızda ise CMT ve SHS pozitif olarak değerlendirilen 107 süt numunesinden 26 (%16.67) adet *S. aureus* izole edilmiştir. Bu izolasyon oranı Türkiye ve dünyada yapılan diğer çalışmalardaki izolasyon oranı ile benzerlik göstermektedir. Çalışmalar arasındaki oransal farklılıklarda örneklenen hayvan sayısı, yaşı, çalışılan numune sayısı, hijyen koşulları, coğrafi bölge, mevsimsel farklılıklar ve *S. aureus*'a karşı mastitis aşı uygulama yaygınlığı da etkili olmaktadır (Gezgen vd., 2016).

Mastitis etkenlerinin saptanmasına yönelik standart kültür teknikleri zaman alıcıdır. PCR tabanlı testler daha kısa sürede sonuç verebilmektedir. Süt örneklerinden izole edilen bakteriyel kültürlerde mastitis patojenleri tanımlayabilen PCR teknikleri bulunmaktadır. Az sayıdaki etken rahatlıkla tespit edilebilmektedir. Ancak bazen PCR inhibitörleri, uygulama ve primer problemleri nedeniyle yanlış negatiflik oluşabilmektedir. Araştırmamızda kullanılan primerlerin, agaroz jel

elektroforezde her primer seti için sadece tek bant gözleendiği için *Staphylococcus* spp. için spesifik olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda incelenen 107 süt örneğinin 26 tanesi fenotipik izolasyon sonrası *S. aureus* olarak belirlenmiştir. Genotipik identifikasyonda spesifik primerlerle gerçekleştirilen PCR testinde ise tüm izolatların *Staphylococcus* spp. olduğu saptanmıştır.

Süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmelerin en önemli ve maliyeti yüksek hastalıklarından birisi olan mastitislerde tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı oldukça yaygındır. Ancak antibiyotiklerin fazla ve hatalı kullanımı sonucu mastitis etkenlerinin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır (Ünal, N. (2007).

Ülkemizde ve dünyada yıllara göre mastitis vakalarına neden olan patojenler farklılık göstermektedir. Ancak özellikle *S. aureus* başta olmak üzere stafilokoklar önemli ve ciddi problem olmaya devam etmektedir. Bu durumun en büyük nedenlerinden biri de etkenlerin çeşitli mekanizmalarla geliştirdikleri antibiyotik direncidir.

Antimikrobiyal direnç (AMR), patojenlerin, daha önce etkili olan antimikrobiyallere direnç göstermesi ve bu ilaçların etkisiz olması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Tüm dünyada AMR, süt endüstrisi, insan ve hayvan sağlığı için önemli bir tehdit olmaya devam etmektedir. AMR, aynı zamanda uluslararası gıda güvenliği ve sağlık için en büyük tehlikelerden biridir. Mastitise etkenlerinden *S. aureus*'un antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumlarını değerlendiren birçok araştırma bulunmaktadır. *S. aureus* özellikle subklinik ve kronik mastitiste sıklıkla rastlanır. Sıklıkla disk difüzyon yöntemi uygulanmaktadır (Molineri vd., 2021).

Yapılan bir çalışmada *S. aureus*'un genel olarak en yüksek direnci penisiline karşı olduğu belirlenmiştir (p-estimate=0,451, CI95 %0,415-0,487). Bunu klindamisin, eritromisin ve gentamisin takip etmiştir (sırasıyla p-estimate = 0,149, 0,085 ve 0,069). Seftiofur ve sefalotin ise en düşük genel antimikrobiyal direnç göstermiştir (AMR, p-estimate= 0,020 ve 0,015) (Molineri vd., 2021).

Subklinik mastitisli sığırlarda yapılan bir çalışmada izole edilen *S. aureus*' un %75,7'sinin penisilin, %71,4'ünün ise ampisiline dirençli olduğu belirlenmiştir (Demil vd., 2022).

Younis ve vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, mastitisli sütlerden izole edilen 400 *S. aureus* suşunun, penisiline (% 96,6) ve tetrasikline (% 52) yüksek oranda dirençli olduğunu belirlemişlerdir. (Younis vd., 2000).

İrlanda (%71), Tayland (%67) ve İngiltere (%67), ABD (%50) gibi ülkelerde de *S. aureus* izolatlarının yüksek penisilin direnci gösterdiği tespit edilmiştir (Vintov J vd., 2003).

Staphylococcus spp. suşlarının 1960'lı yıllardan itibaren penisilin direncinin oldukça yüksek düzeye ulaştığı bildirilmiştir. *S. aureus* suşları penisilinaz enzimi üretmeye başlayarak penisiline direnç geliştirmiş ve bu dirençli suşlar hızla yayılmıştır. (Blair vd. 1960).

Yapılan bir araştırmada ineklerde meme başı örneklerinden izole edilen stafilocok türlerinin penisiline %46.3, tetrasikline %26.6, trimetoprim-sulfametaksazol'e %3.7, gentamisine %1.8, eritromisine %0.5, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Tüm suşların enrofloksasin, vankomisin oksasilin, sefalotin, rifampin, ve linezolid'e ise duyarlı olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada süt örneklerinden izole edilen stafilocok türlerinin, penisiline %49.5, tetrasikline %34.7, eritromisine ve trimetoprim-sulfametaksazole %10.5, oksasiline, sefalotin ve gentamisine %3.1, dirençli olduğu tespit edildi. Tüm suşlar enrofloksasin, rifampin, vankomisin ve linezolid'e duyarlı bulunmuştur (Ünal vd., 2010).

Konya bölgesinde yapılan bir çalışmada mastitisli sütlerden izole edile *S. aureus* türlerinin sefalosporinlere % 72,4, eritromisin'e % 68,1, tetrasiklin'e % 50,2, ampisilin'e % 37,8, kanamisin'e % 37,2, streptomisin'e % 32,4, penisilin'e % 28,1, oranında duyarlı oldukları bildirilmiştir (Ateş vd., 1991).

Bir çalışmada CMT pozitif örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının % 82,22'sinin ampisillin/sulbaktam'a, % 77,4'ünün streptomisine, % 74,1'inin sefaperazona, % 70,9'unun enrofloksasine, % 62'sinin amoksisilin-klavulonik asite, % 59,6'sının danofloksasine, %54,8'inin nistatine, % 27,4'ünün eritromisine, % 25'inin penisilin-G ye, % 22,5'inin tetrasikline duyarlı oldukları belirlenmiştir. (Kuyucuoğlu vd., 2001).

Bir diğer araştırmada mastitis vakalarından izole edilen 56 adet *S. aureus* izolatının sırasıyla sefaperazon (%64,29), penisilin G (%50,00), amoksisilin-klavulonik asit (%46,43), oksasilin (%44,64), tetrasiklin (%41,07), teikoplanin (%33,93), trimetoprim/sulfometaksazol (%25,00), vankomisin (%23,21)' e dirençli olduğu belirlenmiştir (Sezener vd., 2019).

Bu çalışmada ise en yüksek direnç oranının %80.76 ile penisilin G'ye karşı olduğu, bu oranı %73.07 eritromisin, %65.38 gentamisin, %46.15 enrofloksasin ve %42.30 oksitetrasiklin olarak belirlendi. En duyarlı antibiyotik %69.23 ile sefoperazon olarak belirlendi. Bunu sırasıyla % 65.38 ile sefalotin, %61.53 ile Amoksisilin/Klavulanik Asit, %53.84 ile vankomisin ve Trimetoprim/Sulfametoksazol olarak belirlendi. Bu çalışmada da yukarıda belirtilen araştırmalar ile elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdi (Ateş vd., 1991; Kuyucuoğlu vd., 2001; Sezener vd., 2019; nal vd., 2010).

6. SONUÇ

Subklinik mastitisli hayvanlar sürüdeki diğer sığırlar için bir enfeksiyon kaynağı oluşturabilmektedir. Subklinik mastitis klinik mastitise göre çok daha yüksek oranda görülmektedir. Bu da subklinik mastitislerin ekonomik önemini artırmaktadır. Günümüzde *S. aureus* kaynaklı sığır mastitis vakalarının önlenememesi sürüde belki de çok sayıdaki rezervuar hayvanların belirlenmesinin yetersiz olması nedeni ile özellikle subklinik enfeksiyonları ortaya koyamamaları ve sürü içinde patojen yayılması kaynaklı olabilmektedir. Ayrıca birçok antibiyotik uygulama sonucunda meydana gelen antibiyotik dirençliliği hem hayvan hem de halk sağlığını önemli derecede etkilemektedir.

Çalışmamızda izole edilen *S. aureus*, mastitis çalışmalarında izole edilenler ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. Klasik biyokimyasal ve fenotipik identifikasyonlar ile birlikte moleküler metodlar kullanılmıştır. Sadece saha testleri değil, kültürel ve genetik testler de güvenilir ve doğru teşhisler için birlikte uygulanmalıdır. Yapılan araştırmada *S. aureus* oranı mastitis vakalarında yüksek olmasa da özellikle antibiyotik dirençliliği nedeniyle ciddi bir problem olmaya devam etmektedir.

Antibiyotik tedavisi uygulanacağı durumlarda *S. aureus*'un farklı antibiyotik duyarlılıklarının olabileceği belirlenmiştir. Özellikle antibiyotik dirençliliğinin arttığı günümüzde hem insan hem de hayvan sağlığı için antibiyogram testi ile en doğru antibiyotik belirlenmelidir. Aksi takdirde *S. aureus* gibi antibiyotik dirençliliği yüksek olan patojenler tedavi edilemeyebilir. Gereksiz ve etkili olmayan antibiyotiklerin kullanılması tedavi sürecini uzamasına, ciddi ekonomik kayıplara, süt ve süt ürünlerinde kalıntıya sebep olacaktır. Ayrıca *S. aureus* kaynaklı mastitis enfeksiyonu kronik forma dönüşerek hayvanın tedavi edilemeyerek elden çıkarılmasına neden olacaktır. Tedavi edilemeyen hayvanlar sürüdeki diğer hayvanlar için de enfeksiyon kaynağı olacaktır.

Özellikle pensilin, eritromisin, gentamisin, enrofloksasin ve oksitetrasiklin dirençliliğinin yüksek olması nedeni ile ilgili işletmelerde bu antibiyotiklerin kullanılmaması tavsiye edilmektedir. Bu antibiyotikler yerine dirençlilik oranları daha düşük olan antibiyotiklerin kullanımı işletmede başarılı bir tedavi için daha

yararlı olacaktır. Mastitis etkenlerinin antimikrobiyal dirençliliklerinin belirli aralıklar ile incelenmesi tedavide ve *S. aureus* eliminasyonunda başarıyı arttıracaktır.

KAYNAKLAR

- 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 veterinary research*, 12(1), 270. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0905-3>
- Abebe, R., Markos, A., Abera, M., & Mekbib, B. (2023). Incidence rate, risk factors, and bacterial causes of clinical mastitis on dairy farms in Hawassa City, southern Ethiopia. *Scientific reports*, 13(1), 10945. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37328-1>
- Abrahmsén, M., Persson, Y., Kanyima, B. M., & Båge, R. (2014). Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Tropical animal health and production*, 46(1), 99–105. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0455-7>
- Amin, A. S., Hamouda, R. H., & Abdel-All, A. A. (2011). PCR assays for detecting major pathogens of mastitis in milk samples. *World J Dairy Food Sci*, 6(2), 199-206.
- Amini, B., Baghchehsaraei, H., & Haji, O. F. M. (2009). Effect of different sub MIC concentrations of penicillin, vancomycin and ceftazidime on morphology and some biochemical properties of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates.
- TUIK 2023. Türkiye İstatistik Kurumu Çiğ Süt Üretim İstatistikleri, 2023
- TUIK 2024. Türkiye İstatistik Kurumu Hayvancılık İstatistikleri, Haziran 2024.
- Arda M (2006) Temel Mikrobiyoloji 3. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara
- Arslan, S., & Ozkardes, F. (2007). Slime production and antibiotic susceptibility in *staphylococci* isolated from clinical samples. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102(1), 29–33. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762007000100004>
- Asli, A., Brouillette, E., Ster, C., Ghinet, M. G., Brzezinski, R., Lacasse, P., Jacques, M., & Malouin, F. (2017). Antibiofilm and antibacterial effects of specific chitosan molecules on *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. *PloS one*, 12(5), e0176988. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176988>
- Atasever, S., & Erdem, H. (2009). Association between subclinical mastitis markers and body condition scores of Holstein cows in the Black Sea region, Turkey. *J. Anim. Vet. Adv*, 8(3), 476-480.
- Ateş, M., Erganiş, O., Çorlu, M., & Serpek, B. (1991). Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDH aktivitesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 16, 19-29.).
- Baştan A. İneklerde Meme Hastalıkları. Hatiboğlu Basım ve Yayımlar San.Tic.Ltd.Şti Ankara Üniversitesi, 2. Baskı, 2007
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4-ts), 493-496.
- Bayril, T., Yıldız, A. S., Akdemir, F., Yalcin, C., Köse, M., & Yilmaz, O. (2015). The Technical and Financial Effects of Parenteral Supplementation with Selenium and Vitamin E during Late Pregnancy and the Early Lactation Period on the Productivity of Dairy Cattle. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28(8), 1133–1139. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0960>
- BeckelY, M., & Johnson, T. (1966). 5 year study of californa mastitis test testing on a commercial dairy herd. *In Journal of Dairy Science* (49)6,746). 1111 N Dunlap Ave, Savoy, IL 61874: American Dairy Science Association.
- Belay, N., Mohammed, N., & Seyoum, W. (2022). Bovine Mastitis: Prevalence, Risk Factors, and Bacterial Pathogens Isolated in Lactating Cows in Gamo Zone, Southern Ethiopia. *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)*, 13, 9–19. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S344024>.

- Blair, J. E., & Carr, M. (1960). Distribution of Phage Groups of *Staphylococcus aureus* in the Years 1927 through 1947. *Science* (New York, N.Y.), 132(3435), 1247–1248. <https://doi.org/10.1126/science.132.3435.1247>.
- Blowey, R. W., & Edmondson, P. (2010). Mastitis control in dairy herds. Cabi.
- Bogni, C., Odierno, L., Raspanti, C., Giraud, J., Larriestra, A., Reinoso, E., ... & Vissio, C. (2011). War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances*, 483-494
- Bradley A. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary journal* (London, England : 1997), 164(2), 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2002.0724>
- Bytyqi, H., Zaugg, U., Sherifi, K., Hamidi, A., Gjonbalaj, M., Muji, S., & Mehmeti, H. (2010). Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosova. *Veterinarski arhiv*, 80(2), 173-183.
- Chandra, G., Aggarwal, A., Singh, A. K., Kumar, M., & Upadhyay, R. C. (2013). Effect of vitamin e and zinc supplementation on energy metabolites, lipid peroxidation, and milk production in peripartum sahiwal cows. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 26(11), 1569–1576. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12682>
- Chen, K., & Rajewsky, N. (2007). The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nature reviews. Genetics*, 8(2), 93–103. <https://doi.org/10.1038/nrg1990>
- Ciftci, A., Findik, A., Onuk, E. E., & Savasan, S. (2009). Detection of methicillin resistance and slime factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 254-261.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty. CLSI Document M100-S27. Wayne, PA.
- Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020). Epidemiology and Classification of Mastitis. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(12), 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
- De Visscher, A., Piepers, S., Haesebrouck, F., & De Vlieghe, S. (2016). Intramammary infection with coagulase-negative staphylococci at parturition: Species-specific prevalence, risk factors, and effect on udder health. *Journal of dairy science*, 99(8), 6457–6469. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10458>
- 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. *Journal of dairy science*, 95(3), 1025-1040.
- Demil, E., Teshome, L., Kerie, Y., Habtamu, A., Kumilachew, W., Andualem, T., & Mekonnen, S. A. (2022). Prevalence of subclinical mastitis, associated risk factors and antimicrobial susceptibility of the pathogens isolated from milk samples of dairy cows in Northwest Ethiopia. *Preventive veterinary medicine*, 205, 105680. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105680>.
- Dingwell, R.T., Leslie, K.E., Schukken, Y.H., Sargeant, J.M. & Timms, L.L. 2003. Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, 44: 413-416).
- Djabri, B., Bareille, N., Beaudou, F., & Seegers, H. (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary research*, 33(4), 335–357. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002021>
- Dohoo, I. R., & Meek, A. H. (1982). Somatic cell counts in bovine milk. *The Canadian Veterinary Journal*, 23(4), 119.
- Drackley J. K. (1999). ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. *Journal of dairy science*, 82(11), 2259–2273. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75474-3)

- Erskine, R. J., Bartlett, P. C., Johnson, G. L., 2nd, & Halbert, L. W. (1996). Intramuscular administration of ceftiofur sodium versus intramammary infusion of penicillin/novobiocin for treatment of *Streptococcus agalactiae* mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208(2), 258–260.
- Erskine, R. (2001). Ten myths of mastitis therapy. In *Proc. NMC-PDPW Milk Quality Conference. Natl. Mastitis Counc., Madison, WI* (pp. 60-65).
- Erskine, R. J., Wagner, S., & DeGraves, F. J. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 19(1), 109–vi. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(02\)00067-1](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(02)00067-1)
- Fadlemlula, A., Al Dughaym, A. M., Mohamed, G. E., Al Deib, M. K., & Al Zubaidy, A. J. (2009). Bovine mastitis: epidemiological, clinical and etiological study in a Saudi Arabian large dairy farm. *Bulgarian journal of veterinary medicine*, 12(3).
- Fox, L. K., & Gay, J. M. (1993). Contagious mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(3), 475-487.
- Fox, L. K., & Adams, D. S. (2000). The ability of the enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibody against *Staphylococcus aureus* in milk following experimental intramammary infection. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 47(7), 517–526. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2000.00379.x>
- Fry, P. R., Middleton, J. R., Dufour, S., Perry, J., Scholl, D., & Dohoo, I. (2014). Association of coagulase-negative staphylococcal species, mammary quarter milk somatic cell count, and persistence of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 97(8), 4876–4885. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7657>
- Gezgen, C., Şeker, E. (2016). Investigation of methicillin resistance and panton-valentine leukocidin in staphylococci isolated from bovine mastitis. *Acta Scientiae Veterinariae*, 44: 1373, 1-9
- Godden, S. M., Royster, E., Timmerman, J., Rapnicki, P., & Green, H. (2017). Evaluation of an automated milk leukocyte differential test and the California Mastitis Test for detecting intramammary infection in early- and late-lactation quarters and cows. *Journal of dairy science*, 100(8), 6527–6544. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12548>
- Gonzalo, C., Martínez, J. R., Carrledo, J. A., & San Primitivo, F. (2003). Fossomatic cell-counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. *Journal of dairy science*, 86(1), 138–145. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73593-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73593-0)
- Gökdağ, M. O., & Çiftci, A. (2021). Antibiotic Resistance and Virulence Gene Profiles in Staphylococci Isolated from Cattle with Mastitis. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(3), 395-402.
- Gröhn, Y. T., Wilson, D. J., González, R. N., Hertl, J. A., Schulte, H., Bennett, G., & Schukken, Y. H. (2004). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(10), 3358–3374. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73472-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73472-4)
- Gudding, R., McDonald, J. S., & Cheville, N. F. (1984). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* mastitis: bacteriologic, histologic, and ultrastructural pathologic findings. *American journal of veterinary research*, 45(12), 2525-2531.
- Gudmundson, J., & Chirino-Trejo, J. M. (1993). A case of bovine mastitis caused by *Campylobacter jejuni*. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B*, 40(5), 326–328. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1993.tb00145.x>
- Gürtürk, K., Boynukara, B., & Gülhan, T. (1998). Van ve yöresindeki ineklerde subklinik mastisin etiyojisi üzerine bir çalışma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(1), 1-4.
- Harmon R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of dairy science*, 77(7), 2103–2112. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)

- Hendriksen, R. S., Mevius, D. J., Schroeter, A., Teale, C., Meunier, D., Butaye, P., Franco, A., Utinane, A., Amado, A., Moreno, M., Greko, C., Stärk, K., Berghold, C., Myllyniemi, A. L., Wasyl, D., Sunde, M., & Aarestrup, F. M. (2008). Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from cattle in different European countries: 2002-2004. *Acta veterinaria Scandinavica*, 50(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-28>.
- Hiss, S., Mielenz, M., Bruckmaier, R. M., & Sauerwein, H. (2004). Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. *Journal of dairy science*, 87(11), 3778–3784. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73516-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73516-X)
- Hundera, S., Ademe, Z., & Sintayehu, A. (2005). Dairy cattle mastitis in and around Sebeta, Ethiopia. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 3(4), 1525-1530.
- İlhan, Z., Ekin, I. H., Koltas, S., Gülaydın, O., Öztürk, C., Borum, AE. (2016). Occurrence of fungal agents in mastitis in dairy goats. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(3), 4691-4700.
- Jashari, R., Piepers, S., & De Vliegher, S. (2016). Evaluation of the composite milk somatic cell count as a predictor of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 99(11), 9271-9286.
- Javed, M. U., Ijaz, M., Fatima, Z., Anjum, A. A., Aqib, A. I., Ali, M. M., Rehman, A., Ahmed, A. & Ghaffar, A. (2021). Frequency and antimicrobial susceptibility of methicillin and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* from bovine milk. *Pakistan Veterinary Journal*, 41(4).
- Jensen, N. E., Aarestrup, F. M., Jensen, J., & Wegener, H. C. (1996). *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *International journal of food microbiology*, 32(1-2), 209–216. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01105-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01105-1)
- Jones, G. M., & Bailey, T. L. (2009). Understanding the basics of mastitis. Virginia Cooperative Extension Publication No. 404- 233, Virginia State University, USA
- Kalorey, D. R., Kurkure, N. V., Warke, S. R., & Barbuddhe, S. B. (2007). Evaluation of indirect and avidin-biotin enzyme linked immunosorbent assays for detection of anti-listeriolysin O antibodies in bovine milk samples. *Zoonoses and public health*, 54(8), 301–306. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01066.x>
- Kathiriya, J. B., Kabaria, B. B., Saradava, D. A., & Sanepara, D. P. (2014). Prevalence of subclinical mastitis in dairy cows in Rajkot district of Gujarat. *Int. J. Sci. Nat*, 5, 433-436.
- Khan, M. Z., & Khan, A. (2006). Basic facts of mastitis in dairy animals: A review. *Pakistan veterinary journal*, 26(4), 204.
- Khate, K., & Yadav, B. R. (2010). Incidence of mastitis in Sahiwal cattle and Murrah buffaloes of a closed organized herd. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 80(5).
- Kibebew, K. (2017). Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 7(2), 1-14
- Koskinen, M. T., Wellenberg, G. J., Sampimon, O. C., Holopainen, J., Rothkamp, A., Salmikivi, L., van Haeringen, W. A., Lam, T. J., & Pyörälä, S. (2010). Field comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. *Journal of dairy science*, 93(12), 5707–5715. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3167>
- Król, J., Brodziak, A., Litwińczuk, Z., & Litwińczuk, A. (2013). Effect of age and stage of lactation on whey protein content in milk of cows of different breeds. *Polish journal of veterinary sciences*, 16(2), 395–397. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0055>
- Kuang, Y., Tani, K., Synnott, A. J., Ohshima, K., Higuchi, H., Nagahata, H., & Tanji, Y. (2009). Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR–DGGE method. *Biochemical engineering journal*, 45(1), 76-81.
- Kulkarni, A. G., & Kaliwal, B. B. (2013). Bovine mastitis: a review. *International Journal of Recent Scientific Research*, 4(5), 543-548.

Kuyucuoğlu, Y., & Uçar, M. (2001). Afyon bölgesi süt ineklerinde subklinik ve klinik mastitislerin görülme oranları ve etkili antibiyotiklerin tespiti. *Vet Hek Mikrobiyol Derg*, 1, 19-24).

Lakew, B. T., Fayera, T., & Ali, Y. M. (2019). Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 51(6), 1507–1513. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01838-w>

Larone DH: 2011. Medically important fungi: A guide to identification. 5th Edition, ASM Press, Washington DC, USA.

Lassa, H., & Smulski, S. (2013). Yeast like fungi as etiological agents of mastitis in cows. *Życie Weterynaryjne*, 88(11), 954-956.

Madico, G., Quinn, T. C., Boman, J., & Gaydos, C. A. (2000). Touchdown enzyme time release-PCR for detection and identification of *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae*, and *C. psittaci* using the 16S and 16S-23S spacer rRNA genes. *Journal of clinical microbiology*, 38(3), 1085–1093. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.3.1085-1093.2000>

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.

Malinowski, E., Lassa, H., Kłossowska, A., Smulski, S., Markiewicz, H., & Kaczmarowski, M. (2006). Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Polish journal of veterinary sciences*, 9(3), 191–194.

Malinowski, E., & Gajewski, Z. (2010). Mastitis and fertility disorders in cows. *Polish journal of veterinary sciences*, 13(3), 555–560.

Matsui, T. (2012). Vitamin C nutrition in cattle. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25(5), 597.

McFadden, M. (2011). California mastitis test and milk quality. *Michigan Dairy Review*, 16(2), 1-3.

Melchior, M. B., Vaarkamp, H., & Fink-Gremmels, J. (2006). Biofilms: a role in recurrent mastitis infections?. *Veterinary journal* (London, England: 1997), 171(3), 398–407. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.01.006>

Mendoza, J. A., Vera, Y., & Peña, L. C. (2017). Prevalence of subclinical mastitis, associated microorganisms and identified risk factors in dairy herds in the Province of Pamplona-Norte de Santander. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(2), 11.

Özdemir, F. Ö. (2018). *Subklinik mastitisli sığırlardan major patojenlerin izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Middleton, J. R., Fox, L. K., Gay, J. M., Tyler, J. W., & Besser, T. E. (2002). Use of pulsed-field gel electrophoresis for detecting differences in *Staphylococcus aureus* strain populations between dairy herds with different cattle importation practices. *Epidemiology and infection*, 129(2), 387–395. <https://doi.org/10.1017/s095026880200746x>

Middleton, J. R., Hardin, D., Steevens, B., Randle, R., & Tyler, J. W. (2004). Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(3), 419–423. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.419>.

- Mulim, H. A., Pinto, L. F. B., Valloto, A. A., & Pedrosa, V. B. (2021). Genotype by environment interaction for somatic cell score in Holstein cattle of southern Brazil via reaction norms. *Animal bioscience*, 34(4), 499–505. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0031>
- Mullarky, I. K., Su, C., Frieze, N., Park, Y. H., & Sordillo, L. M. (2001). *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infection and immunity*, 69(1), 45–51. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.1.45-51.2001>.
- Musser, J. M., Anderson, K. L., Caballero, M., Amaya, D., & Maroto-Puga, J. (1998). Evaluation of a hand-held electrical conductivity meter for detection of subclinical mastitis in cattle. *American journal of veterinary research*, 59(9), 1087–1091.
- National Mastitis Council. 2009. Recommended Mastitis Control Program. National Mastitis Council Inc., Madison, WI.
- Ndahetuye, J. B., Persson, Y., Nyman, A. K., Tukei, M., Ongol, M. P., & Båge, R. (2019). Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical animal health and production*, 51(7), 2037–2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>.
- Pal, M., & Mehrotra, B. S. (1983). Cryptococcal mastitis in dairy animals. *Mykosen*, 26(12), 615–616.
- Pal, M., & Lee, C. W. (1997). Association of *Prototheca* with bovine mastitis. *Korean Journal of Veterinary Clinical Medicine*, 14(2), 349-351.
- Pal, M., Lemu, D., & Bilata, T. (2017). Isolation, identification and antibiogram of bacterial pathogens from bovine subclinical mastitis in Asella, Ethiopia. *International Journal of Livestock Research*, 7(8), 62-70.
- Pal, M., Regasa, A., & Gizaw, F. (2019). Etiology, pathogenesis, risk factors, diagnosis and management of bovine mastitis: A comprehensive review. *International Journal*, 6, 40-55.
- Persson Waller, K., Persson, Y., Nyman, A. K., & Stengårde, L. (2014). Udder health in beef cows and its association with calf growth. *Acta veterinaria Scandinavica*, 56(1), 9. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-56-9>
- Persson, Y., Nyman, A. K., & Grönlund-Andersson, U. (2011). Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta veterinaria Scandinavica*, 53(1), 36. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-36>
- Petersson-Wolfe, C. S., Mullarky, I. K., & Jones, G. M. (2010). *Staphylococcus aureus* mastitis: cause, detection, and control.
- Philpot, W. N., & Nickerson, S. C. (1991). Mastitis: counter attack. Westfalia Surge LLC: Illinois, USA. Prac. 3.
- Phuektes, P., Mansell, P. D., & Browning, G. F. (2001). Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and streptococcal causes of bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 84(5), 1140–1148. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74574-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74574-2)
- Piessens, V., Van Coillie, E., Verbist, B., Supré, K., Braem, G., Van Nuffel, A., De Vuyst, L., Heyndrickx, M., & De Vliegher, S. (2011). Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *Journal of dairy science*, 94(6), 2933–2944. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3956>
- Prax, M., Lee, C.Y., Bertram, R. (2013). An update on the molecular genetics toolbox for staphylococci. *Microbiology*, 159, 421-435.
- Pyörälä, S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary research*, 34(5), 565-578.
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.015>.

Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. K., & Carter, G. R. (2002). Veterinary microbiology microbial diseases-bacterial causes of bovine mastitis. London: Mosby International Limited, 465-475.

Quinn, P.J., Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 2nd ed. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK. 2011; pp. 207-212.

Radostits, O. M., Gay, C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (Eds.). (2006). Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Elsevier Health Sciences.

Rajeev, N. K., Isloor, S., Rathnamma, D., & Shridhar, N. B. (2009). Characterization of *Staphylococcus aureus* and *E. coli* of bovine mastitis. *Indian Veterinary Journal*, 86(9), 883-885.

Rani, S., Verma, S., Singh, H., & Ram, C. (2022). Antibacterial activity and mechanism of essential oils in combination with medium-chain fatty acids against predominant bovine mastitis pathogens. *Letters in applied microbiology*, 74(6), 959-969. <https://doi.org/10.1111/lam.13675>

Rhoda, D. A., & Pantoja, J. C. (2012). Using mastitis records and somatic cell count data. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28(2), 347-361.

Riffon, R., Sayasith, K., Khalil, H., Dubreuil, P., Drolet, M., & Lagacé, J. (2001). Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 39(7), 2584-2589. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.7.2584-2589.2001>

Rüegsegger, F., Ruf, J., Tschuor, A., Sigrist, Y., Roskopf, M., & Hässig, M. (2014). Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens of dairy cows in Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 156(10), 483-488. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000635>.

Sargeant, J. M., Leslie, K. E., Shirley, J. E., Pulkrabek, B. J., & Lim, G. H. (2001). Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal of dairy science*, 84(9), 2018-2024. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74645-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0)

Sarma, O., & Hussain, J. (2021). Bovine Mastitis: An Overview. *Vigyan Varta*, 2, 54-59

Schepers, A. J., Lam, T. J., Schukken, Y. H., Wilmink, J. B., & Hanekamp, W. J. (1997). Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of dairy science*, 80(8), 1833-1840. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76118-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76118-6)

Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2002). Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *Journal of dairy science*, 85(10), 2503-2511. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74333-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74333-6)

Schrack, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., & Oliver, S. P. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of dairy science*, 84(6), 1407-1412.

Sezener, M. G., Findık, A., Ergüden, V. E., Akgöz, S., Gülhan, T., & Çiftci, A. (2019). Mastitis izolatu *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotik dirençliliğinin ve bazı virülens genlerinin araştırılması. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 182-187.

Shaheen, M., Tantary, H. A., & Nabi, S. U. (2016). A treatise on bovine mastitis: disease and disease economics, etiological basis, risk factors, impact on human health, therapeutic management, prevention and control strategy. *Advances in Dairy Research* 4(1), 1-10.

Sharif, A., Umer, C.M. & Muhammad, G. (2009). Mastitis control in dairy production. *Journal of Agriculture & Social Sciences*, 5(3), 102-105.

Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429-438.

Singh, M. (2002). Somatic cell counts during lactation in bovines as a index of subclinical mastitis. In Proc. All India dairy husbandry officers workshop NDRI, Karnal (pp. 64-77).

- Skrzypek, R., Wójtowski, J., & Fahr, R. D. (2004). Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk--a case study from Poland. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 51(3), 127–131. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00611.x>
- Smith, K. L. (1986). A practical look at environmental mastitis. *The Bovine Practitioner*, 73-76.
- Smith, K. L., & Hogan, J. S. (1993). Environmental mastitis. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 9(3), 489–498. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30616-2](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30616-2)
- Song, X., Huang, X., Xu, H., Zhang, C., Chen, S., Liu, F., Guan, S., Zhang, S., Zhu, K., & Wu, C. (2020). The prevalence of pathogens causing bovine mastitis and their associated risk factors in 15 large dairy farms in China: An observational study. *Veterinary microbiology*, 247, 108757. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108757>
- Taverna, F., Negri, A., Piccinini, R., Zecconi, A., Nonnis, S., Ronchi, S., & Tedeschi, G. (2007). Characterization of cell wall associated proteins of a *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis case by a proteomic approach. *Veterinary microbiology*, 119(2-4), 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.09.007>
- Tenhagen, B. A., Köster, G., Wallmann, J., & Heuwieser, W. (2006). Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of dairy science*, 89(7), 2542–2551. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72330-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72330-X)
- Tomita, G., & Hart, S. (2001). The mastitis problem. Proc. 16th Ann. Goat Field Day. Langston University, Langston, Oklahoma, 6-9.
- Trinidad, P., Nickerson, S. C., & Adkinson, R. W. (1990). Histopathology of staphylococcal mastitis in unbred dairy heifers. *Journal of dairy science*, 73(3), 639–647. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78715-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78715-2)
- Türütöğlü, H., Ateşoğlu, A., Salihoğlu, H., & Öztürk, M. (1995). Marmara bölgesi süt ineklerinde mastitise neden olan aerobik etkenler. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 26(2), 125-137.
- Ünal, N. (2007). İnsan ve hayvan kökenli *Staphylococcus aureus* izolatlarının fenotipik ve genotipik özellikleri üzerine çalışmalar.
- Ünal, N., & Yıldırım, M. (2010). İneklerin süt, meme başı derisi ve burun mukozalarından izole edilen stafilocok türlerinin antibiyotik direnç profilleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(3).
- Vanderhaeghen, W., Piepers, S., Leroy, F., Van Coillie, E., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2014). Invited review: effect, persistence, and virulence of coagulase-negative *Staphylococcus* species associated with ruminant udder health. *Journal of dairy science*, 97(9), 5275–5293. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7775>
- Vanderhaeghen, W., Piepers, S., Leroy, F., Van Coillie, E., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2015). Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase negative *staphylococci* associated with ruminants. *Veterinary journal* (London, England : 1997), 203(1), 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.11.001>
- Vernozy-Rozand, C., Mazuy, C., Meugnier, H., Bes, M., Lasne, Y., Fiedler, F. (2000). *Staphylococcus fleurettii* sp. nov., isolated from goat's milk cheeses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 4, 1521-1527.
- Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O'Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8), 486–493. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.004>
- Vintov J, Aarestrup FM, Zinn CE, Olsen JE: Association between phage types and antimicrobial resistance among bovine *Staphylococcus aureus* from 10 Countries. *Vet Microbiol*, 95, 133-147, 2003., Ajariyakhajorn S, Samngamnim K: Identification of coagulase-positive *Staphylococci* causing

subclinical mastitis and their resistance to Penicillin and Oxacillin. p. 21, Proceedings 8th Chula Univ Vet Sci Ann Con, April 3, 200).

Vural, R., Ergün, Y., Özenç, E. (2016). Evcil Hayvanlarda Meme Hatalıkları. Ed.: Kaymaz, M., Fındık, M., Rıışvanlı, A., Köker, A. Medipres Yayınları, Malatya, sy. 149-243).

Wang, X. J., Reyes, J. L., Chua, N. H., & Gaasterland, T. (2004). Prediction and identification of *Arabidopsis thaliana* microRNAs and their mRNA targets. *Genome biology*, 5(9), R65. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-9-r65>

Watts J. L. (1988). Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 16(1), 41–66. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90126-5)

Wellenberg, G. J., van der Poel, W. H., & Van Oirschot, J. T. (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary microbiology*, 88(1), 27–45. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(02\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(02)00098-6)

White, F., & Rattray, E. A. (1965). Diurnal variation in the cell content of cows' milk. *Journal of comparative pathology*, 75(3), 253–261. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(65\)90029-0](https://doi.org/10.1016/0021-9975(65)90029-0)

Whyte, D., Walmsley, M., Liew, A., Claycomb, R., & Mein, G. (2005). Chemical and rheological aspects of gel formation in the California Mastitis Test. *The Journal of dairy research*, 72(1), 115–121. <https://doi.org/10.1017/s0022029904000561>

Yamagishi, N., Jinkawa, Y., Omoe, K., Makino, S., & Oboshi, K. (2007). Sensitive test for screening for *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis by broth cultivation and PCR. *The Veterinary record*, 161(11), 381–383. <https://doi.org/10.1136/vr.161.11.381>

Yazdankhah, S. P., Hellemann, A. L., Rønningen, K., & Olsen, E. (1998). Rapid and sensitive detection of *Staphylococcus* species in milk by ELISA based on monodisperse magnetic particles. *Veterinary microbiology*, 62(1), 17–26. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(98\)00193-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(98)00193-x)

Yeşilmen, S., Özyurtlu, N., & Bademkiran, S. (2012). Diyarbakır yöresinde subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1), 24-29).

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. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4), 357–372. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9236-y>

Zecconi, A. (2006). Contagious mastitis control program: the *Staphylococcus aureus* case. *Cattle practice*, 14(2), 67-75.

Zeinhom, M. M., Abdel Aziz, R. L., Mohammed, A. N., & Bernabucci, U. (2016). Impact of Seasonal Conditions on Quality and Pathogens Content of Milk in Friesian Cows. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(8), 1207–1213. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0143>

Zhao, X., & Lacasse, P. (2008). Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of animal science*, 86(13 Suppl), 57–65. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Faruk ÖKSÜZ
Eğitim	
Lise	Balıkesir Lisesi (2005)
Lisans	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2006-2012)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2021-)
Doktora	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Kuruluş Adı	