

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**MASTİTİSLİ SIĞIR SÜTLERİNDEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN
İZOLASYONU VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ
BELİRLENMESİ**

**MUSTAFA SÖNMEZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF 15-069 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mustafa SÖNMEZ tarafından hazırlanan **“MASTİTİSLİ SIĞIR SÜTLERİNDEN CANDİDA TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ”** başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/11/2016



Üye : Prof. Dr. Şükrü KIRKAN ADÜ

Üye(Tez Danışmanı): Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ ADÜ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK MCBÜ

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle danışmanım Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ'a; Araştırma laboratuvarlarında uzun uğraşlarda destek olan arkadaşlarıma ve tez çalışmamın tüm aşamalarında desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Mastitis	2
2.2. Mastitis Formları	3
2.3. Mastitisin Nedenleri	4
2.4. Mastitislerin Direk ve Finansal Maliyetler Üzerine Etkileri	5
2.5. Mastitisin Tanısı	6
2.5.1 California Mastitis Testi	6
2.6. Candida' ların Tarihçesi	8
2.7. Candidaların Genel Özellikleri.....	9
2.8. Candida Türleri.....	10
2.9. Candida Türlerinin Tanımlanması ve Tedavisi	14
2.9.1. Candida'larda Kullanılan Antifungaller.....	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Gereç	20
3.1.1 Örnekler.....	20
3.1.2 California Mastitis Test Ayırıcı.....	20
3.1.3 Antifungal Standartları.....	20
3.1.4 Besiyerleri.....	21
3.1.5 Hızlı Tanı Test Kiti.....	22
3.1.6 Boyalar.....	22

3.2. Yöntem	22
3.2.1 Mikrobiyolojik Muayene.....	22
3.2.2 İzole ve İdentifiye Edilen Candidaların Antifungal Duyarlılık Testleri.....	25
4. BULGULAR	27
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları.....	27
4.2. İzole Edilen Candida İzolatlarının Antifungal Duyarlılık Testi Bulguları	27
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	42



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AMB:	Amfoterisin B
CMT:	California Mastitis Testi
SDA:	Sabouraud Dekstroza Agar
SHS:	Somatik Hücre Sayısı
VOR:	Vorikonazol
BHI:	Brain Heart İnfüzyon agar
IMA:	Inhibitory Mold Agar
SABHI:	Sabouraud-BHI Agar
FLU:	Flukonazol
5-FC :	Flusitozin

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. <i>C. albicans</i> 'in SDA'daki koloni morfolojisi.....	10
Şekil 2. <i>C. tropicalis</i> 'in SDA'daki koloni morfolojisi.....	11
Şekil 3. <i>C. krusei</i> 'nin SDA'daki koloni morfolojisi.....	12
Şekil 4. <i>C. kefyr</i> 'in SDA'daki koloni morfolojisi.....	13
Şekil 5. Api 20C AUX test kiti karbonhidrat kuyucuklarında üreme.....	24
Şekil 6. Antifungal zonları 1.....	28
Şekil 7. Antifungal zonları 2.....	28

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1: Kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları.....	18
Tablo 2: Antifungal Standart Zon Çapları.....	26
Tablo 3: İzole edilen <i>Candida</i> türlerinin identifikasyon sonuçları.....	27
Tablo 4: Türlerle göre elde edilen antifungal zon çapları.....	29
Tablo 5: Elde edilen <i>Candida</i> türlerinin antifungal duyarlılık değerleri.....	30



ÖZET

MASTITİSLİ SIĞIR SÜTLERİNDEN *CANDIDA* TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Sönmez M. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.

Araştırmamızda Marmara bölgesi Tekirdağ ili ve ilçelerinde sığırlarda mikotik mastitis hastalığına neden olan *Candida spp.*'lerin izolasyon, identifikasyon ve antifungallere karşı olan duyarlılıklarının tespiti amaçlanmıştır. Bölgedeki çiftliklerden California Mastitis Testi (CMT) yapılarak mastitisli olduğu tespit edilen 100 adet mastitisli süt örneği kullanılmıştır. Örnekler öncelikle SDA'a ekildi ve 25°C ile 37°C de ayrı ayrı inkübe edildiler. SDA'da 2-3 günde üreyen, hamur kıvamında, 0,5-1 mm çapında, beyaz veya krem renkli, düzgün sınırlı ve kendine özgü maya kokusu olan kolonilerden Gram boyamalar yapıldı. Gram boyamada değerlendirmesinde *Candida spp.* olarak tanımlanan mikroorganizmalar SDA'ya pasajlanarak saf kültürler elde edildi. Saf olarak elde edilen izolatların identifikasyonu API 20C AUX hızlı identifikasyon kiti ile yapıldı. İdentifiye edilen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık değerleri Disk difüzyon tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmada antifungal duyarlılık testlerinde Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B, Nystatin ve Flucytosine etken maddelerini içeren antifungal diskleri kullanıldı. Araştırmada Tekirdağ ilindeki büyükbaş çiftliklerinden toplanan 100 adet mastitisli süt örneğinin 25 (%25) adedinde *Candida spp.* varlığı saptanmıştır. İzole edilen 25 suşun API 20C AUX hızlı tanı test kiti ile yapılan identifikasyon bulgularına göre 8 adet (%32) *C. krusei*, 5 adet (%20) *C. albicans*, 3'er adet (% 12) *C. boidinii*, *C. famata* ve *C. kefyr*, 2 adet (%8) *C. spherica* ve 1 adet de (%4) *C. thermophila* tespit edilmiştir. İzole edilen suşlara NCCLS'in M-44 (Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline) yönergesine göre yapılan test sonuçları değerlendirildiğinde; Tüm izolatlar Ketoconazol'e %100 duyarlı iken Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B ve Flucytosine %100 dirençli oldukları bulunmuştur. Araştırmamızda 2 adet (%40) *C. albicans* ve 1 adet (%12,5) *C. krusei* izolatu Nystatin etken maddesine tam duyarlı iken, diğer tüm izolatların ise orta düzey duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mastitis, *Candida spp.*, antifungal duyarlılık

ABSTRACT

ISOLATION OF *CANDIDA* SPP. FROM CATTLE MILK with MASTITIS and DETERMINATION of ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY

Sönmez M. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.

Abstract: Isolation, identification and determination of antifungal susceptibility of *Candida* spp. that cause mycotic mastitis in cattle in Tekirdağ province and its counties in Marmara Region were aimed in this research. 100 mastitic milk samples were used that were collected from farms of the region by performing California Mastitis Test (CMT). Primarily, samples were cultured to SDA and were incubated separately at 25-37 °C. From the colonies that grown in SDA in 2-3 days, in paste stiffness, 0.5-1 mm in diameter, white or cream colored, uniformly bounded and that have distinctive yeast scent were subjected to gram staining. Under gram staining evaluation, microorganisms that were predefined as *Candida* spp. were conveyed to SDA and pure cultures were obtained. Pure isolates were identified by API 20C AUX rapid identification kit. Antifungal susceptibility rates of identified *Candida* spp. were determined by using disc diffusion technique. In antifungal susceptibility tests; Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B, Nystatin and Flucytosine containing discs were used. *Candida* spp. were detected in the 25 of the 100 mastitic milk samples. According to results of API 20C AUX rapid identification kit, 8 *C. krusei* (32%), 5 *C. albicans* (20%), 3 each *C. boidinii*, *C. famata* and *C. kefyr* (12%), 2 *C. spherica* (8%) and 1 *C. thermophila* (4%) were identified from the 25 isolated strains. In the evaluation of test results of isolated strains that performed as in respect to M-44 directive of NCCLS (Method for Antifungal Disc Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline); all strains were found % 100 susceptible to Ketoconazole and 100% resistant to Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B and Flucytosine. Two of the *C. albicans* (40%) and 1 of the *C. krusei* (12.5%) isolates were susceptible Nystatin while all the other isolates were moderately resistant to that.

Key Words: Mastitis, *Candida* spp., antifungal susceptibility

1. GİRİŞ

Sütün içerdiği esansiyel nutrient maddelerden dolayı insanın en vazgeçilmez besin kaynaklarından biri olduğu herkes tarafından kabul edilmektedir. Sütün biyokimyasal ve mikrobiyolojik saflığı mastitis olarak bilinen bir hastalık tarafından değişikliğe uğratılmakta ve bu durum ise süt verimine, kalitesine ve süt ekonomisine direk veya dolaylı olarak zarar vermektedir.

Mastitis, sütçölük işletmelerinde giderleri arttırarak ve süt veriminde belirgin bir azalmaya sebep olarak önemli ekonomik kayıplara neden olan önemli bir problemdir. Mastitis hastalığında mikrobiyel faktörler büyük rol oynamaktadır. Normal koşullarda süt inekçiliği işletmelerinde yılda ortalama %30-35 oranında mastitis olgusu görölmektedir.

Araştırmamızda Marmara bölgesi Tekirdağ ili ve ilçelerinde sığırlarda görölen mastitis hastalığına neden olan *Candida* spp.'lerin izolasyon ve identifikasyonları ve de antifungallere karşı olan duyarlılıklarının tespiti amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mastitis

Mastitis, genellikle bakteriyel veya mikotik patojen etkenlere bağılı olarak şekillenen meme dokusu yangısıdır. Süt inekçiliğinin yapıldığı işletmelerde en sık rastlanılan problem Mastitis'tir. Ortalama her 100 inekten 17'sinde bulunmuştur. Yörelere göre değişmekle birlikte yurt çapında %5-53 arasında olup, mastitisin yurdumuz inekçiliğinde ne kadar önemli bir sorun olduğu görülmektedir (Aydın, 1989).

Genel anlamda mastitis, meme bezlerinin travmatik etkilere ve meme içerisine çoğunlukla ekzojen veya endojen olarak giren mikroorganizmalara karşı reaksiyon göstermesidir (Blood ve ark, 1979). Meme dokusunu oluşturan bütün yapıların ve bu dokuları saran bağ dokunun, sebebi ne olursa olsun yangısına mastitis denilmektedir. Hastalık, meme dokusunun iritan etkilere karşı bir tepkisi olup, meme dokusu ile sütün nitelik ve niceliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Mastitis, etiyojisi, patogenezi, şiddeti, süresi, tedavisi ve kalıcı etkileri açısından karmaşık bir hastalıktır (Harmon, 1994; Jain, 1979; McDonald, 1979).

Ruminantların meme bezi, anatomik yapısı itibariyle birçok mikroorganizmanın istilasına karşı koyan bir organdır. Sağmal ineklerin günlük sağımları ve sağım sonrası meme başı kanalının geçici bir süre kapanmaması, meme dokusunu mikroorganizmalara açık hale getirmekte ve mastitis vakalarının gelişmesine sebep olmaktadır. İnsan sağlığı ve yavruların beslenmesi açısından mastitisli süt kullanımının sakıncalı olması sebebiyle hayvanların bu hastalıktan korunması gerekmektedir (Alaçam ve ark, 1986; Ahl ve ark, 1989).

Birçok ülkede süt işletmelerinde yapılan gözlemler göstermiştir ki, inekler arasında mastitisin prevalansı % 50, bir meme lobundaki infeksiyon oranı ise % 25 civarındadır (Blood ve ark, 1979). Mastitis kontrol programlarının uygulanması ve bu programların devamlılığının sağlanması, özellikle kapasiteleri büyük olan süt işletmelerinde, ekonomik verimliliğin en önemli göstergesidir. Ancak ülkemizde özellikle süt yönlü yetiştiricilikte işletme kapasitelerinin küçük olması ve henüz verimlilik merkezli mastitis kontrol programlarının oluşturulamaması nedeniyle, süt üretiminde büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır (Atasever ve Erdem, 2008; Topçu, 2008). Sağlıklı süt, sağlıklı hayvanlardan elde edildiği için, hayvan sağlığını korumak ve mastitis olgularını erken teşhis etmek temel hedeftir. Süt

endüstrisinde mastitis nedenli ekonomik kayıplar, süt kalitesinin ve süt veriminin azalması, buna bağlı olarak da ilaç ve veteriner hizmet kullanımının artması ve yem giderlerinin artışı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, enfeksiyonun tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin sütte kalıntı bırakması, bilinçsiz olarak ilaç kullanımına bağlı gelişen antibiyotik dirençli bakteriler, tedavi olanaklarının sınırlanması gibi olumsuz etkiler oluşmaktadır (Meiri-Bendek ve ark, 2002). Düzenli ve bilinçli kontrol programlarının uygulanması, klinik mastitis olgularının azaltılmasını ve subklinik enfeksiyonların da erken teşhis edilmesini sağlamaktadır (Østerås ve ark, 2006).

2.2. Mastitis Formları

Mastitisin klinik formları, klinik mastitis, subklinik mastitis ve kronik mastitistir. Klinik mastitis sütte fark edilebilir değişikliğin olduğu meme yangısıdır ve perakut, akut, subakut ve kronik olarak dört formu vardır (Aydın, 1989).

a) Akut mastitis: Hayvanın genel durumunun bozulmasıyla birlikte meme lobları şişmiş, sıcak, sert ve ağrılı yangıdan dolayı kızarmıştır. Süt sulu, pıhtılı, irinli ve kanlı bir şekilde gelir. Akut mastitislerde ateş ve depresyon gibi sistemik bozukluklarda görülmektedir.

b) Subakut mastitis: Memede yangı belirgin değildir. Sütte koyu pıhtılar vardır.

c) Perakut mastitis: (akut sistemik, akut toksik mastitis) Meme bölümlerinden bir veya birkaçında ani şişme, sıcaklık artışı, sertlik ve ağrı bulunmaktadır. Sütün yapısında bozulmalar olabilir. Genel durumda da bozukluklar şekillenebilir.

d) Kronik mastitis: Klinik (akut ve subakut) mastitislerin tedavi edilmediği durumlarda veya subklinik mastitislerin devamı olarak şekillenmektedir. Bu tip mastitisde yangı görülmez, sütte gözle görülür bir değişiklik görünür ve süt salgısı azalır, memede fibrozis ve indurasyon oluşumuna bağlı olarak meme dokusu sertleşir.

Subklinik mastitisler ise; yaygınlıkları ve işletmelerde süt verimindeki düşüşe bağlı olarak meydana getirdiği ekonomik kayıplar açısından klinik mastitislerden daha önemlidir. Bu nedenle hemen tüm hastalıklarda olduğu gibi subklinik mastitislerin erken teşhisi de oluşturacağı zararların önüne geçilmesi açısından önemlidir (Alaçam, 1988; Deveci ve ark, 1994). Subklinik mastitislerin teşhisinde kimyasal ve mikrobiyolojik birçok test kullanılmakla birlikte sütün ml'sindeki somatik hücre sayısının (SHS) belirlenmesini esas alan testler son yıllarda daha da önem kazanmıştır. Ancak, sütteki SHS subklinik mastitislerin tespitinde önemli bir kriter olmakla birlikte hayvanın yaşı, ırkı, laktasyon dönemi, seksüel siklus periyodu, beslenme rejimi, hayvanın vücudundaki diğer enfeksiyonlar ve mastitise sebep olan

bakteri türü gibi bir çok faktörün bu sayıyı etkilediği de göz önünde tutulmalıdır. Bu sebeple subklinik mastitislerin teşhisinde sütteki SHS'nı belirleyen testlerin yanı sıra diğer teşhis metotlarının da kullanımı tavsiye edilmektedir (Arda ve ark, 1982; Harmon, 1994). Subklinik mastitis bir sürü problemidir ve yayılması ile bir bütün olarak değerlendirilir. Süt ineklerinin en az %50'si bu şekilde subklinik mastitis yönünden pozitif sonuç verebilirler. Sütün muayenesi ile lökosit sayısı, dolayısıyla sütteki SHS'nın belirlenmesi, meme bezleri ve hayvan sağlığı hakkında bilgi verir. Meme sağlığının korunmasında, sütteki somatik hücre sayısı bundan dolayı önemlidir (Bayer, 1986).

2.3. Mastitisin Nedenleri

Sütte nitel ve nicel bozukluklara sebep olan mastitislerin etiyolojisinde mikroorganizmaların rolü büyüktür. Enfeksiyona neden olan bu etkenlerin memeye yayılması, sadece mikroorganizmaların virulensine bağlı değil, aynı zamanda memenin etkenlere maruz kalma süresi ve şiddeti ile de ilişkilidir. Bazı faktörler de memelerin mastitise karşı duyarlılıklarını artırarak, enfeksiyonun oluşmasına sebep olur (İzgür, 1984). Mastitis hastalığı için hazırlayıcı faktörler olarak nitelendirilen bu faktörler hayvanların fizyolojik yapısı, memenin anatomik yapısı, beslenme, barınma, iklim ve sağım koşullarını içine alan çevresel etkenler, sağım yaparken hijyen kurallarına dikkat edilmemesi, meme başı ve meme yaraları, fırsatçı patojenler olarak da özetlenebilir (İzgür, 1984; Kılıçoğlu ve Alaçam, 1985). Ancak çiftlik hayvanlarında mastitisin başlıca sebebi bakteriler ve bunların oluşturduğu toksinlerdir (National Mastitis Council, 1996).

Mastitis olgularında çeşitli mikroorganizma cinslerine ait birçok etken izole ve identifiye edilmiştir. İnek mastitislerinde *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Trueperella pyogenes* ve koliform gurubu bakteriler en sık izole ve identifiye edilen etkenler olarak bildirilmiştir. Daha seyrek olarak da *Corynebacterium bovis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus spp.*, *Candida spp*, *Cryptococcus spp.*, *Nocardia spp.* gibi çeşitli bakteri ve mantarların etkili oldukları bildirilmektedir (Alaçam ve ark, 1986; Erer ve ark, 1996).

2.4. Mastitislerin Direk ve Finansal Maliyetler Üzerine Etkileri

Mastitislerin, süt işletmelerinde direk ve finansal maliyetler üzerine birçok etkileri vardır.

Direk etkiler;

1. Süt veriminde geçici ve kalıcı kayıplar,
2. Süt kalitesinde değişimler (süt yağının azalması gibi)
3. Yüksek somatik hücre sayısına bağlı süt satış fiyatlarında azalma
4. Antibiyotik kullanımından sonra sütlerin atılmasından kaynaklanan kayıplar,
5. İlaç ve veteriner masraflarına bağlı ek maliyetler,
6. Süt kalitesinin belirlenmesi için yapılan masraflar giderleri artırmakta,
7. Erken kesime gönderme,
8. Kesilen hayvanların karkas kalitelerinin ve verimlerinin azalmasından dolayı düşük değerlere satılması gibi birçok faktöre bağlı olarak sürüleri etkilemektedir.

Finansal maliyetler incelendiğinde;

1. Amerika’da mastitise bağlı olarak öngörülen yıllık kayıplar 2 milyar dolar
2. İngiltere’de çiftçilerin yaklaşık olarak yıllık kaybı 300 milyon pound
3. Kuzey İrlanda’da, ortalama 100 başlık bir sürüde yıllık kayıp 5000 pound, ülke çapında ise 14 milyon pound
4. İrlanda Cumhuriyeti’nde, klinik mastitislerin maliyeti enfekte inek başına yaklaşık olarak yıllık 693 pound
5. Hollanda’da enfekte ineğin maliyeti 164-235 euro olarak belirlenmiştir (Viguier ve ark, 2009).

Süt inekçiliği ve süt ekonomisi üzerinde yukarıda belirtildiği gibi pek çok olumsuz etkiye sahip olan mastitisin tanısı ve tedavisi işletme ekonomisi açısından oldukça büyük bir önem arz eder.

Maya ve mantarlar çiftliklerde ve hayvanların yaşam alanlarında yem ve altlıkların normal florasında bulunurlar ve de küçük miktarlarda meme başında kolonize olurlar (Richard ve ark, 1980). Bunlar oportunistik mikroorganizma olarak kabul edilirler (Loftsgaard ve Lindquist, 1960) ve doğal savunma mekanizmaları baskılandığında hastalık oluştururlar (Santos ve Marin, 2005).

Mantarlardan dolayı meydana gelen mastitis insidensi normalde oldukça düşüktür. ABD’de fungal mastitislerin görülme sıklığı %2 ile %7 arasında değişmektedir (Kirk ve Bartlett, 1986). Tropikal iklime sahip ülkelerde ise bu oranlar daha yüksek olabilmektedir (Costa ve ark, 1993). Maya ve mantarlara bağlı olarak gelişen mastitislerde, en sık görülen etkenler arasında Candida’lar ilk sırayı almaktadır (Santos ve Marin, 2005).

2.5. Mastitisin Tanısı

Genel olarak klinik mastitislerde tanı gözle görülebilen çeşitli özelliklerin muayenesi ile yapılırken, subklinik mastitislerde çeşitli yangı indikatörlerinin özel yöntemler ile ortaya konulmasına dayanmaktadır. Bunlar arasında en çok kabul gören ve yaygın olarak kullanılanları süt içerisinde somatik hücre sayısının artışı ortaya koymaya yönelik testlerdir. Somatik hücre sayımında kullanılan yöntemler indirek yöntemler ve direkt yöntemler olarak ikiye ayrılır. İndirek yöntemler arasında en çok uygulananı California Mastitis Test (CMT)’dir. Direkt yöntemler ise; otomatik somatik hücre sayımı, boyama ve mikroskopik sayım yöntemleridir. Ayrıca mastitislerin tanısında, sütün elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi, iyon konsantrasyonlarının belirlenmesi ve biyokimyasal yöntemler de kullanılmaktadır. Tüm bu muayene ve analizlere rağmen mastitislerin tanısında enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın izolasyonu hastalığın tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir (Baştan 2002). Kültürel yoklamalar sürü düzeyinde enfeksiyonun izlenmesi, antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi ve kontrolü yönünden de önemlidir (Milner ve ark, 1996).

2.5.1 California Mastitis Testi

1957 yılında anormal sütlerin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiştir. CMT, sütte bulunan somatik hücrelerin indirek yolla belirlenmesi prensibiyle çalışmaktadır. Sütte bulunan SHS veya toplam lökosit sayısı arttığı zaman, CMT skoru da doğru orantılı olarak değişmektedir. CMT, bireysel olarak ineklerde enfeksiyon varlığının belirlenmesinde etkili olmaktadır. Fakat tank sütünde yapılan örneklemelerde sürünün enfeksiyon varlığı hakkında net bir bilgi vermemektedir (Sanford ve ark, 2006).

CMT, basit ve kolayca uygulanabilen, hızlı ve oldukça ucuz bir testtir ve subklinik mastitislerin belirlenmesinde SHS hakkında kabaca bilgi vermektedir. CMT, tam olarak SHS hakkında kesin bir bilgi vermemekle birlikte sadece değerin düşük ya da yüksek olduğunu göstermektedir (Blowey ve Edmondson, 2010; Baştan, 2013). Yeni sağılmış taze ve normal

sütün reaksiyonu hafif asittir. pH' sı 6.4-6.8 arasında değişir. Mastitisli memelerin sütlerinin pH'sı alkali olup, 7.4'e kadar yükselmektedir. Dolaylı olarak lökosit artışını ve pH değişimleri saptayan CMT'inde kullanılan ayıraç beyaz kan hücreleri ile reaksiyona girerek, hücre zarını parçalar hücre çekirdeğindeki DNA ile birleşerek yapışkan bir madde oluşmasını sağlar. Bu maddenin yapışkanlığı ne kadar fazla ise mastitiste o kadar şiddetli sayılır. CMT yapılırken, CMT kabına her memeden ayrı ayrı süt örnekleri alınır. Kap hafifçe eğilerek sütlerin fazlası akıtılır. Sütlerin üzerine eşit miktarda CMT ayırıcı eklenerek, kap yatay düzlem içinde yavaşça çevrilerek testin sonucu okunur. CMT'nin olumsuz ya da negatif olması durumunda, test kabı hafifçe eğildiğinde hiçbir yapışkanlık gözlenmez. Test sonucunun şüpheli olduğu durumda, hafif bir jelöz kıvam oluşmakla birlikte çevirme hareketleri sırasında kaybolmakta veya kolay akan süt karışımının altında daha yavaş akan ince bir kat izlenmektedir. CMT olumlu durumda ise sonuç kap çevrildiğinde oluşan jelöz tabaka yoğunluğuna göre, CMT (+), CMT (++) ve CMT (+++) olarak değerlendirilmektedir. Somatik hücre sayısı (SHS) memede mastitisin oluşumu ile birlikte, sütün lökosit sayısında ve klor içeriğinde artış meydana gelmektedir. Epitel hücreler, eritrositler, lökositler ve plazma hücrelerinin tamamını ifade eden somatik hücre sayısının (SHS) az yada çok olmasına göre memenin ve sütün sağlıklı olup olmadığı anlaşılabilmektedir. Sağlıklı ineklerde, sütteki somatik hücre sayısının % 60'ını epitel hücreleri oluşturken, mastitise yakalanmış ineklerde bu oranın % 75'den fazlasını lökositler oluşturmaktadır.

CMT'nin avantajları

1. Diğer testler ile birlikte SHS ölçümlerinde oldukça başarılı çalışmaktadır.
2. Hassastır ve öncelikli olarak sadece bireysel meme loblarının enfeksiyon varlığının tespiti için geliştirilmesine rağmen tank veya kova sütünde de kullanılmaktadır.
3. Kıl, tüy gibi yabancı maddelerden etkilenmemektedir.
4. Ucuzdur.
5. Test basittir ve fazla ekipmen gerektirmez.
6. Her uygulamadan sonra suyla kolayca temizlenebilir.

CMT'nin dezavantajları

1. Test skorları; bireysel olarak, uygulayıcıya göre çeşitlilik gösterir. Mümkün olduğunca aynı kişi tarafından yapılması gerekmektedir.
2. Skorlar; kesin sayılar yerine, sütte bulunan lökosit içereğine göre oranlanır.

3. CMT uygulamalarında sıklıkla yanlış sonuçlar çıkmaktadır. Bunun nedeni; ineğin kuru döneme yakın veya laktasyon döneminin başlangıcında olmasından kaynaklanmaktadır (Rice, 1981).

CMT, sütte bulunan DNA içeriğine dayalı çalışan bir testtir. Reajan olarak basit bir deterjan kullanılır ve bromcreosol purple ise pH indikatörü görevi üstlenmektedir (Pyöröla, 2003).

2.6. *Candida* Türlerinin Tarihçesi

Candida enfeksiyonlarıyla ilgili bilinen ilk tanımlama, M.Ö. IV. yüzyılda Hipokrat'ın Epidemics kitabında, altta yatan hastalığı olan iki hastada tarif edilen oral kandidiyazistir (pamukçuk). Oral kandidiyazis etkeninin mantar olarak tanımlanması 1842 yılında olmuş ve Gruby mikroorganizmayı *Sporotrichum* olarak sınıflamıştır. Takip eden yüzyıl boyunca mayalar ile ilişkili olan birçok patolojik tablo rapor edilmiştir.

Candida enfeksiyonları son yıllarda gittikçe artmakla birlikte geçmişte de bildirilmiştir. *Candida* 1844 yılında Bennett tarafından tüberkülozlu bir hastanın balgam örneğinden, 1849'da Wilkinson tarafından vajinal lezyondan, 1853'de Robin tarafından sistemik bir enfeksiyondan, 1861 yılında Zenker tarafından düşkün bir hastada oral lezyondan hematojen olarak yayıldığı gösterilen bir beyin enfeksiyonundan izole edilmiştir.

Candida türlerinin etken olduğu buna benzer patolojik tablolar yirminci yüzyılın başlarında da bildirilmeye devam etmiştir. 1904 yılında Dubendorfer onikomikozu, 1910'da Rafin sistiti, 1923'te Jacobi dermatiti, aynı tarihte Forbes kronik mukokutanöz kandidiyazisi *Candida* türlerinin etken olabildiği klinik tablolar olarak bildirmişlerdir (Merz ve ark, 2005).

1928 yılına gelindiğinde Conner osteomiyeliti, 1943'te Joachim ve Polayes endokarditi, Suthin de endokrin sistem ile *Candida* enfeksiyonları arasındaki patolojik ilişkiyi tanımlamıştır (Merz ve ark, 2005).

1912 yılında Catellani'nin tanımladığı çay tadıcılarının öksürüğü ("tea tasters' cough") ise *Candida albicans* dışındaki *Candida* türlerinin patolojik süreçte yer alabileceğini öne süren ilk rapor olarak literatürdeki yerini almıştır (Merz ve ark, 2005).

Farklı klinik tablolarda gösterilen bu mayaların isimlendirilmesi ise sıkça değişmiştir. *Candida albicans*'a; Robin 1853 yılında *Oidium albicans*, 4 Quinquad 1868'te *Syringospira robini*, Reess 1875'te *Saccharomyces albicans* adını vermiştir. Zorp tarafından 1890 yılında önerilen *Monila albicans* ismi daha kalıcı olmuşsa da, diğer adlar ile karıştırılma sorunu devam etmiştir (Merz ve ark, 2005).

1923'te Berghout bu karışıklığı gidermek için *Candida* cinsini tekrar ele alarak oral kandidiyazis etkenini *Candida albicans* olarak isimlendirmiştir. 1970'li yıllardan sonra bağışıklık baskılayan ilaçların kullanımının artması ve AIDS gibi hastalıkların ortaya çıkması ile beraber mantar hastalıkları daha önemli hale gelmiştir (Asan, 2007).

2.7. *Candida*'ların Genel Özellikleri

Candida'lar ince duvarlı, oval veya yuvarlak, kapsülsüz, hareketsiz, 1-3x4-6 µm boyutlarında, multilateral tomurcuklanma (blastospor) ile aseksüel olarak üreyen fakültatif anaerop mayalardır (Koneman, 1997). Gram boyama ile tüm *Candida* türleri Gram olumlu boyanır (Hazen ve Howell, 2003). *Candida* türleri Sabouraud dekstroza agarda (SDA) ve kanlı agarda oda ısısında (22- 26°C) ve 37°C'de kolayca üreyebilirler. Kültür için alınan örnekler hem 26°C hem de 37°C'de ayrı ayrı inkübe edildiğinde 37°C'de üreyememe saprofitliği ortaya koyan bir özelliktir. Patojen kandidaların çoğu hem 26°C hem de 37°C'de ürerler. Oda ısısında SDA'da 24-48 saatte krem renkli, opak, düzgün yüzeyli, 1-2 mm çapında, tipik maya kokusu olan S tipi koloniler oluştururlar. *Candida*'lar kendiliğinden S tipi koloniden R tipi koloniye dönüşebilir. R tipi kolonilerin oluşumu fazla miçel gelişimi ile ilgilidir. Bazan, örneklerden ilk izolasyonda *C. albicans*'ın SDA'da buruşuk koloni oluşturduğu gözlenebilirse de bunlar subkültürlerinde düz kolonilere dönüşür. *C. albicans*'ın birçok izolatu kanlı agarda kısa düzensiz uzantılı koloniler oluştururlar (Edwards, 2000; Koneman, 1997; Jawetz ve ark, 1989).

Candida krusei kolonileri ise; uç kısımdan uzamış ve eliptik iken, *Candida parapsilosis* dantelimsi koloniler oluşturmaktadır. *Candida glabrata* düz, yumuşak, parlak koloniler şeklinde ürer. *Candida kefyr* krem renginde yumuşak kıvamlı koloniler oluştururken; *Candida lusitanae* krem rengi, yumuşak koloniler yapmaktadır. *Candida guilliermondii* ise SDA' da düz veya buruşuk beyaz renkli koloniler halinde üremektedirler. *Candida dubliniensis* kolonileri ise koloni morfolojisine bakılarak *C. albicans* kolonilerinden ayırt edilememektedir.

C. albicans ve *C. dubliniensis* yalancı hif ve gerçek hif oluşturabildikleri için dimorfik mantarlar olarak da bilinmektedirler. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* insan serumunda 37°C'de üç saate kadar inkübe edildiklerinde germ tüp oluşumu saptanabilmektedir. Germ tüp, gerçek hif gelişiminin ilk aşaması olup ana hücreden boğum yapmadan uzayan tübüler bir yapı şeklinde görülür. Germ tüp yapabilen bir *Candida* suşu 45°C sıcaklıkta üreyebiliyorsa *C. dubliniensis*'ten ayrılarak *C. albicans* olarak tanımlanabilmektedir.

2.8. *Candida* Türleri

Kandidiyazis'e neden olan önemli candida türleri; *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*, *C. boidinii*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. catenulata*, *C. ciferrii*, *C. syphera*, *C. lambia*, *C. termophilia*, *C. lusitanae*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa* ve *C. rugosa*'dır.

Candida albicans; Kandidiyazis'in en yaygın nedenidir. SDA (Saboraud Dextrose Agar) besiyerinde *C. albicans* krem renginde, yumuşak krem veya tereyağı kıvamında S ve/veya R tipi koloni oluşturur (Tümbay, 1983). Bu kolonilerden hazırlanan preparasyonlar gram yöntemi ile boyandığında maya hücrelerinin gram pozitif, oval veya yuvarlak, tek tek veya gruplar halinde oldukları görülür.

Serumda 37°C'de, 2 saat inkübasyon sonunda hücrelerden boğum oluşturmaksızın uzayan çimlenme boruları (germ tüp) oluştururlar (Kevin ve Howell, 2003; Tümbay, 1999; Tümbay, 1983). Diğer *Candida* türlerinden farklı olarak mısırunlu- Tween 80 agarda yalancı hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler yapan blastospor ve yalancı hif uçlarında kalın duvarlı, tek veya birkaç tane klamidospor oluşturur (Hilmioğlu, 2002; Tümbay, 1983). Klamidosporlar *C. albicans*'ın en belirgin özelliğidir ve herhangi başka bir *Candida* türü tarafından nadiren meydana getirilir (Tümbay, 1983).

C. albicans bulunduğu ortam koşullarına bağlı olarak farklı morfolojide görülür. Besin değeri yüksek, nötr pH'da oksijenli ortamda maya şeklinde ürer; besin değeri zayıf, düşük oksijen konsantrasyonunda ve asit pH'da yalancı hif ve klamidospor teşkil eder (Tümbay, 1983).



Şekil 1. *C. albicans*'ın SDA'daki koloni morfolojisi.

***C. tropicalis*:** Krem renginde, yumuşak krem gibi ve çevresinde miçelin çıktığı “kırma” koloni oluşturlar. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat inkübasyonu sonunda yalancı hif, yalancı hif boyunca tek tek veya ufak kümeler yapacak biçimde dizilim gösteren blastosporlar oluşturur (Kevin ve Howell, 2003; Tümbay, 1999; Tümbay, 1983). Bazen de yalancı hiflerin ucunda ince duvarlı, yuvarlak klamidospora benzer yapılar oluşturabilir. Ancak bunlar *C. albicans*'a ait klamidosporlardan, bir destek (süspansör) hücrenin bulunmamasıyla farklılık gösterir (Tümbay, 1983).

Diğer yandan *C. tropicalis*, çimlenme borusuna benzeyen uzamış yalancı hifimsi hücreler de yapabilir. Çimlenme borusuna benzeyen bu borucuğun *C. tropicalis*'e ait maya hücresinden çıktığı yerde bir daralma görülür. Bu daralma durumu *C. albicans*'ın çimlenme borusunda görülmemektedir (Tümbay, 1999; Yücel ve Kantarcıoğlu, 1999).



Şekil 2. *C. tropicalis*'in SDA'daki koloni morfolojisi.

C. krusei: Yassı, kuru, donuk, krem renginde çevresinde miçelin çıktığı “kıрма” koloniler oluşturur. Mısırunlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat sonunda yalancı hif, bunun etrafında uzun “ağaca benzer” dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur (Tümbay, 1983). Üreaz pozitifdir. Flukonazol profilaksisi alan immunkompremize hastalarda önemli etkindir (Kevin ve Howell, 2003; Tümbay, 1999).



Şekil 3. *C. krusei*’nin SDA’daki koloni morfolojisi

C. kefyr: Krem renginde, yumuşak krem gibi veya tereyağı kıvamında S tipi düzgün koloni oluşturur. Mısır unlu-Tween 80 agarda 26 °C’de 72 saat inkübasyon sonunda yalancı hif ve uzun blastospor yapar (Kevin ve Howell, 2003; Tümbay, 1999). Çoğunlukla blastosporlar yalancı hiften ayrılıp birbirine paralele dizilim gösterirler ve bu görünümleri ile “ırmakta yüzen kütük dizileri”ni andırırlar (Tümbay, 1983).



Şekil 4.*C. kefyr*'in SDA'daki koloni morfolojisi

***C. boidinii*:** Toprak, deniz suyu gibi doğal ortamlarla birlikte, fermente yağ gibi maddelerde de bulunmakta olup, biyoteknolojik olarak metanol oratmında sitrik asit üretmesi yönünden de oldukça önemli bir candida türüdür (Hui ve Khachatourians, 1995).

***C. famata*:** Bu maya tipinin ilk başlarda insanlar ve diğer canlılar için patojenik olmadığı düşünülse de ilerleyen yıllarda diğer patojen *Candida* türlerinin sebep olduğu, oküler endophthalmitis, akut zonal rahatsızlıklar, sinir sistemi enfeksiyonları gibi hastalıklarda etken olduğu kanıtlanmıştır (Liu, 2011).

***C. thermophila*:** 45- 60 °C sıcaklıklar arasında çoğalma eğiliminde olan bir *Candida* türüdür. 40 °C sıcaklığın altında ciddi bir gelişim eğilimi yoktur. Toprakta bol miktarda bulunur.

Mantarlara bağlı gelişen mastitisler, mikrobiyal inceleme yapılmadan antibiyotik seçimine bağlı hatalı tedavilerden sonra gelişmektedirler (Richard ve ark, 1980; Galli, 1954; Lohan ve ark, 1977). Mantarlara bağlı mastitislerde etken çoğu zaman *Candida* spp. olup belirlenmediğinden dolayı, uzun süreli antibiyotik tedavileri yapılmakta ve bir çok mikroorganizmaya karşı direnç gelişimi sağlanmaktadır. Bundan dolayı mantarlara bağlı mastitislerin gelecekte önemli bir problem oluşturması beklenmektedir (Santos ve Marin, 2005).

Çalışmamızda araştıracağımız *Candida* spp'ler mantar ve mayalara bağlı gelişen mastitis vakalarında en sık rastlanılan etkindir. Özellikle inatçı mastitis vakalarında karşımıza çıkmakta ve etkenlere karşı kullanılan antibakteriyel tedavilerine cevap alınamamaktadır. Antifungal seçiminin ise gelişen direncin araştırılarak uygulanması gerekmektedir.

2.9. *Candida* Türlerinin Tanımlanması ve Tedavisi

Antimikrobiyallerin 1945'te, 1950'de kortikoterapi'nin ve 1966'da ise immun supresif'lerin tedavide kullanılmaya başlamasıyla birlikte fungal enfeksiyonların görülme sıklıklarında yükselmeye başlamıştır. Şimdiye kadar doğada (yem, bitkiler, su ve hava) 72.000 civarında mantar tanımlanmıştır. Bunlardan 300 kadarı potansiyel patojen olarak insan ve hayvanlarda mikozislerden sorumludurlar (Krukowski ve Saba, 2003).

Fungus (Mantar) kelimesi Latince deki *fungus* kelimesinden gelmekte olup Latinceye de Yunancadaki *sphongirs* veya *spongae* kelimelerinden geçmiştir. Mikolojinin tarihçesinde en önemli işi Sabouraud adıyla bilinen bilim adamı gerçekleştirmiş ve mantarların izolasyonunda kendi adıyla anılan besiyerini geliştirmiştir. Mantar izolasyonlarında genellikle Sabouraud medium kullanılmaktadır (Drouhet, 1998).

Candida türlerinin üretilmesinde, bakterilerin ve hızlı üreyen küflerin üremelerini baskılayan besiyerlerinin seçilmesi kolaylık sağlar. Bu amaçla seçicilik sağlamak üzere primer izolasyon besiyerlerinin bileşimine penisilin, streptomisin, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler ve sikloheksimid (actidione) eklenebilir. Pratikte çeşitli antibiyotikler eklenmiş Brain Heart İnfüzyon agar (BHI), Sabouraud-BHI agar (SABHI) ve İnhibitory Mold Agar (IMA) gibi besiyerleri primer izolasyon amacı ile kullanılmaktadır (Rodriguez-Todela ve Martinez-Suarez 1994; Baumgartner ve ark, 2003).

Çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarda mantarların birçok türü mastitislerden sorumlu tutulmuştur (Krukowski ve Saba, 2003). Meme bezlerindeki mantar enfeksiyonlarının mayalar daha baskındırlar. En sık görülen tür ise *Candida*'lardır. *Cryptococcus* ve küflere daha nadir oranda rastlanılmaktadır (Gonzalez, 1996).

Casia dos Santos ve Mo acir Marin yaptıkları incelemelerde çeşitli ülkelerdeki mantar etkenlerine bağlı mastitisli sütlerde mantar izolasyon oranları Mısır'da % 6.1, Danimarka'da %1.3, Brezilya'da %12.07, gibi farklılıklar içerirken, yapmış oldukları çalışmalarında %32 olarak belirttikleri mantar enfeksiyonlarından %17.3'ünden *Candida*'ları sorumlu tutmuşlardır (Dos Santos ve Marin, 2005). Tarfarosh ve Purohit klinik mastitisli 56 sütte yaptıkları çalışmada 4 adet (%7.14) *Candida* spp. izole etmişlerdir (Tarfarosh ve Purohit, 2008).

Birçok araştırmada mastitisli sığır sütlerinde bulunan *Candida* türlerinden en sık rastlanılanları *C. krusei*, *C. rugosa* ve *C. albicans* olarak belirtilmektedir (Costa ve ark, 1993, Aalbaek ve ark, 1994; Santos ve Marin, 2005). Kurowski ve ark (2006) Polonya'nın Lublin bölgesinde yaptıkları araştırmada en sık rastlanılan türleri *C. kefyr*, *C. ciferrii* ve *C. Krusei* olarak rapor etmişlerdir.

Şeker (2010) yaptığı araştırmada mastitisli sığır sütlerinden elde edilen 207 *Candida* türünün identifikasyonu ve hemolitik aktivitesini incelemiştir. İdentifikasyon aşamasında altın standart olarak kabul edilen API 20C AUX yarı otomatik identifikasyon sisteminden yararlanılmış ve araştırma sonuçlarında en yüksek oranda *Candida krusei* (34.8%) bulunmuştur. Bunu sırasıyla, *Candida rugosa* (16.4%), *Candida kefyr* (12.6%), *Candida albicans* (10.1%) ve *Candida tropicalis* (9.2%) takip etmiştir. Daha az oranlarda ise *Candida zeylanoides* (5.8%), *Candida parapsilosis* (4.3%), *Candida guilliermondii* (3.4%), *Candida famata* (1.9%) ve *Candida glabrata* (1.5%) identifiye edilmiştir.

2.9.1. *Candida*'larda Kullanılan Antifungaller

Dissemine *Candida* enfeksiyonlarının tedavisi oldukça güçtür. Çünkü bu enfeksiyonlarda tedavi alternatifleri sınırlıdır ve mevcut antifungallerin birçoğu önemli yan etkilere sahiptir. Antifungal ilaçların hedefi genellikle fungal hücre membran sterolu ya da hücre duvarıdır. Son yıllarda klinik kullanımda olan sistemik etkili antifungal ilaçlar 3 ana grupta yer almaktadır bunlar; polyenler, azoller ve ekinokandinlerdir (Herbrecht ve ark, 2002).

Polyenler: Bu grupta amfoterisin B (AMB) ve nistatin yer almaktadır. AMB ve lipit formülasyonları sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nistatin ise topikal bir antifungaldir ve sistemik kullanım için geliştirilmiş bir lipit formülasyonu araştırma aşamasında kalmıştır (Johnson ve Kauffman, 2003). AMB hidrofilik bir polihidroksil zinciri ve lipofilik bir polyen hidrokarbon zincirine sahip amfoterik bir bileşiktir. Suda iyi çözünmez. Ticari olarak bulunan parenteral formülasyonu AMB deoksikolattır (Letscher-Bru ve Herbrecht, 2003). Şiddetli sistemik enfeksiyonlarda en etkili antifungal ilaç olmasına rağmen terapötik aralığının dar olması klinik kullanımını sınırlamaktadır (Moran ve ark, 2002; Letscher-Bru ve Herbrecht, 2003; Sucher ve ark, 2003). Bu nedenle AMB lipit kompleks, AMB koloidal dispersiyon ve lipozomal AMB gibi lipit formülasyonları geliştirilmiştir ve bunların böbrekteki konsantrasyonları nefrotoksik AMB deoksikolattan daha düşüktür (Moran ve ark, 2002; Letscher-Bru ve Herbrecht, 2003; Sucher

ve ark, 2003). AMB ve diğer polyenler fungusidal etkilidir ve primer olarak fungal hücre membranının esas sterolü olan ergosterole bağlanarak etki gösterirler (Moran ve ark, 2002; Letscher-Bru ve Herbrecht, 2003; Sucher ve ark, 2003). Memeli hücresindeki temel sterol olan kolesterole düşük afinitesi, ilacın seçici toksik etkisini belirlemektedir (Eliopoulos ve Moellering, 2006). Bu bağlanma sonucunda mantar hücresinin membran geçirgenliği artar ve bunu hücre içi potasyum, magnezyum, şekerler ve metabolitlerin kaybı takip eder. Sonuçta hücre canlılığını kaybeder. AMB'nin ilave bir etki mekanizması da oksidatif mekanizmalarla direkt membran harabiyetine neden olmasıdır. AMB geniş bir etki spektrumuna sahiptir; *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp., zigomiçetesler ve endemik dimorfik patojenlere (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* ve *Penicillium marneffeii*) etkilidir. Bununla birlikte, *Aspergillus terreus*, *Fusarium* spp., *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium prolificans*, *Trichosporon* spp. ve bazı dematiyesöz (esmer) mantarların AMB'ye dirençli olduğu bildirilmektedir (Uzun, 2006). Ayrıca *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* ve *C. rugosa*'nın bazı izolatları arasında AMB'ye azalmış duyarlılık bildirilmiştir (Johnson ve Kauffman, 2003). AMB, çeşitli organlara geniş olarak yayılır ve en yüksek konsantrasyona karaciğer, dalak, böbrek ve akciğerlerde ulaşır. Beyin omurilik sıvısına geçişi az olmakla birlikte, MSS fungal enfeksiyonlarında etkili bulunmuştur. Lipit AMB formülasyonları kolay tolere edilebilirlikleri ve enfeksiyon alanına daha fazla yayılmaları nedeniyle in vivo yüksek etkinliğe sahiptirler. Bunlar esas olarak renal fonksiyonu bozuk ya da AMB deoksikolatı tolere edemeyen hastalarda endikedir. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Lipit formülasyonların, başta nefrotoksiste olmak üzere yan etkileri önemli oranda azalmıştır. AMB infüzyon sırasında ya da sonrasında ortaya çıkabilen ciddi yan etkilere sahiptir. İnfüzyon sırasında ortaya çıkan akut reaksiyonlar interlökin ve prostaglandinlerin salınmasına bağlı ateş, titreme, miyalji, hipo/hipertansiyon, taşikardi ve bronkospazmdır. Daha geç ortaya çıkan reaksiyonlar hastanın duyarlılığı ve altta yatan hastalığı ile ilgili olarak, sıklıkla nefrotoksiste ve anemidir. Lipit formülasyonların en önemli avantajı bu nefrotoksik yan etkiyi anlamlı oranda azaltmasıdır (Johnson ve Kauffman, 2003).

Azoller: Azol grubu antifungaller kimyasal yapılarına göre iki gruba ayrılırlar; imidazoller (azol halkasında iki nitrojen bulunur; ketokonazol, mikonazol, klotrimazol ve ekonazol) ve triazoller (azol halkasında üç nitrojen bulunur). İmidazoller içinde sadece ketokonazol sistemik etkiye sahiptir. FLU, itraconazol, vorikonazol (VOR) ve posakonazolü içeren triazollerin hepsi sistemik etkiye sahiptir, ayrıca bu grupta yer alan ravukonazol, isavukonazol ve albakonazol henüz araştırma aşamasındadır. Azol grubu, en yaygın

kullanılan antifungal ajanlardır ve fungal sitokrom P-450 bağımlı enzim 14- α -demetilazı inhibe ederek etki gösterirler. Bu enzim lanosterolün ergosterole dönüşümünü sağladığından, inhibisyonuyla fungal hücre membranı sentezi bozulur. Böylece fungal üreme engellenir (fungustatik) ya da fungal hücre ölümü (fungusidal) gerçekleşir. Genellikle azoller, *Candida* spp. ve *Cryptococcus neoformans* gibi mayalara fungustatik etki göstermekteyken, itrakonazol, VOR, posakonazol ve ravukonazolün *Aspergillus* türlerine karşı fungusidal etkili olduğu bildirilmektedir (Johnson ve Kauffman, 2003).

VOR yeni bir triazol antifungaldır ve oldukça geniş bir etki spektrumuna sahiptir; *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon* spp. gibi maya mantarlarına; *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. ve dematiyesöz etkenler gibi filamantöz mantarlara; ve endemik dimorfik patojenlere etkili olduğu bildirilmektedir (Johnson ve Kauffman, 2003; Uzun, 2006). Ayrıca doğal FLU direncine sahip olduğu bilinen *C. krusei* ve FLU'e azalmış duyarlılığından söz edilen *C. glabrata*'ya karşı da etkilidir. VOR *Zygomycetes*'e etkisiz, bunun yanında *Aspergillus terreus* ve *Pseudallescheria boydii* gibi AMB'ye dirençli mantarlara karşı etkilidir (Johnson ve Kauffman, 2003).

VOR'un hem oral hem de parenteral formları mevcuttur ve oral biyoyararlanımı oldukça yüksektir (>%90) (Letscher-Bru ve Herbrecht, 2003; Johnson ve ark, 2004). MSS ve diğer tüm dokulara penetrasyonu iyidir. Maya mantarlarına fungustatik, *Aspergillus* türlerine fungusidal etkilidir. VOR tedavisi için primer endikasyon invaziv aspergillozudur ve invaziv aspergilloz tedavisinde AMB'den daha etkili bulunmuştur (Johnson ve ark, 2004). VOR genellikle iyi tolere edilir, en sık yan etkisi geçici görme bozukluğudur ve hastaların yaklaşık %30'unda görülür. Nadiren tedavinin kesilmesini gerektirir. Bunun dışında cilt reaksiyonları, anormal karaciğer fonksiyon testleri, halüsinasyonlar ya da konfüzyon gibi yan etkiler de gözlenebilir. Hepatik P-450 sistemi ile metabolize olan diğer ilaçlarla etkileşimi sızır (Johnson ve Kauffman, 2003).

Primidin Sentezi İnhibitörleri: Flusitozin (5-FC): Bir antitümör ajanı olarak keşfedilmiştir. Fungostatik etkilidir (Mathema ve ark, 1997). Ancak tedavide tek ilaç kullanımına yaygın olarak direnç geliştirmektedir. Bu yüzden tedavide kullanımı sınırlıdır (Zer ve Balcı, 2001).

Klinik olarak persistan kandidemilerde, derin doku kandidozlarında Amp-B ile kombine kullanımı tedavide etkili olmuştur (Koç, 2002). Flusitozin'in etki tarzı timidilat sentetazı inhibe ederek fungal DNA oluşumunu engellemesidir (Koneman ve ark, 1997).

Wawron ve ark., Polonya'da yaptıkları araştırmada mastitisli sütlerden izole edilen 150 maya'nın antifungal duyarlılık incelemişler ve tioconazol'e % 96.7, nystatin'e %95.4,

amphoterycin'e %94 ve flucytosin'e % 92.7, fluconazol'e % 39.3, clotrimazole ise % 60 duyarlılık sonuçlarına ulaşmışlardır (Wawrow ve ark, 2010). Buna benzer bir çalışmada sığır mastitislerinden izole edilen *Candida spp.* lerde en etkili antifungalın ise Nysytatin olduğu rapor edilmiştir (Nadaş ve ark, 2011).

Tablo 1: Kullanılan antifungaller ve etki mekanizmaları

Antifungal Ajan	Etki Mekanizması
Poliyenler: Polyen Amfoterisin-B Lipozomal amfoterisin-B Amfoterisin-B lipid kompleks Amfoterisin-B colloidal dispersiyon	Mantar hücre duvarı ergosteroline bağlanarak hücre duvarı geçirgenliğini artırır. Özellikle hücre içi K ⁺ kaybı hücre canlılığının yitirilmesine neden olur.
imidazoller: Mikonazol Ketokonazol	Sitokrom P450'nin hem kısmına bağlanarak lanosterolün α -demetilasyonunu inhibe ederek ergosterol sentezini inhibe eder.
Triazoller: Flukonazol	İmidazollerle aynı
Primidin Sentezi İnhibitörleri: 5-Flusitozin	RNA ve DNA sentez inhibisyonu yapar.

Çeşitli araştırmalarda da görüldüğü üzere Sığırların Mastitis olgularında *Candida spp.*'lerin görülme oranları oldukça farklılıklar göstermekte ise de genellikle % 1 – 15 arasında bulunmaktadır. Literatür incelemede de belirtildiği gibi bu görülme sıklığının havada ki nem oranları ile de bir ilişkisi bulunmaktadır. Tekirdağ ili ve çevresi de havada ki nem oranının düşük olmadığı bir coğrafyaya sahip olup, bu bölge de görülecek olan mastitis vakalarında *Candida spp.*'lerin görülme sıklığının Türkiye'nin diğer bölgelerine oranla daha yüksek olabileceği tahmin edilmektedir. Bunun yanında araştırmalara bakıldığında mastitisleri

inceleyen birçok araştırıcı etken izolasyonlarında *Candida spp.*'lere yer verirken antifungal duyarlılıkla ilgili somut verilere rastlanılmamaktadır. Araştırma da kullanılması planlanan antifungallerin de bu tip mastitis vakalarının sağaltımında büyük yardımı olacağı düşünölmektedir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

Araştırmamızda Tekirdağ ilinde bulunan büyükbaş çiftliklerinden alınan numuneler ile çalışılmıştır. Araştırmada çiftliklerden toplanan 100 adet mastitisli süt örneği kullanılmıştır. California Mastitis Testi (CMT) yapılarak mastitisli olduğu tespit edilen örnekler steril koşullarda alındı. Örnekler periyodik aralıklarla soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD laboratuvarlarına getirilerek analizlere tabi tutulmuştur.

Araştırmanın yapılmasına Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 64583101/2015/100 sayılı kararı ile etik açıdan bir sakınca görülmemiştir.

3.1.2. Californiya Mastitis Test Ayracı (Immucell®)

Alkil Benzen Sülfonat

pH indikatörü

Ayraçlar, süt ile karıştırılarak enfeksiyonun derecesine göre mastitis şüphesi taşıyan hayvanların sütleri toplandı. Toplanan sütlerde, test kiti prosedürüne göre mastitis derecesi belirlendi.

3.1.3. Antifungal Standartları

Çalışmada antifungal duyarlılık testlerinde Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B, Nystatin ve Flucytosine etken maddelerini içeren antifungal diskleri kullanılmıştır.

3.1.4. Besiyerleri

3.1.4.1. İzolasyon Besiyerleri

%4 Sabouraud Dextrose Agar (Merck 1.05438)

Peptone 10.0 g/L

D(+) Glucose 40.0 g/L

Agar-agar 15g/L

Karışımın pH'sı 5.6'ya ayarlanıp, 15 dakika otoklav edildikten sonra, 50 °C'ye kadar soğutulup, içerisine antibiyotik ilave edilip steril petrilere döküldü.

3.1.4.2. Antifungal Duyarlılık Testinde Kullanılan Besiyerleri

Mueller – Hinton Agar (Oxoid CM 0337)

Beef, dehydrated infusion from 300

Casein hydroysate 17.5

Starch 1.5

Agar 17

Distile su 1000 cc

Karışımın pH'ı 7,4'e ayarlandı. 15 dakika otoklav edildikten sonra, 55 °C'ye kadar soğutulup, içine % 5 oranında kan ilave edildi (Allan ve ark, 1985).

Mueller - Hinton Agar + 2% Glucose ve 0.5 µg/mL Methylene Mavisi (GMB)

Beef, dehydrated infusion from 300

Casein hydroysate 17.5

Starch 1.5

Agar 17

Glukoz %2

Metilen Mavisi 0.5 µg/mL

Distile su 1000 cc

Müller – Hinton agar hazırlandıktan sonra final konsantrasyonuna %2 Glukoz ve 0.5 µg/mL Methylene Mavisi eklenerek hazırlanır.

3.1.5. Hızlı Tanı Test Kiti

Fransız Biomerieux firması tarafından *Candida* türlerinin identifikasyonu için üretilmiş olan API 20C AUX hızlı tanı kiti kullanılmıştır.

3.1.6. Boyalar

3.1.6.1. Gram Boyama

Crystal violet	500 ml
Lugol	500 ml
Deklorizasyon çözeltisi	500 ml
Safranin	500 ml

Yukarıda içeriği yazılı olan Gram boyama seti kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikrobiyolojik Muayene

3.2.1.1. Örneklerden *Candida* spp. İzolasyonu

Araştırmamızda Tekirdağ ili ve çevre ilçelerinden temin edilen 100 adet mastitisli süt numunesi kullanılmıştır. Örnekler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Rutin Teşhis laboratuvarına getirilmiştir. Rutin laboratuvara mantar kültürü amacıyla getirilen örnekler SDA'a ekildi ve 25°C ve 37°C de inkübe edildiler. Üremeler günlük olarak kontrol edildi ve 72 saat sonunda, maya üremesi olmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı. SDA'da 2-3 günde üreyen, hamur kıvamında, 0,5-1 mm çapında, beyaz veya krem renkli, düzgün sınırlı ve kendine özgü maya kokusu olan kolonilerden Gram boyamalar yapıldı. Gram boyamada; Gram pozitif, oval veya uzamış tomurcuklu maya hücreleriyle, tek tek, bazen ikili, üçlü blastospor kümeleri ve pseudohif oluşturan maya hücreleri *Candida* spp. olarak tanımlandı. *Candida* spp. olarak tanımlanan mikroorganizmalar SDA'ya pasajlanarak saf kültürler elde edildi. Saf olarak elde edilen kültürlerden antifungal

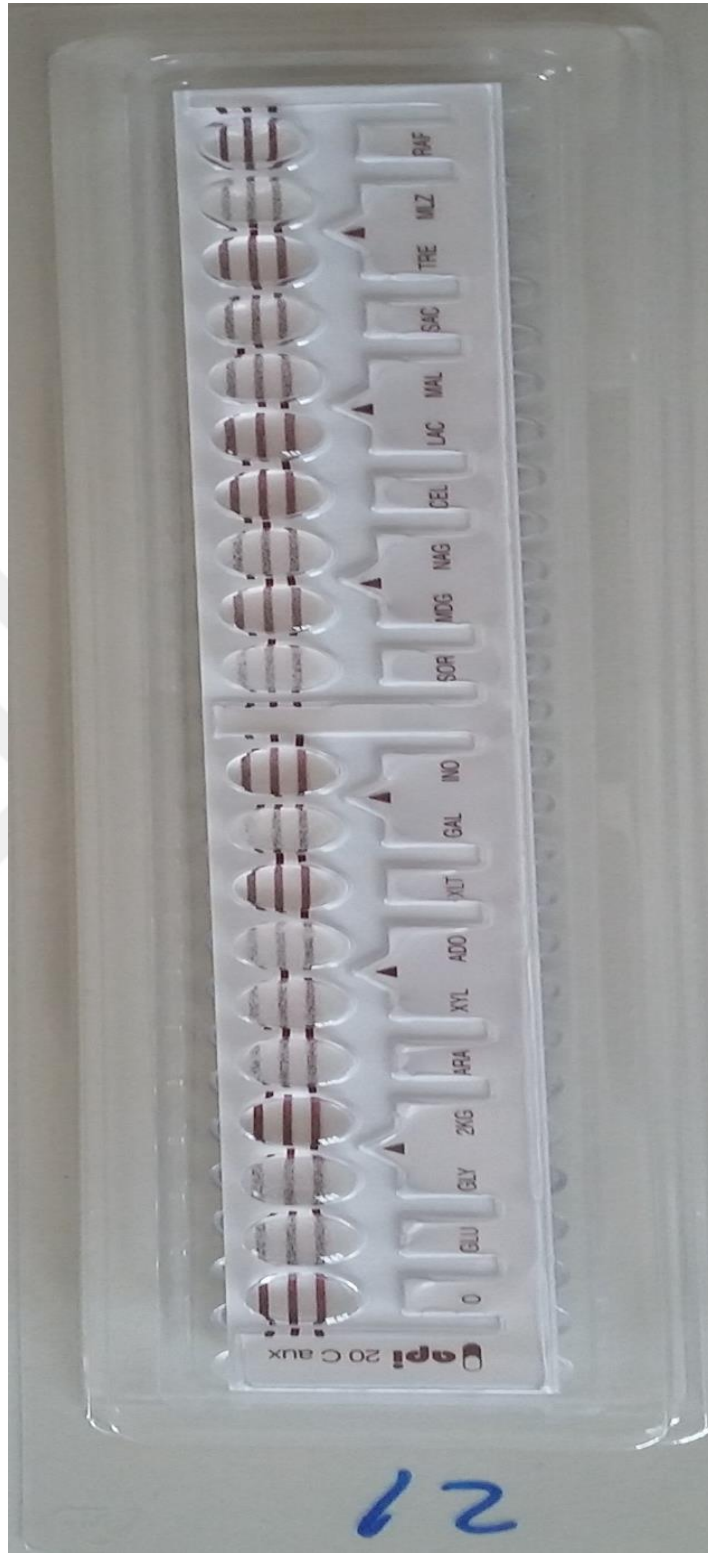
duyarlılık testinde kullanılmak üzere yatık SDA'a pasaj yapıldı ve çalışılncaya kadar -20 °C'de saklandı (Bilgehan, 1995).

3.2.1.2. İzole Edilen Suşların Hızlı Tanı Test Kiti ile İdentifikasyonu

API 20C AUX; 19 karbonhidrat asimilasyon testinin hazırlandığı 20 mikrokuyucuk içerir. Test edilen karbonhidratlar: glukoz, gliserol, 2-keto-D-glukonat, Larabinoz, D-ksiloz, adonitol, ksilitol, galaktoz, inositol, sorbitol, α -metil-Dglukozid, asetil-D-glukozamin, selobiyoz, laktoz, maltoz, sükroz, trehaloz, melibiyoz ve rafinozdur. Mayalar inoküle edildikleri kuyucuktaki karbonhidratı karbon kaynağı olarak kullanıyorlarsa, o kuyucukta üreme olur (Şekil 5). API 20C AUX'la mayaların karbonhidrat asimilasyon yetenekleri 24., 48. ve 72. saatte değerlendirilerek sonuç verilir.

Testin Uygulanması:

1. Stripin hazırlanması: İnkübasyon kabının içindeki kuyucuklar 5 ml distile su ile dolduruldu ve strip paketi açılarak içine yerleştirildi.
2. İnokülasyon: SDA'daki 24 saatlik taze kandida kolonilerinden steril bir öze ile alınıp, 2 ml 'lik Suspension Medium (%0.85 NaCl) içinde karıştırılarak yoğunluğu 2 McFarland olacak şekilde ayarlandı. Bu süspansiyondan, kit içeriğinde olan C medium içine 100 μ l aktarıldı. Bu süspansiyondan sribin içinde bulunduğu kuyucuklara dolacak fakat taşmayacak şekilde dağıtıldı. Strip inkübasyon kabının içine yerleştirilip, kapağı kapatıldı ve 30°C'de 24-72 saat inkübasyona bırakıldı.
3. Stribin okunması: Bulanıklık olan kuyucuklarda üreme pozitif kabul edildi. Negatif kontrolde üremenin olmamasına dikkat edildi. Özellikle glukoz kuyucuğunda üreme yoksa inkübasyon süresi 24 saatten 72 saate kadar uzatıldı. Üreme olan kuyucuklar not edildi.
4. İdentifikasyon: Test prosedürüne göre üreme olan kuyucuklara 72 değerlendirme cetvelinde 1,2,4 gibi numaralar verildi. Her bir grup içindeki sayılar toplandı ve sayısal profil elde edildi. Hif oluşumu için de 4 sayı eklendi. Elde edilen sayısal profil, API 20C AUX Analytical Profile Index'e göre değerlendirildi (API 20C AUX, bioMerieux, France, kit prosedürü).



Şekil 5: Api 20C AUX test kiti karbonhidrat kuyucuklarında üreme

3.2.2. İzole ve İdentifiye Edilen *Candida*'ların Antifungal Duyarlılık Testleri

Mastitisli sütlerden identifiye edilen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık değerleri Disk difüzyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada antifungal duyarlılık testlerinde Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B, Nystatin ve Flucytosine etken maddelerini içeren antifungal diskleri kullanılmıştır. Çalışmanın planlanma aşamasında kullanılması düşünülen İtraconazole antifungal diski piyasadan temin edilemediği için kullanılamamıştır.

3.2.2.1. Maya İnokulumun Hazırlanması

Test öncesi tüm suşlar SDA besiyerine pasajlanıp, 35°C'de inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik taze kültürden 1 mm çaplı yaklaşık beş koloni alınarak 5 ml steril % 0.85 NaCl içinde homojen süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyon yaklaşık 15 saniye vortekslendikten sonra 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlandı.

3.2.2.2. Antifungal Disk Difüzyon Metodu

İzole edilen suşların antifungal duyarlılık testleri NCCLS'in M-44 (Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline) yönergesine göre yapıldı. Her bir izolat McFarland No:5 yoğunluğunda ayarlandıktan sonra 15 dakika beklendi. Steril pamuk svab hazırlanan süspansiyona batırıldı ve 2-3 defa çevirildikten sonra sıvı seviyesini ayarlamak için tüpün kenarlarına bastırıldı. Busayede svabtaki fazla sıvı uzaklaştırıldı. Daha sonra pamuk svab steril Muller-Hinton + GMB agar'ın tüm yüzeyine sürülerek inokulasyon aşaması tamamlandı. Standart antifungal diskleri (Oxoid) steril bir pens yardımı ile eşit aralıklarla petri üzerine yerleştirildi. Petriler 37 °C'de 20-24 saat inkube edildi. İnkübasyon sonrasında her diskin çevresinde bulunan inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçüldü ve standartları ile karşılaştırıldı (NCCLS Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline 2004 M44-A Vol. 24 No.15) Araştırmada kullanılan antifungal maddelerin duyarlılık/dirençlik standart zon çapları Tablo1'de verilmiştir (Wawron, 2010).

Tablo 2. Anifungal Standart Zon apları (Wawron, 2010).

Antifungal	S	I	R
Nystatin	>18	14-18	<14
Fluconazole	>18	14-18	<14
Miconazole	>18	14-18	<14
Ketoconazole	>18	14-18	<14
Amphoterycin B	>16	12-16	<12
Flucytosine	>20	12-16	<16

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Bu tez çalışmasında Tekirdağ ilinde bulunan büyükbaş çiftliklerinden alınan numuneler ile çalışılmıştır. Araştırmada çiftliklerden toplanan 100 adet mastitisli süt örneği kullanılmıştır. Araştırmada Tekirdağ ilindeki büyükbaş çiftliklerinden toplanan 100 adet mastitisli süt örneğinin 25 (%25) adedinde *Candida* spp. varlığı saptanmıştır. İzole edilen 25 suşun API 20C AUX hızlı tanı test kiti ile yapılan identifikasyon bulgularına göre 8 adet (%32) *C. krusei*, 5 adet (%20) *C. albicans*, 3'er adet (% 12) *C. boidinii*, *C. famata* ve *C. kefyr*, 2 adet (%8) *C. spherica* ve 1 adet de (%4) *C. thermophila* tespit edilmiştir (Tablo 3).

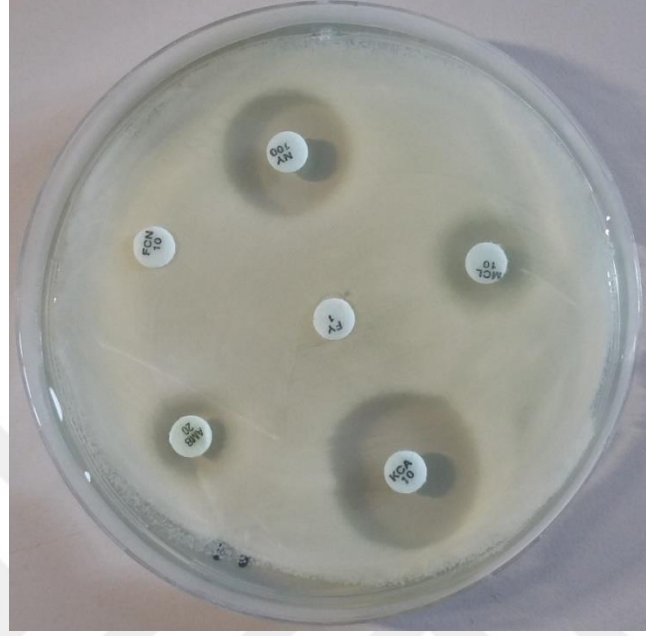
Tablo 3: İzole edilen *Candida* türlerinin identifikasyon sonuçları

Candida türü	Adet	%
<i>C. krusei</i>	8	32
<i>C. albicans</i>	5	20
<i>C. boidinii</i>	3	12
<i>C. famata</i>	3	12
<i>C. kefyr</i>	3	12
<i>C. spherica</i>	2	8
<i>C. thermophila</i>	1	4
Toplam (n=25)	25	100

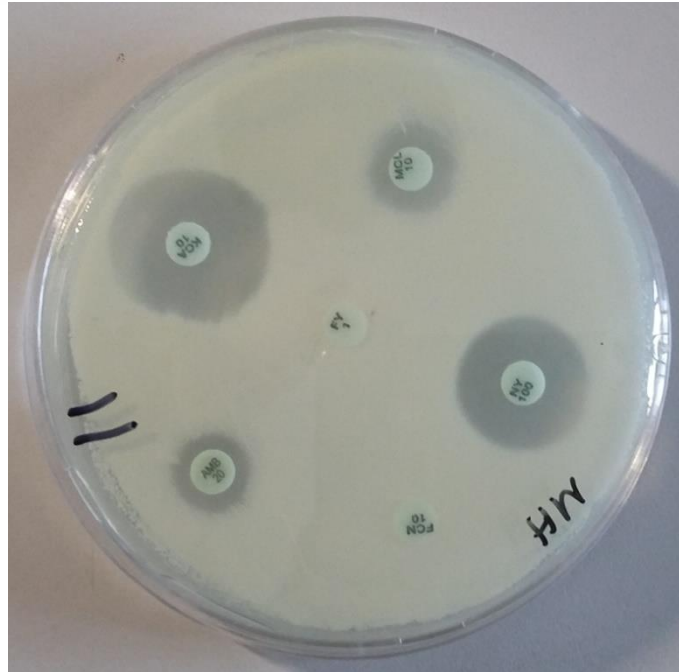
4.2. İzole Edilen *Candida* İzolatlarının Antifungal Duyarlılık Testi Bulguları

İzole edilen suşlara NCCLS'in M-44 (Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline) yönergesine göre yapılan ve Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B, Nystatin ve Flucytosine disklerinin kullanıldığı antifungal duyarlılık testleri sonuçları değerlendirildiğinde; Tüm izolatlar Ketoconazole'ye duyarlı (%100) iken Fluconazole, Miconazole, Amphotericin B ve Flucytosine (%100) dirençli oldukları bulunmuştur. Nystatin etken maddesine ise 2 adet *C.*

albicans (%20) ve 1 adet *C. krusei* (%12,5) izolatu tam duyarlı iken diğ er tüm izolatların ise orta düzey duyarlılık g  sterdiğı tespit edilmiştir. Çalışma sonunda türlere göre elde edilen zon çapları Tablo 4’de, duyarlılık sonuçları ise Tablo 5’de ayrıntılı olarak verilmiştir. Antifungal test sonuçlarının değıerlendirilmesindeki besiyeri resimleri şekil 6 ve 7 de gösterilmektedir.



şekil 6: Antifungal zonları 1



şekil 7: Antifungal zonları 2

Tablo 4. Türlerle göre elde edilen antifungal zon çapları

Tür	KCA 10 µg	MCL 10 µg	AMB 20 µg	FCN 10 µg	NY 100 Unit	FY 1 µg
<i>C. krusei</i>	30	12	9	0	17	0
<i>C. krusei</i>	27	10	10	0	18	0
<i>C. krusei</i>	24	10	10	0	16	0
<i>C. krusei</i>	25	10	9	0	17	0
<i>C. krusei</i>	26	0	9	0	15	0
<i>C. krusei</i>	25	0	0	0	19	0
<i>C. krusei</i>	29	8	9	0	17	0
<i>C. krusei</i>	28	6	9	0	17	0
<i>C. albicans</i>	26	5	10	0	21	0
<i>C. albicans</i>	25	8	10	0	16	0
<i>C. albicans</i>	25	8	10	0	19	0
<i>C. albicans</i>	27	10	9	0	17	0
<i>C. albicans</i>	25	3	10	0	17	0
<i>C. boidinii</i>	25	9	0	0	16	0
<i>C. boidinii</i>	26	11	10	0	18	0
<i>C. boidinii</i>	30	12	9	0	18	0
<i>C. famata</i>	27	0	9	0	17	0
<i>C. famata</i>	25	0	9	0	17	0
<i>C. famata</i>	25	11	10	0	17	0
<i>C. kefir</i>	26	0	0	0	18	0
<i>C. kefir</i>	29	0	0	0	18	0
<i>C. kefir</i>	25	0	9	0	17	0
<i>C. spherica</i>	28	11	10	0	17	0
<i>C. spherica</i>	26	9	10	0	17	0
<i>C. thermophila</i>	25	10	10	0	18	0

Tablo 5: Elde edilen *Candida* türlerinin antifungal duyarlılık değerleri

Tür	ANTİFUNGAL																	
	KCA			MCL			AMB			FCN			NY			FY		
	10 µg			10 µg			20 µg			10 µg			100 Unit			1 µg		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<i>C. krusei</i> (n=8)	8	-	-	-	-	8	-	-	8	-	-	8	1	7	-	-	-	8
<i>C. albicans</i> (n=5)	5	-	-	-	-	5	-	-	5	-	-	5	2	3	-	-	-	5
<i>C. boidinii</i> (n=3)	3	-	-	-	-	3	-	-	3	-	-	3	-	3	-	-	-	3
<i>C. famata</i> (n=3)	3	-	-	-	-	3	-	-	3	-	-	3	-	3	-	-	-	3
<i>C. kefyr</i> (n=3)	3	-	-	-	-	3	-	-	3	-	-	3	-	3	-	-	-	3
<i>C. spherica</i> (n=2)	2	-	-	-	-	2	-	-	2	-	-	2	-	2	-	-	-	2
<i>C. thermophilia</i> (n=1)	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	1

S: Duyarlı, I: Orta düzey duyarlı, R: Dirençli – KCA: Ketoconazole, MCL: Miconazole, AMB: Amphoterycin B, FCN: Fluconazole, NY: Nystatin, FY: Flucytosine

5. TARTIŞMA

Süt işletmelerinin en önemli sorunlarından olan mastitis, işletme giderlerini artırarak, süt verimi azaltarak ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Mantarlara bağlı gelişen mastitisler, mikrobiyal inceleme yapılmadan antibiyotik seçimine bağlı hatalı tedavilerden sonra gelişmektedirler (Richard ve ark, 1980; Galli, 1954; Lohan ve ark, 1977).

Mantarlara bağlı mastitislerde etken çoğu zaman *Candida* spp. olup belirlenmediğinden dolayı, uzun süreli antibiyotik tedavileri yapılmakta ve bir çok mikroorganizmaya karşı direnç gelişimi sağlanmaktadır. Bundan dolayı mantarlara bağlı mastitislerin gelecekte önemli bir problem oluşturması beklenmektedir (Santos ve Marin, 2005).

Araştırmalar arttıkça mastitise sebep olan mantarlarında önemli bir yer tutacağı ve antifungal ilaçlarında önem kazanacağı değerlendirilmiştir. Özellikle tropikal iklimlerde ve nem miktarı yüksek olan bölgelerde *Candida* spp. den kaynaklı mastitislerin hiç azımsanmayacak seviyede olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada Tekirdağ ili ve çevre ilçelerinde farklı işletmelerden 113 adet klinik muayene ile mastitis şüpheli süt alınmıştır. Alınan bu sütlerden 100 adedi CMT (+) olarak tespit edilmiştir. 100 adet mastitisli süt numunesi soğuk zincir altında periyodik aralıklarla Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD laboratuvarına gönderilmiştir.

Gönderilen süt numuneleri mantar kültürü amacıyla SDA'a ekilerek inkübe edildikten sonra Gram boyama ile *Candida* spp. olduğu tanımlananlar ise antifungal testlerde kullanmak üzere SDA' ya pasajlanarak ayrılmıştır. İzole edilen suşların Biomerieux API 20C AUX hızlı tanı kiti ile identifikasyonları yapılmıştır. İdentifikasyon işlemi sonucu 100 adet mastitisli süttten 25 (%25) adedi *Candida* spp. den kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Büyükcangaz ve ark (Büyükcangaz, 2012) Bursa ve çevre illerinde yaptıkları çalışmalarında 480 adet subklinik mastitisli sığır sütlerini inceledikleri araştırmalarında 53 adet *C. albicans* identifiye etmişlerdir. İzole edilen fungal ajanlar içerisinde en önemli yerin % 91.37 lik bir oranla *C. albicans* olduğu belirtilmiştir. Kaya ve arkadaşları (Kaya ve ark, 1999) tarafından yapılan bir çalışmada ise 141 adet süt örneği patojenik mikroorganizmalar yönünden incelenmiş ve 18 adet (%13) *C. albicans* identifiye edilmiştir. Arda ve İstanbulluoğlu (Arda ve İstanbulluoğlu, 1979) ise mastitis üzerine yaptıkları bir çalışmada

%8.8 oranında *C. albicans* identifiye etmişlerdir. Tel ve ark (Tel ve ark, 2009) Şanlıurfa yöresinde mastitisli sütleri inceledikleri çalışmalarında CMT pozitif bulunan 181 inekten alınan 332 adet süt örneğinden 258 mikroorganizma izole etmişler ve bunlardan da 5 adet (%1.5) *Candida* spp. elde etmişlerdir. Diyarbakır'da 2012 yılında yapılan araştırmada ise CMT pozitif 134 inekten alınan toplam 268 süt örneğinden 239'unda mikroorganizma üremesi görülmüş ve de 10 (%3,73) *Candida* spp. izolasyon oranı bildirilmiştir (Yeşilmen ve ark, 2012).

Spanamberg ve ark (2008), Brezilya'da süt sığırlarından alınan 242 adet süt örneğinden yaptıkları bir çalışmada ise; 43 (% 17.3) adedinde maya kökenli mastitis belirlemişlerdir. Üreyen etkenler arasında ise yaygın olarak sırasıyla *Candida* spp. (%37.9), *Pichia* spp. (%19.1), *Cryptococcus* spp. (%10.3) ve *Rhodotorula* spp. (%10.3) belirlemişlerdir.

El-Razik ve ark (2011), Mısır' da yaptıkları benzer bir çalışmada ise, 123 adet süt örneğini mikotik mastitisler yönünden incelemişler ve bunun sonucunda 24 örnekte *Candida albicans* 7 örnekte ise *Aspergillus fumigatus* ürediğini bildirmişlerdir.

Krukowski ve ark (2001) Polonya'nın Lublin bölgesinde yaptıkları araştırmalarında mastitisli sığır sütlerinde %9.6 oranında mantar izolasyonu yapmışlardır. Dworecka-Kaszak ve ark (2012) yaptıkları çalışmada ise mastitisli sığır sütlerinde %14 *Candida* spp. ve %57 Bakteri + *Candida* spp. izolasyonları yapmışlardır. Çalışmalarında toplam 55 adet *Candida* spp. izole etmişlerdir.

Casia dos Santos ve Mo acir Marin (2005)'e göre mastitisli sütlerde *Candida* spp. varlığı dünyanın çeşitli yerlerinde farklılıklar göstermektedir. Yaptıkları incelemede Mısır'da % 6.1 (Awad ve ark, 1980), Danimarka'da %1.3 (Aalbek ve ark, 1994) ve Brezilya'da ise % 12.07 (Costa ve ark, 1993) sonuçlarına ulaşmışlardır. Casia dos Santos ve Mo acir Marin (2005) ise araştırmalarında % 32 oranında mantar izole etmişler ve bunun % 17.3 ünün *Candida* spp. olduğunu bildirmişlerdir.

Candida spp. genel olarak oportunistik mantar patojeni olarak bilinmektedir ve meme derisi, sağımçıların ellerinde, süt sağım makinalarında saman, yem ilaç ve ilaçlama materyallerinde ve diğer çiftlik ekipmalarında bulunabilmektedir (Şeker, 2010; Costa ve ark, 2004). İmmun sistemin baskılandığı durumlarda ise gerek tek başına gerekse de diğer mikroorganizmalarla birlikte memelerdeki savunma bariyerlerini geçerek hastalık oluşturabilmektedir (Dworecka-Kaszak ve ark, 2012). Bununla birlikte *Candida* türlerinin dağılımı da bölgeler arasında farklılıklar göstermekte olup son yıllarda *Candida* türlerinden kaynaklanan mastitis vakalarında bir artış gözlemlenmektedir. Krukowski ve ark (2001) en

sık rastlanılan *Candida* türlerini *C. kefir*, *C. cirferi* ve *C. krusei* olarak rapor etmişlerdir. Costa ve ark (1998, 2004) ise en sıklıkla *C. krusei*, *C. rugosa* ve *C. albicans* türlerine rastlandığını bildirmektedirler. Dworecka-Kaszak ve ark (2012) yaptıkları çalışmada ise araştırmamıza benzer bir şekilde API hızlı identifikasyon kitleri kullanmışlar ve 25 adet *Candida parapsilosis*, 15 *Candida krusei*, 5'er adet *Candida lusitaniae* ve *Candida famata*, 3 adet *Candida guilliermondii*, 1 adet *Candida tropicalis* 1 adet te *Candida albicans* identifikasyonu elde etmişlerdir.

Özenç ve ark (2008) tarafından Afyonkarahisar yöresinde manda sütlerinden alınan 324 adet numune ile yapılan çalışmada 66 adet *Candida* spp. izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların identifikasyonu sonucunda ise *Candida krusei* (% 27.3), *Candida rugosa* (% 16.7), *Candida kefir* (% 12.1) ve *Candida tropicalis* (% 10.6) ile birlikte, *Candida albicans* (9.1%), *Candida zeylanoides*, (% 6.1), *Candida parapsilosis* (% 6.1), *Candida guilliermondii* (% 4.5), *Candida famata* (% 3.0), *Candida glabrata* (3.0%) ve *Candida ciferrii* (% 1.5) gibi türler de tespit edilmiştir.

Araştırmamız sonuçları değerlendirildiğinde mastitisli sütlerde görülen *Candida* türleri *C. krusei* 8 adet (%32), *C. albicans* 5 adet (% 20), *C. boidinii* 3 adet (%12), *C. famata* 3 adet (%12), *C. kefir* 3 adet (%12), *C. spherica* 2 adet (%8), *C. thermophila* 1 adet (%4) olarak tespit edilmiştir. (Tablo 2). Elde edilen sonuçlar Türkiye'nin diğer bölgelerinde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında (Şeker, 2010; Özenç ve ark, 2008) benzerlik göstermektedir. Tür bazında incelendiğinde *C. krusei* ve *C. kefir* sıklıkla tüm dünyada yüksek yüzdelerde görülmekle birlikte özellikle *C. albicans*'ın Trakya bölgesinde yüksek bir oranda bulunduğu gözlemlenmiştir.

C. krusei'nin flukonazole intrinsik dirençli olması gibi bazı *Candida* türleri bazı antifungallere doğal dirençlidir. Bu nedenle ilaç seçiminde *Candida*'nın türünün belirlenmesi de önemlidir (Kuştimur, 1999). Son yıllarda *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlardaki artış ve bu türlerin kullanılmakta olan antifungal ajanlara karşı farklı duyarlılıkları invitro duyarlılık testinin terapötik karar verme aşamasında çok önemli bir yeri olduğunu göstermiştir (Uzun, 1998). 1950'lerde kullanıma sunulan amp-B her ne kadar her mantar enfeksiyonuna etkili olmasada ve toksik özelliği olsa da uzun süre alternatifi üretilenmemiştir. Flusitozin'in ise dar spektrumu ve hızlı direnç kullanımı sınırlandırmıştır (Koç, 2003).

1980'li yıllardan önce sınırlı sayıda olan antifungal ilaçlar daha sonraki yıllarda artış göstermiştir. Nitekim son 10 yılda görülen mantar enfeksiyonlarındaki artış antifungal ilaçların gelişimine yol gösterici olmuştur. Son yıllarda antifungal ajanların artan kullanımı

endojen fungal florayı suprese etmiş ve duyarlı suşların supresyonu ile de daha dirençli suşlar ortaya çıkmıştır (Koç, 2003).

Birçok *Candida* izolatında amfoterisin B'ye direnç gösterilmiştir (Güneş ve ark, 2001). Bazı kandida izolatları ise ketokonazole dirençlidir. *C. albicans*'da Flucytosine karşı %10-30 direnç bilinirken, non-albicans *Candida* türlerinde de artmış dirençten bahsedilmektedir. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* gibi türlerde flukonazole karşı doğal yada kazanılmış direnç saptanmıştır (Arıkan, 2002). Bu nedenle ilaç seçiminde *Candida*'ların türünün belirlenmesi de önemlidir.

Çalışmamızda izole edilen *Candida* izolatlarının duyarlılık testi için Ketoconazole, Fluconazole, Miconazole, Amphoteracine B, Nystatin ve Flucytosine diskleri kullanılmıştır. Duyarlılık testi sonuçlarında; tüm izolatlar Ketoconazol'e duyarlı (%100) iken Fluconazole, Miconazole, Amphoteracine B ve Flucytosine (%100) dirençli oldukları bulunmuştur. Nystatin etken maddesine ise 2 adet *C. albicans* (%20) ve 1 adet *C. krusei* (%12,5) izolatı tam duyarlı iken diğer tüm izolatların ise orta düzey duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Tablo 5'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Araştırmamız sonuçlarında elde edilen dirençlilik tablosu yukarıda bildirilen duyarlılık/dirençlilik verileri ile uyumluluk göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızda Marmara bölgesi Tekirdağ ili ve ilçelerinden topladığımız 100 süt örneğinde *Candida* spp. lerin varlığı ve yoğunluğu araştırılmış, elde edilen *Candida* izolatlarının antifungal duyarlılık testleri yapılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar mikotik mastitislerin en önemli sebeplerinden olan *Candida* spp'lerin özellikle çalışma yaptığımız bölge gibi nemli bölgelerde %25 gibi oldukça yüksek yoğunlukta olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmadaki esas amacımız, mastitislerin sebeplerinden olan ve genellikle oportunistik patojen olarak tabir edilen *Candida* türlerinin tedavisinde her antimikotik ajanın başarılı olmadığını ve uzun süreli antibiyotik kullanılarak sonuç alınamayan mastitislerde mikotik mastitisin de varlığında göz önünde bulundurulması gerekliliğini ortaya koymaktır.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde; toplanan mastitisli sütlerde %25 gibi yüksek bir yüzdede bulunan *Candida* türlerinin hayvanın immun sistemin gücünde olası düşüşlerde gerek mastitise gerekse de sistemik Kandidiyazislere sebebiyet verebileceği ortaya konmuştur. Bununla birlikte elde edilen *Candida* spp. lere yapılan identifikasyon sonuçlarında 8 adet (%32) *C. krusei*, 5 adet (%20) *C. albicans*, 3'er adet (% 12) *C. boidinii*, *C. famata* ve *C. kefyr*, 2 adet (%8) *C. spherica* ve 1 adet de (%4) *C. thermophila* tespit edilmiştir.

İdentifiye edilen türlere antimikotik direnç yönünden yapılan testlerde elde edilen sonuçlarda ise bu tip vakalarda kullanılabilecek olan en geçerli etken maddenin Ketoconazole olduğu gösterilmiştir.

Elde edilen sonuçlar bir bütün içinde değerlendirecek olursa; Yetiştiricilikte sıklıkla karşılaşılan Mastitis olgularında öncelikle etkenin ortaya konulması ve etkene yönelik kullanılacak ilacın bir duyarlılık/dirençlilik testinden sonra seçilmesinin uygun olacağı düşünülmektedir. Bu konuda hem sahada çalışan Veteriner Hekimlerin hem de yetiştiricilerin bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışma aynı zamanda da ülkemizde yürütülen ender sayıdaki antifungal direnç gelişiminin ele alındığı çalışmalardan biri olarak literatüre de önemli katkı sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Aalbaek B, Stenderup J, Jensen HE, Valbak J, Nylin B, Huda A.** Mycotic and algal bovine mastitis in Denmark. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 1994, 102:451–6
- Abd El-Razik KA, Abdelrahman KA, Abd El-Moez SI, Danial EN.** New aproach in diagnosis and treetment of Bovine Mycotic Mastitis in Egypt. *Jonurnal of Microbiology Research* 2011, 5(31) pp:5725-5732
- Ahl AS, Gibson CD, Kirk JH, Kaneene JB, Ahl JG.** Cost of mastitis and its prevention in four dairy cattle herds on St. Croix, US Virgin Islands. *Food Animal Economics, Journal of American Veterinarian Medicine Association* 1989, 194 (10), 1418-1421. 1989
- Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O.** Sütçü İneklerin Subklinik Mastitislerinde Cefoperazone'un Etkisi Üzerinde Çalışma. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1986, 2: 65-74
- Alaçam E, Dinç DA, Erganiş O, Tekeli T, Uçan US.** Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde kuru dönemde antibiyotik uygulamalarının etkisi. *Journal of Veterinarian Animal Science* 1994, 18, 241-250
- Allore HG.** A review of the incidence of the mastitis in buffaloes and cows. *Pakistan Veterinary Journal* 1993, Vol.13, pp:1-7.
- Arda M, İstanbulluoğlu E.** Mastitislere neden olan aerob, anaerob ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili olan antibiyotik ve fungusitlerin saptanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1979, 26(3-4), 14-29
- Arda M, Mimabay A, Aydın N.** Özel Mikrobiyoloji. Birinci Baskı. A. Ü. Basımevi 1982, s 67 - 86
- Arıkan S.** Candida enfeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. *Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu* (21-22 Haziran 2002, Eskişehir) kongre kitabında. İstanbul, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti 2002, 161-166
- Asan A.** Tıpta önemli olan mantarların filogenetik ve sistematigi. *Türk İnfeksiyon Dergisi*, 2007 21, p. 21-31.
- Atasever S, Erdem H.** An investigation on the determination of mastitis risk levels and milk production traits in Holstein cows. *Journal of Applied Animal Research* 2008, 34: 13-16

- Awad FI, El Moll A, Fayed A, Abd el-Halim M, Refai M.** “Studies of mycotic mastitis in Egypt,” Journal of Egyptian Veterinary Medical Association 1980, vol. 40, no. 3, pp. 35– 41
- Aydın N.** Mastitis, çiftçi üretici yayınları 1989, no:288/23, Ankara
- Bademkiran S, Yeşilmen S, Gürbulak K.** Sütçü İneklerde Günlük sağım sayısının Klinik Mastitis ve Süt Verimi Üzerine Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2005, 16(2): 17-21
- Baştan A.** Mastitisten Korunmada Temel İlkeler. In: İneklerde Meme Hastalıkları. Hatipoğlu Basım ve Yayımlar Ltd.Şti. 2009, s:84-105.
- Baumgartner C, Freydiere A, Gille Y.** Direct identification and recognition of yeasts species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar Candida plates Journal of Clinical Microbiology 2003, 34:454-6
- Bayer AG.** Mastitis in Rind. 1986, Geschäftsbereich Veterinär Leverkusen.
- Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitapevi 1995, 2. Basım
- Blood DC, Henderson JA, Radostits OM.** Veterinary Medicine: A Textbook of The Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Horses. Bailliere Tindall, 1979, London
- Büyükcangaz E, Mat B, Khider M, Ahmed A.** Subklinik Mastitisli Sığır Sütlerinin Mikrobiyolojik Analizi ve İzolatların Antimikrobiyal Direnç Profili. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 31 2012, 2: 35-44
- Costa EO, Gandra CR, Pires MF, Coutinho SD, Teixeira CM.** Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the state of São Paulo, Brazil. Mycopathologia 1993, 124: 13–17
- Dongyou L.** Molecular Detection of Human Fungal Pathogens CRC PRESS Taylor and Fransis Group 2011, pp: 571
- Dos Santos R De Casia, Marin JM.** “Isolation of Candida spp. from mastitic bovine milk in Brazil,” Mycopathologia 2005, vol. 159, no. 2, pp. 251–253,
- Drouhet E.** Historical introduction: Evolution of the knowledge of fungi and mycoses from Hippocrates to the twenty-first century. Medical Mycology. Vol. 4. In Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections (9th edition). Arnold London, UK, 1998, pp. 1-20
- Dworecka-Kaszak B, Krutkiewicz A, Szopa D, Kleckowski M, Bieganska M.** High Prevalence of Candida Yeast in Milk Samples from Cows Suffering from Mastitis in Poland. The Scientific World Journal 2012, V:2012 Article ID: 196347 pp:1-5
- Edwards JE.** Candida Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R., (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Philadelphia, 2000, Churchill Livingstone: 2656-74
- Erer H, Ateş M, Kıran MM, Çiftçi MK, Kaya O.** İneklerde Mastitislerin Patolojik ve Bakteriyolojik İncelenmesi. Veteriner Bilimleri Dergisi 1996, 12: 123-133

- Galli G.** Observations and studies on bovine mycotic mastitis. *Veterinaria Italiana* 1954, 5: 587–604
- Gonzalez RN.** Prototheca, yeast and Bacillus mastitis. 35th Proceedings of the National Mastitis Council (U.S.). Nashville, Tennessee, USA, 1996, pp. 82—92
- Güneş İ, Kalkancı A, Kuştimur S.** Candida suşlarının tür düzeyinde tanımlanmasında üç farklı hazır kitin klasik yöntemlerle karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2001, 35, 559-564
- Hazen KC, Howell SA.** Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. In: *Manual of clinical microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, Tenover MC, eds 8th edition 2003, ASM Press: Washington DC:1693-711
- Harmon RJ.** Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science* 1994, 77, 7: 2103-2112.
- Hilmioğlu S.** Candida enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı: Klasik tanıda izlenecek yol ne olmalı? Candida Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2002, Eskişehir) kongre kitabı 2002, pp:121-124.
- Hui YH, Khachatourians GG.** Food Biotechnology: Microorganisms Wiley Inc. 1995, pp: 339- 341.
- İzgür H.** Mastitiste predispoze faktörler. I. Mastitis Semineri, Ankara, 1984, 17-29.
- Jain NC.** Common Mammary Pathogenes and factors in Infection and Mastitis. *Journal of Dairy Science* 1979, 62,1, 128-134
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN.** Medical Mycology. In: *Medical Microbiology*, 18th ed. Connecticut, Appleton and Lange 1989, pp:294-314
- Kaya O, Kırkan Ş, Güllal M, Ünal B.** Aydın yöresinde ineklerde klinik mastitise neden olan mikroorganizmaların saptanması ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının incelenmesi. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1999, 30, 25-29
- Kevin C, Howell H.** Candida, Cryptococcus and other yeasts of medical importance. *Manual of Clinical Microbiology* (8th. Ed.), 2003, Washington, 1693-1711.
- Kılıçoğlu Ç, Alaçam E.** Veteriner Doğum Bilgisi ve Üreme Organları Hastalıkları. Ankara Üniv. Basımevi, 1985, Ankara.
- Kirk JH, Bartlett PC.** Bovine mycotic mastitis. *Compend Food Animal* 1986, 8: 106–110
- Koç N.** Ülkemizde antifungal direnç. 3. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (27-30 Mayıs 2003) Kongre Kitabı, 2003, Bornova, 285-300.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC.** Mycology. 96 In: *Diagnostic Microbiology*, 5th ed. Philadelphia, 1997, Lippincott pp:983-1069

- Krukowski H, Tietze M, Majewski T, Rozanski P.** “Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland,” *Mycopathologia* 2001, vol. 150, no. 1, pp. 5–7
- Krukowski H.** Bovine Mycotic Mastitis. *Folia Veterinaria* 2003, 47, 1:3 – 7
- Krukowski H, Lisowski A, Ro’zan’ski P, Sko’rka A.** Yeasts and algae isolated from cows with mastitis in the Southeastern part of Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2006, 9:181–4.
- Kuştimur S.** Antifungal duyarlılık testleri In: Ustaçelebi Ş. ve ark. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (1th edition), Güneş kitabevi 1999, Ankara, 1159-1166
- Loftsgaard G, Lindquist K.** Bovine mycotic mastitis. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1960, 1: 201–220
- Lohan CB, Kalra DS, Chauran US.** Pathology and pathogenesis of experimental mycotic mastitis, I: *Cryptococcus neoformans* infection. *Aryana Agricultural University Journal Research* 1977 7: 67-72
- Larone DH.** Medically important fungi A Guide to Identification (5th ed.). 2011, Washington DC: ASM Press
- Maheshwari DK.** A Textbook of Microbiology, S.Chand and Company Ltd. 2008, pp:829
- McDonald JS.** Bovine Mastitis: Introductory Remarks. *Journal of Dairy Science*. 1979; 62,1, 117-118
- Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedman A, Leitner G, Saran A, Friedman S, Kashi YA.** PCR-Based Method for the Detection of *Streptococcus agalactiae* in Milk, *Journal of Dairy Science* 2002, 85, 1717-1723
- Milner P, Page KL, Hillerton JE.** The Effects of early antibiotic treatment following diagnosis of mastitis detected by a change in the electrical conductivity of milk. *Journal of Dairy Science* 1996, 80(5), 859-863.
- Merz WG, Hay RJ.** Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections Medical Mycology (10th ed.). 2005, London: Hodder Arrol ASM Press.
- Munson EL, Troy DR, Weber JK, Messer SA, Pfaller MA.** Presumptive identification of *Candida kefyr* on levine formulation of eosin methylene blue agar. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40(11), pp: 4281-4284.
- Nadaş GC, Nicodim FIT, Rapuntean G, Chirila F, Rapuntean S, Bolfa P, Bouari C.** The Sensibility to Antimycotics of Some *Candida* Spp. Strains Isolated from Humans and Animals. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 2011, 68(1) pISSN 1843-5270; eISSN 1843-5378

- National Mastitis Council.** Current concepts of bovine mastitis. Fourth Edition. 1996, NMC 2820 Walton Commons West Madison. WI 53704
- NCCLS.** Reference method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline M44-A (May 2004); National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004, Wayne, PA.
- Østeras O, Solverod L, Reksen O.** Milk culture results in a large norwegian survey-effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering milk culture results in a large Norwegian. Journal of Dairy Science 2006, 89: 1010-1023
- Özenç E, Vural MR, Şeker E, Uçar M.** An evaluation of subclinical mastitis during lactation in Anatolian buffaloes. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 2008, 32, 359-368.
- Richard JL, McDonald DVM, Fichtner RE, Anderson AJ.** Identification of yeasts from infected bovine mammary glands and their experimental infectivity in cattle. American Journal of Veterinary Research 1980, 12: 1991–1994
- Roberts GD, Horstmeier CD, Land GA, Foxworth JH.** Rapid Urea Broth Test for Yeasts. Journal of Clinical Microbiology 1978, 7(6), pp: 584-588.
- Rodriguez-Todella JL, Martinez-Suarez JV.** Improved medium for fluconazole susceptibility testing of *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1994,38:45-8,
- Santos RC, Marin M.** Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil. Mycopathologia 2005, 159: 251–253
- Spanambeg A, Jr. EA, Wunder DI, Pereira B, Argenta J, Sanchez EM.** Diversity of yeast from bovine mastitis in Southern Brazil. Revista Iberoamericana de Micología 2008, 25, 154-156
- Şeker E.** Identification of *Candida* Species Isolated from Bovine Mastitic Milk and Their In Vitro Hemolytic Activity in Western Turkey. Mycopathologia. 2010, 169:303–308
- Tarfarosh MA, Purohit SK.** Isolation of *Candida* spp. from Mastitic cows and Milkers. VetScan 2008, Vol 3 No 2. Pp: 14-15
- Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim Kaya NB.** Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. Fırat University Veterinary Journal of Health Sciences 2009, 23(2): 101-106

- Topçu Y.** Süt sığırcılığı işletmelerinde başarıyı etkileyen faktörlerin analizi: Erzurum ili örneği. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2008, 23, 17-24
- Tümbay E.** *Candida* türleri: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji (1th edition), Güneş kitabevi, Ankara 1999, 1082-1086.
- Uzun Ö.** Fungal Hastane Enfeksiyonlarında tedavi yaklaşımları. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 1998, 2, 156-163
- Viguiet C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R.** Mastitis detection. current trends and future perspectives. Trends in Biotechnology 2009, 27(8): 486-493
- Wawrow W, Bochniarz R, Dabrowski R.** Antifungal susceptibility of yeasts isolated from secretion of inflamed mammary glands in cows. Polish Journal of Veterinary Sciences 2010, Vol. 13, No. 3, pp:487-490
- Yeşilmen S, Özyurtlu N, Bademkiran S.** Diyarbakır Yöresinde Subklinik Mastitisli İneklerde Etken İzolasyonu ve Duyarlı Antibiyotiklerin Belirlenmesi, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2012: 1 (4):24-29

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : SÖNMEZ Mustafa
Uyruk : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum yeri ve tarihi : Gaziantep 01.09.1982
Telefon : 0 553 451 29 42
E-mail : mustafasnmz@yahoo.com.tr
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	---	---
Y. Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi	2007
Lisans	---	

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2008-2009	Aydoğdu Veteriner Kliniği	Vet. Hekim
2009-2016	Kara Kuvvetleri Komutanlığı	Veteriner Hek. Üst.

AKADEMİK YAYINLAR

1.MAKALELER

2. PROJELER

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler