

Koyunlarda Postpartum Dönemde Vaginal Svap Örneklerinden Bakteri İzolasyonu ve Antibiyogram

Ufuk Ülker¹, Mürşide Ayşe Demirel²

¹Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Deney Hayvanları Birimi, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AD, Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesi, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 11.09.2019, Kabul Tarihi / Accepted: 08.12.2019

Özet: Koyunlarda uterus, doğum sonrası mikroorganizmaların invazyonuna karşı diğer hayvan türlerine göre daha dayanıklı olup bakteriyel eliminasyon hızla gerçekleşebilmektedir. Uterusun bu özelliğine karşın koyunlarda güç doğum, doğuma yardım girişimleri, ölü doğum, enfeksiyon kaynaklı abortuslar, uterus prolapsusu ve doğum esnasında hijyenik olmayan çevresel koşullar postpartum uterus enfeksiyonları için birer predispoze faktör olmaktadır. Koyunlarda postpartum dönemde uterus enfeksiyonu ile ilişkili birçok aerob ve anaerob mikroorganizma izole edilebilmektedir. Araştırmamızda, postpartum 15-30. günlerde 40 adet koyunun vaginal svap örneklerinden izole edilen bakteri türleri ve bu bakterilere karşı duyarlı/dirençli antibiyotiklerin belirlenmesi amaçlandı. Steril şartlar altında alınan svap örnekleri soğuk zincir altında Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırıldı. Yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrası 27 örnekte *Escherichia coli* (%71,2), 6 örnekte *Staphylococcus equorum* (%15,7) ve 5 örnekte miks (*E. coli* ve *S. equorum*; %13,1) mikroorganizma izole ve tanımlanmış olup izolatların disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. Antibiyogram sonucuna göre *E. coli* etkeninin ampicilin, gentamisin, penisilin, streptomisin, sülfonamid, neomisin, trimetoprim/sülfametaksazol, linkomisin, spektinomisin, trimetoprim, enrofloksasin, nalidiksik asit ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı dirençli, dördüncü kuşak sefalosporin grubu seftazidime ise duyarlı olduğu görüldü. *S. equorum* izole edilen kültürlerde ise nalidiksik asit harici yukarıda bahsedilen antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu dikkati çekti. Koyunlarda postpartum dönemde vaginal mikroorganizma identifikasyonu ve doğru antibiyotik seçimi reproduksiyonun devamlılığı için oldukça önemlidir. Bu çalışma ile koyunlarda postpartum dönemde vaginal svap örneklerinde *S. equorum* izole edildiği ilk kez ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Antibiyogram, Koyun, *Staphylococcus equorum*, Uterus, Vaginal svap

Bacterial Isolation and Antibiogram from Vaginal Swap Samples during the Postpartum Period in Sheep

Abstract: The uterus in sheep is more resistant to invasion of microorganisms after parturition and bacterial elimination can occur rapidly compared to other animal species. In spite of this feature of the uterus, the distocia, assisted delivery, stillbirth or the infection-induced abortions, uterine prolapse and unhygienic environmental conditions are predisposing factor for development of postpartum uterine infections in sheep. Many aerobic and anaerobic microorganisms related to uterine infection can be isolated in the postpartum period in sheep. The aim of this study was to determine bacteria species isolated from vaginal swab samples of 40 sheep on between 15-30 days postpartum and antibiotic susceptibilities of these bacteria. Swab samples taken under sterile conditions were delivered to Etlik Veterinary Control Central Research Institute Microbiology Laboratory under cold chain. After microbiological analysis, *Escherichia coli* in 27 samples (71.2%), *Staphylococcus equorum* in 6 samples (15.7%), and both *E. coli* and *S. equorum* in 5 samples (13.1%) were isolated and identified. Antimicrobial susceptibility was determined by disc diffusion method. According to the antibiogram results, *E. coli* was resistant to antibiotics, including ampicillin, gentamicin, penicillin, streptomycin, sulphonamide, neomycin, trimetoprim/sulfamethoxazole, lincomycin, spectinomycin, trimetoprim, enrofloxacin, nalidixic acid, ciprofloxacin and susceptible to ceftazidime which is fourth generation cephalosporin group. It was noted that *S. equorum* was susceptible to other antibiotics mentioned above, except nalidixic acid. Identification of vaginal bacteria and appropriate antibiotic selection in postpartum period in sheep is very important for the continuity of reproduction. In the present study, *S. equorum* was isolated for the first time in vaginal swab specimens in the postpartum period in sheep.

Key words: Antibiogram, Sheep, *Staphylococcus equorum*, Uterus, Vaginal swap

Giriş

Çiftlik hayvanlarında reproduksiyon, hayvancılık işletmeleri için önemli bir unsurdur (LeBlanc 2008). Koyun yetiştiriciliği tüm dünya ülkelerinin ekonomisine çeşitli yönlerden katkı sağlamaktadır. Ancak ülkemizde koyunculuk işletmelerinde beklenen reproduktif performans hedeflerine ulaşamamakta ve bu bağlamda ciddi ekonomik kayıplar görülmektedir. Koyunlar mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar olup, gün ışığının azalmaya başladığı dönemde siklik aktivite gösterirler. Aşım sezonu olarak kabul edilen bu dönemde gebelik şekillenmediği sürece, sezon sonuna kadar östrus ve ovulasyon aktivitesi düzenli aralıklarla (ortalama olarak 17 günde bir) tekrarlanmaktadır (Gray 2003; Braun 2007). Koyunlarda reproduktif sürü sağlığında amaç, her yıl aşım sezonunda yavru elde edilebilmesidir. Mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar oldukları için koyunlarda postpartum ilk östrus ve ovulasyonun görülmesi doğum mevsimiyle ilişkilidir. Günlerin uzamaya başladığı dönemde doğum yapan koyunlarda postpartum anöstrus aralığı uzarken, üreme sezonunda doğum yapanlarda ovaryum aktivitesi devam eder ve gebelik görülebilir. Bu nedenle, üreme mevsimindeki puerperal dönem ile reproduktif performans yakın ilişkilidir (Gottshall ve Hansen 1992; Gray ve ark. 2002; Hayder ve Ali 2008). Koyunlarda doğum sonrası puerperal dönem uterusun involüsyonu, endometriyumun yenilenmesi, ovaryumlarda siklik aktivitenin yeniden başlaması ve bakteriyel kontaminasyonun eliminasyonu aşamalarından oluşur. Koyunlarda erken postpartum dönemde düşük progesteron seviyesi ile uterus bakteriyel invazyona karşı dayanıklı olabilmekte ve bu nedenle bakteriyel eliminasyon hızla gerçekleşebilmektedir. Ancak, güç doğum, doğuma yardım girişimleri, ölü doğum, enfeksiyon kaynaklı abortuslar, uterus prolapsusu ve doğum esnasında çevresel koşulların iyi olmaması gibi nedenler postpartum uterus enfeksiyonları için birer predispoze faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Regassa ve Noakes 1999; Mobini ve ark. 2002; Tzora ve ark. 2002; Aziz ve ark. 2017). Koyunlarda postpartum dönemde en sık izole edilen bakteriler uterus enfeksiyonu ile ilişkili *Trueperella pyogenes* ve *E. coli*'dir (Lewis 2003; Mshelia ve ark. 2014; Aziz ve ark. 2017). Postpartum dönemde uterus enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla genellikle penisilin

ve tetrasiklin grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda belirtilen antibiyotiklere karşı direnç geliştiği bildirilmiştir. Koyunlarda normal vaginal flora üreme mevsiminde feromon etkisi yaratarak verimliliğe katkı sağlamaktadır. Ancak reproduktif organlardaki bir enfeksiyona bağlı lokal ya da sistemik antibiyotik kullanımı normal vaginal floranın yapısının bozulmasına neden olabilmektedir. Böylece vaginal floranın bozulması ile birlikte feromonların özelliğinin yitirilmesine ve üreme verimliliğinin azalmasına yol açmaktadır (Hussain ve ark. 2013; Öziş Altınçekiç ve Koyuncu 2018). Bu çalışmanın amacı, postpartum dönemdeki koyunların vaginal svap örneklerinden izole edilen bakteri türlerinin ve antibiyogram sonuçlarının ortaya konulmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Materyali

Bu çalışmada materyal olarak, Ocak 2019 tarihinde Ankara'nın Haymana ilçesi Esenköy köyünde damızlık koyun yetiştiriciliği yapan yarı açık bir işletmeden seçilen, doğum ve sonrası sürece ilişkin herhangi bir sorun yaşamamış Merinos ırkı 40 adet koyunun postpartum 15-30. günleri arasında steril şartlar altında toplanan vaginal svap örnekleri kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 10 adet koyun 2 yaşlı (primipar), 15 adet koyun 3-5 yaş arası (multipar) ve 15 adet koyun 5 yaş üzeri (multipar) hayvanlardı.

Mikrobiyolojik Muayene

Vaginal svap örneği için; koyunlarda kontaminasyonu engellemek amacıyla vulva dudakları ve rima vulva antiseptikli solüsyon ile dezenfekte edildi. Daha sonra aralanan vulva dudakları arasından steril koşullar altında transport medyumlu tüplere alınan vaginal svap örnekleri soğuk zincirde Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırıldı. Elde edilen örneklerden bakteri izolasyonu ve identifikasyonu standart yöntemlerle yapıldı. Bu amaçla, bakteriyel türlerinin ilk izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla kanlı agar (%10 defibrine koyun kanı), Nutrient agar, Macconkey agar ve Nutrient broth kültür ortamları kullanıldı. Ekimi yapılan örnekler 37°C'de aerob ortamda 18-24 saat inkübe edildi. Belirtilen sürenin sonunda üreme görülmeyen kültürler 24

saat daha inkübasyona bırakıldı. Daha sonra mikroorganizma üreyen örneklerin identifikasyonları yapıldı. Üreyen kolonilerden saf kültür yapıp, biyokimyasal testleri uygulanarak (Vitek II'de) identifiye edildi. Ardından disk difüzyon test yöntemiyle antibiyotik duyarlılıkları tespit edildi

İzolatların ampisilin (10 µg), gentamisin (10 ug), penisilin G (10 µg), streptomisin (10 ug), sülfonamid (300 ug), neomisin (10 ug), trimetoprim-sulfametoksazol (25 ug), linkomisin (15 ug), spektinomisin (100 ug), trimetoprim (5 ug), seftazidim (30 ug), enrofloksasin (5 ug), nalidiksik asit (30 ug) ve siprofloksasin (5 ug) olmak üzere 14 antibiyotik diski kullanılarak dirençlilik/duyarlılık durumları değerlendirildi. Bu amaçla, "Clinical and Laboratory Standards Institute" tarafından önerilen standart disk difüzyon tekniği kullanıldı (Clinical and Laboratory Standards Institute 2013).

Bulgular

Mikrobiyolojik analizde 38 vaginal svap örneğinde bakteri izole edilirken, 2 svap örneğinde üreme olmadığı görüldü. Çalışma kapsamında, postpartum 15-30. günler arası 40 koyun vaginal svabından yapılan etken izolasyon oranı %95 olarak saptandı. İzole edilen bakteriyel etkenler 27 örnekte *E. coli* (%71,2), 6 örnekte *S. equorum* (%15,7) ve 5 örnekte miks (*E. coli* ve *S. equorum*; %13,1) kültür olarak belirlendi. Disk difüzyon test yöntemi ile yapılan antibiyogram sonucuna göre *E. coli* etkeninin ampisilin, gentamisin, penisilin, streptomisin, sülfonamid, neomisin, trimetoprim/sülfametoksazol, linkomisin, spektinomisin, trimetoprim, enrofloksasin, nalidiksik asit ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı dirençli, dördüncü kuşak sefalosporin grubu seftazidime ise duyarlı olduğu görüldü. *E. coli* suşları aynı işletmeden alındığı için tüm suşları aynı antibiyotik dirençliliği gösterdi. Ayrıca, *S. equorum* izole edilen kültürlerde nalidiksik asit harici yukarıda bahsedilen antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu belirlendi (Tablo 1). Antibiyogram sonucundan elde edilen verilere göre, *E. coli* 14 antibiyotik diskinden %7,14'üne, *S. equorum* ise %92,85'ine karşı duyarlılık göstermiştir.

Tablo 1. İzole edilen bakterilerin antibiyogram sonuçları

	Escherichia coli	Staphylococcus equorum
Ampisilin	Dirençli	Duyarlı
Gentamisin	Dirençli	Duyarlı
Penisilin	Dirençli	Duyarlı
Streptomisin	Dirençli	Duyarlı
Sülfonamid	Dirençli	Duyarlı
Neomisin	Dirençli	Duyarlı
Trimetoprim-Sulfametoksazol	Dirençli	Duyarlı
Linkomisin	Dirençli	Duyarlı
Spektinomisin	Dirençli	Orta Derecede Duyarlı
Trimetoprim	Dirençli	Duyarlı
Seftazidim	Duyarlı	Duyarlı
Enrofloksasin	Dirençli	Duyarlı
Nalidiksik asit	Dirençli	Dirençli
Siprofloksasin	Dirençli	Duyarlı

Tartışma ve Sonuç

Koyunlarda, normal veya güç doğum sırasında ve sonrasında oluşan negatif basınç etkisiyle veya doğuma yardım girişimlerinin ardından uterusun mikroorganizmalar tarafından kontamine olması sonucu postpartum uterus enfeksiyonları görülmektedir. Bu patojenik mikroorganizmaların uterus mukozasına yerleşmesi, epitel tabakaya kolonize olması ve toksin üretmesi ile uterus enfeksiyonu kaçınılmaz hale gelir. Çiftlik hayvancılığının önemli bir bölümünü oluşturan koyun yetiştiriciliğinde üreme verimi düşüklüğünün nedenleri çoğu kez ortaya konulamamaktadır. Postpartum dönemde görülen uterus enfeksiyonları önemli fertilitite kayıplarına neden olmaktadır. Uterus enfeksiyonlarında infertilitenin nedenleri, graaf folikülün gelişmemesi, ovulasyon bozukluğu ve uterusun yapısının bozulmasına bağlı embriyonik kayıplardır (Tzora ve ark. 2002; Lewis 2003; Braun 2007). Bu bağlamda, uterus enfeksiyonuna neden olan bakteri ya da bakterilerin ortaya konulması ve uygun tedavi protokolünün belirlenmesi koyunlarda fertilitenin devamlılığı açısından önem arz etmektedir.

Uterus enfeksiyonlarının temel nedeni doğum sonrası mikroorganizmaların asendan olarak ute-

rin kaviteye ulaşmasıdır. Koyunlarda erken postpartum dönemde *T. pyogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Streptococci* ve *Clostridium* türleri gibi birçok aerobik ve anaerobik bakteri identifiye edilse de genellikle *T. pyogenes* ve *E. coli* izole edildiği bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, uterus enfeksiyonlarında *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus uberis* ve *E. coli* gibi çevresel mikroorganizma kontaminasyonunun daha fazla sorumlu olduğu bildirilmiştir (Tzora ve ark. 2002; Lewis 2003; Aziz ve ark. 2017). Bu çalışmada ise, postpartum 15-30. günler arası alınan vaginal svap örneklerinden hem anaerob (%71,2 *E. coli*) ve aerob (%15,7 *S. equorum*) hem de miks (*E. coli* ve *S. equorum*; %13,1) bakteri izolasyonu olduğu dikkati çekti. Bu çalışmada, diğer araştırmacılardan farklı olarak postpartum dönemde koyun vaginal svap örneklerinde ilk kez *S. equorum* izole edildiği görülmüştür.

Koagulaz negatif Stafilokok ailesinden olan *S. equorum* hayvanlarda deri, deri bezleri ve mukoz membranlarda yerleşik olan bakterilerdir. Hayvanlarda *S. equorum* gibi koagulaz negatif Stafilokoklar normal floranın bir parçası olup düşük virülensli olarak kabul edilse de birçok enfeksiyonun etiolojisine dahil oldukları belirlenmiş ve antibiyotik direncine yönelik artan eğilimler gösteren önemli patojenler olarak tanımlanmışlardır. Koyun sütlerinden sıklıkla izole edilen bakteriler arasında olan *S. equorum* novobiasin dirençli koagulaz negatif Stafilokoklar olarak bilinmektedirler (Nováková ve ark. 2006). Bu bilgiler ışığı altında, Stafilokoklar arasında *S. aureus* dışında enterotoksin oluşturdugu bilinen *S. equorum*'un (Jeong ve ark. 2017) koyunlarda infertiliteye neden olabilecek bir patojenite oluşturabileceği düşünüldü.

Antibiyotikler birçok enfeksiyonun tedavisinde genellikle ampirik olarak başlanmaktadır. Bu amaçla kinolonlar, aminopenisilinler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, trimetoprim-sulfametoksazol, aminoglikozidler, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler sıklıkla tercih edilen antibiyotikler arasında yer almaktadır. Ancak bu antibiyotiklere karşı giderek direnç geliştiği bildirilmektedir. *E. coli* gibi gram negatif bakterilerin beta-laktam halkası içeren antibiyotiklere karşı direnci beta-laktamaz üretimi ile olmaktadır. Bununla birlikte, bakterinin kazanmış olduğu direnci olduk-

ça kolay bir şekilde diğer mikroorganizmalara yayabildiği de bilinmektedir. Ayrıca, meydana gelen antibiyotik dirençliliği, antibiyotik seçiminde ve tedavinin etkinliğinde de başarısızlığa yol açmaktadır (Hashemi ve ark. 2018; Pormohammad ve ark. 2019). Hayvancılık işletmelerinde uterus enfeksiyonlarına karşı mücadelede mikroorganizmaların izolasyonu ve tedavide etkin antibiyotik seçimi amacıyla antibiyogram yapılmasının önemli olduğu bilinmektedir. Postpartum uterus enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla tercih edilen antibiyotik seçiminde antibiyogramın bir diğer önemi de farklı bakteri türlerinde antimikrobiyal direnç gelişimini önlemektir (Quinn 1994). Bu çalışmamızdan elde edilen bulgular sonucunda, koyunlarda postpartum 15-30. günler arasında vaginal svap örneklerinde iki farklı mikroorganizma (*E. coli* ve *S. equorum*) izole edildiği ve bu mikroorganizmalara karşı farklı duyarlılık ve dirençlikte antibiyotik türleri olduğu dikkati çekmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile koyunlarda postpartum dönemde vaginal svap örneklerinde *S. equorum* izole edildiği ilk kez ortaya konulmuştur. Ayrıca postpartum uterus enfeksiyonlarının yönetiminde mikroorganizma izolasyonu ve bu mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal duyarlılık testinin yapılmasının önemi vurgulanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın mikrobiyolojik değerlendirmeleri aşamasına katkı sağlayan Uzm. Veteriner Hekim Selahattin ŞEN'e teşekkür ederiz. Araştırmada yalnızca vaginal svap örnekleri kullanıldığı için etik kurul izini gerektirmemektedir.

Kaynaklar

1. Öziş Altınçekiç Ş, Koyuncu M. (2018) Importance of Characterization of the Vaginal Microbiota in Ewes and Nannies. *J Anim Prod.* 59, 59-65. DOI: 10.29185/hayuretim.336009
2. Aziz ZS, Albukhaty S, Abbood H.K. (2017) Prevalence and antibiotic resistance pattern of certain types of bacterial flora in uterine ewe's samples. *Karbala Int J Mod Sci.* 3, 259-266. DOI: 10.1016/j.kijoms.2017.08.002
3. Braun JrW. (2007) Periparturient infection and structural abnormalities. Youngquist RS. eds. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Second Edition. Philadelphia, WB Saunders. p. 572-574
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013) Performance standards for antimicrobial susceptibility test-

- ing; twenty-third informational supplement M100-S23. Wayne, PA.
5. Gottshall SL, Hansen PJ. (1992) Regulation of leucocyte subpopulations in the sheep endometrium by progesterone. *Immunology*. 76, 636–641.
 6. Gray CA, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. (2002) Evidence that an absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout (UGKO) ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction*. 124, 289–300. DOI: 10.1530/rep.0.1240289
 7. Gray CA, Stewart MD, Johnson GA, Spencer TE. (2003) Postpartum uterine involution in sheep: histoarchitecture and changes in endometrial gene expression. *Reproduction*. 125, 185–198. DOI: 10.1530/rep.0.1250185
 8. Hashemi B, Abdollahi M, Rafiei A, Pormohammad A, Ahanjan M, Moghadaszadeh M, Rashidian S. (2018) The comparison of MAMA PCR and SSCP PCR to study chromosomal resistance against Ciprofloxacin and Nalidixic acid in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Pathog*. 120,181–186. DOI:10.1016/j.micpath.2018.05.005
 9. Hussain SO, Al-Zubaidi SF, Asofi M. (2013) Different Endometritis Treatments in Ewe: Comparative Study. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* 3, 91-94
 10. Hayder M, Ali A. (2008) Factors affecting the postpartum uterine involution and luteal function of sheep in the subtropics. *Small Ruminant Res*, 79, 174–178. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2008.07.023
 11. Jeong DW, Heo S, Ryu S, Blom J, Lee JH. (2017) Genomic insights into the virulence and salt tolerance of *Staphylococcus equorum*. *Sci Rep*. 7, 5383. DOI:10.1038/s41598-017-05918-5
 12. LeBlanc SJ. (2008) Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet J*. 176(1), 102-114. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.12.019.
 13. Lewis GS. (2003) Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod Biol Endocrinol*. 1, 117. DOI: 10.1186/1477-7827-1-117
 14. Mobini S, Heath AM, Pugh DG. (2002) Theriogenology of sheep and goats. Pugh DG. eds. *Sheep and Goat Medicine*. First Edition. Philadelphia, WB Saunders. p. 129-186.
 15. Mshelia GD, Bilal VT, Maina VA, Okon K, Mamza SA, Peter ID, Egwu GO. (2014) Microbiological studies on genital infections in slaughtered ewes from tropical arid zone of Nigeria. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 12, 18-22
 16. Nováková D, Sedláček I, Pantůček R, Stetina V, Svec P, Petrás P. (2006) *Staphylococcus equorum* and *Staphylococcus succinus* isolated from human clinical specimens. *J Med Microbiol*. 55, 523-528. DOI: 10.1099/jmm.0.46246-0
 17. Pormohammad A, Nasiri MJ, Azimi T. (2019) Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. *Infect Drug Resist*. 12, 1181–1197. DOI: 10.2147/IDR.S201324
 18. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. (1994) *Clinical Veterinary microbiology*. Mosby-Year Book Europe Limited. First Edition. London, England, p.920
 19. Regassa F, Noakes DE. (1999) Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. *Vet Rec*. 144, 502-506. DOI: 10.1136/vr.144.18.502
 20. Tzora A, Leontides LS, Amiridis GS, Manos G, Fthenakis GC. (2002) Bacteriological and epidemiological findings during examination of the uterine content of ewes with retention of fetal membranes. *Theriogenology*. 57,1809-1817. DOI: 10.1016/s0093-691x(02)00684-2