



## Düvelerde vajinal akıntılarının bakteriyolojik değerlendirilmesi

Elçin Günaydın<sup>1\*</sup>, Gülşen Goncagül<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu, Türkiye

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Mennan Pasinli Atçılık Meslek Yüksekokulu, Bursa, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 10.02.2022, Kabul Tarihi / Accepted: 17.03.2022

**Özet:** İneklerde reproduktif bozukluklar, üreme verimliliğinin azalmasının ana belirleyici faktördür. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de süt üretimindeki ekonomik kayıpların en önemli nedeni üreme sistemi enfeksiyonlarıdır. Enfeksiyon kaynaklı infertilitenin büyük bir bölümüne bakteriyel etkenler neden olur. Bu çalışma, 56 adet Holstein ırkı düvede 3 grup halinde yürütülmüştür. Grup I; bulanık ve irinli çara akıntısı olan 12 (%21.4) düve, Grup II; repeat breeder (döl tutmayan) 9 (%16,1) düve, Grup III; normal çara akıntısı görülen tohumlama yapılmamış 35 (% 62,5) düveden oluşmaktadır. Çalışma gruplarında düvelerin vajinasında kolonize olan bakterileri tespit etmek ve baskın bakteri gruplarında antibiyotik duyarlılığını belirlemek amaçlanmaktadır. Çalışma gruplarına dahil düvelerin vajinal akıntılardan 82 bakteri tespit edilmiştir. Yirmialtı (%31,7) *Escherichia coli* (*E. coli*), 10 (%12.2) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), 9 (% 11.1) *Streptococcus uberis* (*S. uberis*), 7 (%8,5) *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), 5 (%6,1) *Stenotrophomonas maltophilia* (*S. maltophilia*) ve 10 (% 30,4) farklı bakteri izole edilmiştir. İneklerde infertiliteye neden olan, *E. coli*, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. epidermidis* ve *S. maltophilia* etkenlerine karşı 8 antibiyotiğin duyarlılığı antibiyogramla incelenmiştir. Sonuç olarak, düvelerden izole edilen bakteriler gruplar arasında farklılık gösterse de en baskın etkenin *Escherichia coli* olduğu ve *Escherichia coli*'ye karşı gentamisin ve seftiofur'un %100 etki gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyogram, Bakteri, Düve, Reproduktif bozukluk.

### Bacteriological evaluation of vaginal discharges in heifers

**Abstract:** Reproductive disorders in cows are the main determinant of reduced reproductive efficiency. Reproductive system infections are the most important cause of economic losses in milk production in our country as in the world. Bacterial agents are responsible for most of the infection-induced infertility. This study was carried out in 3 groups of 56 Holstein heifers. The groups as follows; Group 1: 12 (21.4%) heifers with turbid and purulent cheries, Group II: repeat breeder (non-breeding) 9 (16.1%) heifers, Group III; 35 inseminated (62.5%) heifers with normal chervil discharge. It is aimed to detect the bacteria colonized the vagina of heifers in the study groups and to determine the antibiotic susceptibility in the dominant bacterial groups. Eighty-two bacteria were determined from the vaginal discharges of the heifers included in the study groups. Twenty-six (31.7%) *Escherichia coli*, 10 (12.2%) *Staphylococcus aureus*, 9 (11.1%) *Streptococcus uberis*, 7 (8.5%) *Staphylococcus epidermidis*, 5 (6.1%) *Stenotrophomonas maltophilia*, and 10 (30.4%) different bacteria were isolated. Susceptibility of 8 antibiotics against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Stenotrophomonas maltophilia* causing fertility in cows, were examined by antibiogram. As a result, although the bacteria isolated from heifers differed among the groups, it was determined that *Escherichia coli* was the most dominant bacteria and gentamicin and ceftiofur exhibited 100% antibacterial effect against *Escherichia coli*.

**Keywords:** Antibiogram, Bacteria, Heifer, Reproductive disorder.

### Giriş

Üreme sistemi problemleri ve infertilite, süt ineği yetiştiriciliğinin ekonomik kayıp oluşturan problemlerinin başında gelmektedir (LeBlanc ve ark., 2002; Amiridis ve ark., 2003). Üreme sistemi mikrobiyal kompozisyonunun üreme sisteminin sağlığı ve infertiliteyle ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Penna ve ark., 2013). Sağlıklı ineklerin vajinal mukozasına kolonize olan yerel mikrobiyota; Gram pozitif koklar, basiller, Enterobacteriaceae dahil aerobik, fakültatif anaero-

bik ve zorunlu anaerobik mikroorganizmaların bir kombinasyonundan oluşan dengeli ve dinamik bir ekosistemdir.

Bu mikrobiyotayı oluşturan sistem; fizyolojik, immünolojik, beslenme, hormonal değişim ve tedavi gibi faktörlerle değişebilmektedir (Nader ve Otero, 2009). Bu değişimlere bağlı olarak, patojenik bakterilerin, üreme sistemi enfeksiyonlarının patojenezinde de rolü birçok çalışmada ortaya konmuştur

(Sheldon ve ark., 2002; Sheldon ve Dobson, 2004; Williams ve ark., 2005; Santos ve ark., 2010). Patojenik bakteriler, özellikle anovulasyona aracılık ederek, gelişmekte olan oositlerin döllenenmesini önlemekte veya normal gelişmeyi engelleyerek doğurganlığı olumsuz etkilemektedirler (Gilbert, 2019). Hatta görünüşte sağlıklı cinsel organı olan, üç veya daha fazla tohumlamada gebe kalamayan ancak normal kızgınlık döngüleri sergileyen (Repeat Breeder) bir düvede bile spesifik olmayan enfeksiyöz ajanlar tarafından oluşturulan enfeksiyon kaynaklı üreme sistemi sorunları oluşabilmektedir (Sharma ve ark., 1988; Singh ve ark., 1996; Arun ve Umesh, 2009; Bhat ve ark., 2014). Etiyolojik olarak multifaktöriyel etiyojisi olan repeat breeder olgularında patojenik veya non-patojenik bakteriler; özellikle uterus yangılanmalarına buna bağlı olarak endometriumda histolojik değişikliklere, yumurta kanalının tıkanmasına neden olmaktadır. Böylece spermatozoonun taşınmasında olumsuzluklar oluşmakta veya spermin bakteriyel toksinlerle ölümüyle fertilizasyon etkilenmektedir (El-Khadrawy ve ark., 2011; Bhat ve ark., 2014). Yerel mikrobiyotanın çoğalmasından kaynaklanan bölgesel eritem, prulent vajinal akıntı ile üreme sisteminin homeostazının bozulması sonucu üreme performansının büyük ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Sheldon ve ark., 2006; Martins ve ark., 2009).

Vajinal mikrobiyal kompozisyon, hem hayvanlarda hem de kadınlarda üreme sistemi sağlığı ve doğurganlıkla ilişkilendirilip, geniş çapta çalışılmıştır (Vitali ve ark., 2012; Penna ark., 2013; Lorenzen ve ark., 2015). İnfertilitenin etiyolojik ajanları olarak bakterilerin önemi bilinmektedir. Normalde sağlıklı ineklerin vajinasında bakteri florası vardır ancak bakteri popülasyonu savunma mekanizması tarafından sınırlar içinde tutulur. Üreme sistemi içerisinde en yaygın izole edilen bakteriler koliform grubu özellikle *E. coli*, Gram pozitif koklar, esas olarak *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp.'dir (Sargison ve ark., 2007). Bu ajanlar vajina ve serviksten veya kan dolaşımıyla uterusu ulaşılarak enfeksiyon kaynağı olabilirler (Sheldon ve Owens, 2018; Helfrich ve ark., 2020).

Bu çalışmanın amacı, üreme problemi olan ve sağlıklı düvelerin vajinal akıntılarında bakteriyel popülasyondaki değişiklikleri belirlemek ve izole edilen dominant bakteri gruplarında antibiyotik duyarlılığını belirlemektir.

## Gereç Yöntem

### Çalışma grupları

Bu çalışmada, Orta Karadeniz Bölgesi'nde 56 Holstein ırkı düve klinik gözlemler sonrasında gruplara ayrılarak incelenmiştir. Grup1; bulanık ve irinli çara akıntısı olan 12 düve (%21,4), Grup 2; repeat breeder 9 (%16,1) düve, Grup 3; normal çara akıntısı görülen tohumlama yapılmamış 35 (% 62,5) düve olmak üzere 3 çalışma grubu oluşturuldu.

### Vajinal Örnekleme

Düvelerden örnekleme yapılmadan önce, kontaminasyonu engellemek için kuyruk yukarı kaldırılıp, dış genital bölgede vulva dudakları ve rima vulva benzalkonyum hidroklorür (Zefirolum®, Kimpa, İstanbul) ile temizlendi. Ardından steril bir havlu ile kurulandı. Sonra aralanan vulva dudakları arasından aynı kişi tarafından vajinanın arka kısmından steril sürüntü ile örnekler alındı. Alınan sürüntü örnekleri Fluid Thioglycollate Medium (BBL; 221196) bulunan tüpler içerisine alınarak soğuk koşullar altında laboratuvara ulaştırıldı.

### Bakteriyolojik Muayene

Fluid Thioglycollate Medium (BBL; 221196) içerisinde bulunan sürüntü örnekleri 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra EMB agarda (Eosin-Methylenblue-Laktöz-Sakaroz, BBL; 221355) ve kanlı agarda (BBL; 297876) izolasyon çalışması gerçekleştirildi. Genel bakteriyolojik incelemeler için, agarlar aerobik koşullarda, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen koloniler, koloni morfolojisi ve Gram boyama özelliklerine göre değerlendirildi. Bakteriyel izolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen saf kültürlerin identifikasyonu, BBL kristal (Becton-Dickinson, Sparks, USA) Gram pozitif ve Gram negatif ID sistem kitleri ve bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi.

### Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antimikrobiyal duyarlılık, Mueller Hinton Agar kullanılarak, disk difüzyon yöntemiyle test edildi. Antibiyogramda kullanılan antibiyotik diskleri; penicillin (P) (10U; Oxoid), eritromisin (E) (30µg; Oxoid), amoksisilin/klavulonikasin (AMC) (30µg, Oxoid), gentamisin (CN) (10µg; Oxoid), tetrasiklin (TE) (30µg; Oxoid), seftiofur (EFT) (30µg; Oxoid), enrofloksasin (ENR) (5µg; Oxoid), sulfometoksazol/trimetoprim (SXT) (25 µg; Oxoid)'dir. Antibiyotik duyarlılık testi, her bir bakteri için, Mueller Hinton agar (Oxoid®; 0337) besiyeri yüzeyine 0,5 McFarland düzeyinde bakteri süs-

pansiyonu yayıldıktan sonra ilgili 8 antibiyotik diski 2 petri kabına paylaştırılarak disk diffüzyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Bu çalışmada test edilen suşlar, inhibisyon zon çapına göre dirençli (R) , orta duyarlı (I) ve duyarlı(S) olarak kaydedildi (CLSI, 2015).

## Bulgular

Çalışma gruplarından Grup1-3'de toplanan örneklerden bakteri izolasyonu şu şekildedir: Bulanık ve irinli çara akıntısı olan 12 (Grup I) düvenin tamamında *E. coli* (%100), 6 düvede *S. uberis* (%50), 8 düvede *S. aureus* (%66.66), 2 düvede *S. maltophilia* (%16,66) izole edildi. Bu grupta yer alan 12 düve içerisinde mix kültür şeklinde *Acinetobacter iwoffii*, (*A. iwoffii*), *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) izole edildi.

Repeat breeder 9 (Grup II) düvenin, 8'sinde *E. coli* (%88,88), 5'inde *S. epidermidis* (%55,55), 4'ünde *S. maltophilia* (%44,44) izole edildi. Dokuz repeat breeder düveden üstte bulunan etkenlerle birlikte miks kültür olarak, 3'ünde *S. uberis*, *K. oxytoca*, *P. multocida* (%33,33), 2'sinde *S. aureus*, *A. iwoffii*, *Corynebacterium pseudomonastuberculosis* (*C. pseudomonastuberculosis*), *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) (%22,22) izole edildi.

Normal çara akıntısı görülen tohumlama yapılmamış 35 (Grup III) düvenin ise; 6'sında *E. coli* (%17,14), 4'ünde *Bacillus megaterium* (*B. megaterium*), 2'sinde *Morganella morganii* (*M. morganii*) ve *Sphingomonas paucimobilis* (*S. paucimobilis*) 1'inde ise *S. epidermidis* izole edildi.

Çalışmaya dahil edilen gruplardan alınan numunelerde, Grup I ve Grup II'nin %100'ünde, Grup III'te ise, 12 düvede %34,28 bakteriyolojik üreme saptandı. Tüm gruplarda izole edilen bakteriler Tablo 1'de listelendi.

Antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda, *S. aureus*'ta test edilen 8 antibiyotikten penisilin ve tetrasikline karşı göze çarpan bir direnç (%100) saptandı (Tablo 2). Çalışmamızda dominant izolat olarak saptanan *E. coli*'nin (%31,7) test edilen antibiyotiklere karşı duyarlılık profili; gentamisin ve seftiofur (%100), amoksisilin/klavulonikasıit (%96,2), eritromisin, enrofloksasin ve sulfometoksazol/trimetoprim (%92,31), tetrasiklin (% 88,46) olarak belirlendi. *S. uberis* izolatları penisiline, amoksisilin/klavulonikasıite, seftiofura ve sulfometoksazol/trimetoprim (%100) duyarlı bulundu. *S. epidermidis* izolatlarının sadece seftiofura dirençli, diğer 7 antibiyotikten 4'üne %100 duyarlı olduğu belirlendi. *S. maltophilia* izolatlarının ise test edilen 8 antibiyotikten hiçbirine duyarlı olmadığı saptandı (Tablo 2).

**Tablo 1.** Düvelerin vajinasında kolonize olan bakteriler.

Bakteriler	İzolasyon sayısı	İzolasyon oranı (%)
<i>Escherichia coli</i>	26	31,7
<i>Streptococcus uberis</i>	9	11,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	12,2
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	3	3,7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	4,9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6	7,3
<i>Corynebacterium pseudomonastuberculosis</i>	2	2,4
<i>Bacillus megaterium</i>	4	4,9
<i>Morganella morganii</i>	2	2,4
<i>Pasteurella multocida</i>	4	4,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	8,5
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	2,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	2,4
<b>TOPLAM</b>	<b>82</b>	<b>100</b>

**Tablo 2.** Antibiyogram sonuçları.

İzole Edilen Bakteri İsimleri ve Sayısı	ANTİBİYOTİK							
	P	E	AMC	CN	TE	EFT	ENR	SXT
<i>E.coli</i> (n=26)	+	24	25	26	23	26	24	24
	¥	4	2	1	3		2	2
	Ø	22						
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=10)	+	8		10		10	7	9
	¥	2	10				3	1
	Ø	10			10			
<i>Streptococcus uberis</i> (n=9)	+	9	9		2	9	8	9
	¥		2		1	3		1
	Ø		7		8	4		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=7)	+	7	6	7	7		7	4
	¥		1			7		2
	Ø						1	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (n=5)	+	4	3	1			4	3
	¥	1	2	3	2	1		5
	Ø			1	3	4	1	1

+: Duyarlı, ¥: Orta Duyarlı, Ø: Dirençli, P: Penisillin E: Eritromisin AMC: Amoksisilin/Klavulonikası, CN: Gentamisin, TE: Tetrasiklin, EFT: Seftiofur, ENR: Enrofloksasin, SXT: Sulfometoksazol/Trimetoprim

## Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda, kültür temelli çalışmalarla sağlıklı ve metritisli ineklerin uterus mikrobiyotasının ayrıntılı olarak tanımlandığı çalışmalar mevcut olsa da vajinal akıntılarında inflamasyon derecesine göre farklılık olan ineklerin vajinal mikrobiyota konsorsiyumuyla ilgili çok az çalışmaya rastlanmıştır. Bildiğimiz kadarıyla, östrus ile senkronize edilmiş ineklerde bakteriyel vajinal toplulukların kompozisyonunu analiz etmek için kültürden bağımsız teknikleri kullanan mevcut hiçbir çalışma bulunmamaktadır (Santos ve ark., 2011; Machado ve ark., 2012; Wang ve ark., 2013; Wang ve ark., 2016). Günümüzde reproduktif hastalıkların mikrobiyal popülasyonla ilgili olduğu, kolonize olan mikrobiyotanın normal şartlarda zararsız olmasına karşın, travma veya eş zamanlı enfeksiyonlarla, mikrobiyotanın çoğalması hatta potansiyel patojenlere dönüşmesi söz konusudur (Martins ve ark., 2009). İneklerin üreme kanalında yaşayan aerobik, fakültatif-anaerobik ve anaerobik mikroorganizmaların, üreme fonksiyonuna etkileri hakkında bilgi yeterli değildir (Otero ve ark., 2000). Çalışma gruplarımızı içeren düvelerde bakteri izolasyonu ve izolasyon sıklığıyla ilgili ülkemizde yapılan

herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız ile 3 farklı grupta yer alan düvelerin vajinal mikrobiyotasının ana bileşenleri ortaya konulmuştur.

Reproduktif kanal bakteriyolojisi üzerine yapılmış diğer çalışmalara benzer şekilde bizim çalışma gruplarımızda da izole edilen dominant bakteri *E.coli* bulunmuştur (Otero ve ark., 2000; Williams ve ark., 2005; LeBlanc ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2017). *E. coli* sağlıklı düvelerde üreme sisteminin normal mikrobiyotası içinde tanımlansa da, birçok çalışmada endometritisin oluşumunda rol aldığı bildirilmiştir (Silva ve ark., 2009; Bicalho ve ark., 2010; Sheldon ve ark., 2010; Kasse' ve ark., 2016). Özellikle *E. coli*'nin *pap*, *sfa*, *hlyA*, *cnF1* ve *fim* gibi üropatojenik virülans faktörleri ile ürogenital sistemin epitel hücrelerine adheze olması, biofilm oluşumu, flagella aracılı hareketliliği, ekzotoksinleri gibi önemli virülans faktörlerinden dolayı üreme sistemi enfeksiyon kaynağı olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2003; Williams ve ark., 2005; Arora, 2007; Sheldon ve ark., 2010; Sheldon, 2015). Aynı zamanda *fimH* geni *E.coli*'nin ineklerde genital bölgeye adhezyonunu sağlayarak uterus enfeksiyonlarının daha şiddetli seyretmesine yol açmaktadır. *fimH* geninin, konakçı dokuların epitel hücrelerine adhezyon, istila ve biyofilm oluşumu

ile ilişkili bir Tip 1 pili olduğu vurgulanmıştır (Bien ve ark., 2012; de Cássia ve ark., 2019). Çalışmamızda da vajinal flora içerisinde belirlediğimiz *E.coli*'nin, düvelerde doğum sonrası uterus enfeksiyonuna kaynak oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (Wang ve ark., 2013). Gilbert ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, ürogenital sistemde *E.coli* varlığının, süt ineklerinde gebe kalamama, tohumlama sayısının artması ve metritis gibi üreme yetersizliği arasında bir bağlantı olduğunu vurgulamışlardır.

Bazı araştırmacıların çalışmalarında ortaya koyduğu gibi *S. aureus*'un da üreme sistemi enfeksiyonlarında baskın patojenler arasında yer aldığı bildirilmektedir (Földi ve ark., 2006; Williams ve ark., 2007; Galvão, 2018). Çalışmamızda da *S.aureus*'un (%12,2) tüm gruplarda *E.coli*'den sonra ikinci baskın izolat olduğu belirlendi. *S. aureus*, kan dolaşımı enfeksiyonları, pnömoni ve cerrahi alan enfeksiyonları dahil olmak üzere sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların başlıca ajanıdır. Mukoza epitel yüzeylerine kolonize olması nedeniyle konağın endojen florasının patojen kaynağı olarak da bildirilmektedir (Ringberg ve ark., 2006; Beigi ve Hanrahan, 2007; Anderson ve ark., 2013). İneklerin vaginal mikrobiyotası üzerine yapılan benzer çalışmalarda da *Staphylococcus* spp'nin yaygın olduğu rapor edilmiştir (Rocha ve ark., 2004; Gani ve ark., 2008). Gani ve ark. (2008) yaptıkları araştırmada, özellikle ineklerin vajinal mikrobiyotasıyla ilişkili olarak uterus enfeksiyonlarında da *Staphylococcus* spp. ve *E. coli*'yi predominant etkenler olarak bulmuş ve bu etkenlerin uterus enfeksiyonuyla ilişkilerinin olduğunu vurgulamışlardır.

Vulva ve vajina mukozasındaki baskın enterobakteriler gastrointestinal sistem kökenlidir ve dokular içine enflamatuvar hücrelerin hareketine ve enfeksiyöz süreçlere neden olan invazif özelliklere sahiptirler. Bunlar dışında, vulva ve vajina mukozasında *S. aureus*'un yaygın mevcudiyeti muhtemelen deri ve mukoz membran mikroflorasının bir üyesi olması kaynaklıdır (Silva ve ark., 2011).

Husted (2005), sığır vajinitisine neden olan bakterilerin yanı sıra klinik olarak sağlıklı sığır vajinasından izole edilen bakterilerin belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada, vajinitis bulgusu saptananlarda %4, vajinitis olmayanlarda ise %2 oranında *S. uberis* izole ettiğini bildirmiştir. Araştırmamızda aynı etken, sırasıyla Grup I ve Grup II'de sırasıyla %50 ve %33 oranlarında tespit edilirken, Grup III'de ise hiç izole edilmemiştir. Genital sistem problemleri sığır vakaları üzerine yapılmış çalışmada, *S. uberis*'in sığır genital yolunda özellikle vajina ve serviksin daha derin kısmına kolonize olduğunu bildirmişlerdir (Khan, 2002). Etken, sıklıkla ve fazla sayıda *S. uberis* mas-

tisinin meydana geldiği dönem olan doğumdan hemen önce ve doğumdan hemen sonra izole edilmiştir (Reinoso ve ark., 2011; Pérez -Ibarreche ve ark., 2021).

Manickam ve ark. (2019) sağlıklı görünen koyunların vajina svaplarından ikinci dominant bakteri olarak *S. epidermidis* (%52,63) izole etmişlerdir. Yine Al-Zubaidi (2015) yaptığı çalışmada, ineklerin genital sisteminin farklı bölgelerinde bakteri dağılımını incelediğinde vajinadan izole edilen 19 bakterinin, %15,79'unun *S. epidermidis* olduğunu rapor etmiştir. Çalışmamızda gruplar arasında *S. epidermidis* en fazla repeat breeder (Grup II)'dan izole edilmiştir. Mastitiste izole edilen en yaygın koagülaz negatif stafilokok türlerinden olan *S. epidermidis* fırsatçı mikroflora içerisinde yer almaktadır (Taponen ve ark., 2006).

Son 20 yılda, ciddi fırsatçı enfeksiyonlara neden olan bir bakteri de *S. maltophilia* olarak öne çıkmıştır (Enoch ve ark., 2007; Looney ve ark., 2009). Hayvan kaynaklı *S. maltophilia* hakkındaki literatürler insan kaynaklı olanlara göre çok daha azdır. Çünkü hayvanlarda nadiren önemli bir patojen olarak bildirilmiştir (Johnson ve ark., 2003). Çalışmamızda Grup I ve Grup II de sırasıyla, %16,66 ve % 44,44 oranında izole edilmiştir. *S. maltophilia* izolasyonu, bakterinin izolasyon başarısını arttıran seçici besiyeri olmadığı için, rutin veteriner tanı laboratuvarlarında muhtemelen teşhisinin yapılmasında yetersiz kaldığı ön görülmektedir (Kerr ve ark., 1996). Bottone ve ark. (1994), *S. maltophilia*'nın virulens özellikleri olan DNase, RNase, fibrinolisin, lipazlar, hyaluronidaz, proteaz ve elastaz gibi bazı ekstraselüler enzimlerin enfeksiyon oluşumunda etkin olduğunu savunmuşlardır. Bir diğer patojenite faktörü, sentetik materyale yapışabilme yeteneğidir. Bu yeteneği ile biyofilm oluşturur. Böylece konak immün defansına ve farklı antimikrobiyal ajanlara karşı doğal olarak korunmaktadır (Bottone ve ark., 1986; Jucker ve ark., 1996; Dignani ve ark., 2003; De Oliveira-Garcia ve ark., 2003; Di Bonaventura ve ark., 2004).

Çalışmamızda sekiz farklı antimikrobiyal ajana karşı disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık ve direnç kalıpları incelenmiştir. Seftiofur duyarlılığı; *E.coli*, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. epidermidis*'te %100, *S. maltophilia*'da ise %80 oranında saptanmıştır. Drillich ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada, *E. coli*'de seftiofur duyarlılığını çalışmamıza benzer olarak %100 bulurken, aynı izolatin tetrasikline duyarlılığını ise %50 olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise tetrasiklin duyarlılığı *E. coli*'de %88,46 gibi oldukça yüksek oranda bulunmuştur. Ukrayna'da Elias ve ark. (2020)'nin yaptıkları çalışmada seftiofur

duyarlılığı *E.coli* ve *S. aureus* izolatlarında sırasıyla, %22 ve %17 bulunmuştur. Geniş spektrumlu sefalosporinlerin bölgesel olarak sınırsız kullanımı ile bu durum açıklanmıştır (Ali ve ark., 2017; Iakovlieva ve Bahlai, 2019).

Yapılan çalışmalarda tetrasiklinin *E.coli* ve *S. aureus* üzerinde duyarlılığının çalışmamıza benzer olarak %50 üzerinde olduğunu rapor edilmiştir (Drillich ve ark., 2001; Berhilevych ve ark., 2017; Elias ve ark., 2020). *E. coli* izolatlarında tetrasiklin ve analoglarına karşı yaygın direnç mekanizması, akış pompası işleminden sorumlu proteinin sentezini kodlayan *tetA* geni sebeplidir (Ozgumus ve ark., 2007; Raheel ve ark., 2020).

Moges ve ark. (2013)'nin yaptığı çalışmada, *S. aureus* ve *E.coli*'nin gentamisin duyarlılığı değerlendirildiğinde, çalışmamızla aynı oranda (%100) *S. aureus*'un gentamisine duyarlılık gösterdiği, *E. coli*'nin ise %60 oranında gentamisin duyarlılığı sergilemesiyle bizim çalışmamızdaki orandan (%100) düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda yer alan tüm gruplarda olduğu gibi, ürogenital sistem bakteriyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda da, bakteri izolatları ve oranları değişmekle birlikte enterik orijinli *E.coli*'nin dominant izolat olduğu görülmektedir. Aynı zamanda, etkili antimikrobiyal ajanlar, bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç nedeniyle farklılıklar göstermektedir. Araştırmamızda tüm gruplarda vajinal akıntıdan alınan örneklerde tespit edilen izolatların genital sistem enfeksiyonuna yol açabilecek izolatlar olmaları nedeniyle bu izolatlarla doğru antimikrobiyal ajanların seçimi ile uterus enfeksiyonlarının daha etkin bir şekilde engellenerek, ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği düşüncesindeyiz.

**Deney hayvanları kullanımı etik kurulu ve diğer etik kurul kararları ve izinler:**15.02.2014 Tarih ve 28914 Sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" 'in 8. maddesinin k fıkrası gereği ;dışkı veya altlık toplama örneği, sürüntü ile örnek alma, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun(HAY-DEK) iznine tabi değildir.

## Kaynaklar

Al-Zubaidi SF. (2015) Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from the genital system of cows in Al-Hilla, Iraq. *Malays J Vet Res.*6 (1), 53-59.

Ali T, Rahman SU, Zhang L, Shahid M, Han D, Gao J, Zhang S, Ruegg PL, Saddique U, Han B. (2017) Characteristics and genetic diversity of multi-drug resistant extended-spectrum

beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *Oncotarget.* 8, 90144-90163.

Amiridis GS, Fthenakis GC, Dafopoulos J, Papanikolaou T, Mavrogianni VS. (2003) Use of cefquinome for prevention and treatment of bovine endometritis. *J Vet Pharmacol Ther.* 26(5), 387-390.

Anderson MJ, Scholz MT, Parks PJ, Peterson ML. (2013) Ex vivo porcine vaginal mucosal model of infection for determining effectiveness and toxicity of antiseptics. *J Appl Microbiol.* 115(3), 679-688.

Arora N. (2007) Role of uropathogenic virulence factors in the pathogenesis of *E. coli*-induced cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex in the bitch. PhD thesis, University of Melbourne, Australia.

Arun K, Umesh S. (2009) Fertility status of Hariana cows. *Indian Vet J.* 86(8), 807-809.

Beigi R, Hanrahan J. (2007) *Staphylococcus aureus* and MRSA colonization rates among gravidas admitted to labor and delivery: a pilot study. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2007, 70876.

Berhilevych OM, Kasianchuk VV, Kukhtyn MD, Lotskin IM, Garkavenko TO, Shubin PA. (2017) Characteristics of antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy farms in Ukraine. *Regul Mech Biosyst.* 8(4), 559-563.

Bhat FA, Bhattacharyya HK, Syed Akram Hussain SA. (2014) White side test: a simple and rapid test for evaluation of nonspecific bacterial genital infections of repeat breeding cattle. *Vet Res Forum.* 5, 177-180.

Bicalho RC, Machado VS, Bicalho MLS, Gilbert RO, Teixeira AGV, Caixeta LS, Pereira RV V. (2010) Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine *Escherichia coli*. *J Dairy Sci.* 93(12), 5818-5830.

Bien J, Sokolova O, Bozko P. (2012) Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *Int J Nephrol.* 2012, 681473.

Bottone EJ, Pere AA, Gordon RE, Qureshi MN. (1994) Differential binding capacity and internalisation of bacterial substrates as factors in growth rate of *Acanthamoeba* spp. *J Med Microbiol.* 40(2), 148-154.

Bottone EJ, Reitano M, Janda JM, Troy K, Cuttner J. (1986) *Pseudomonas maltophilia* exoenzyme activity as correlate in pathogenesis of ecthyma gangrenosum. *J Clin Microbiol.* 24(6), 995-997.

Chen YM, Wright PJ, Lee CS, Browning GF. (2003) Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Vet Microbiol.* 94(1), 57-69.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. M100-S25. CLSI, 35.

de Cássia BL, Oba E, Bicudo SD, da Silva LD, Siqueira AK, de Souza MMM, Nogueira M, de Figueiredo PJC, Listoni FJP, Ribeiro MG. (2019) Virulence factors and phylogenetic group profile of uterine *Escherichia coli* in early postpartum of high-producing dairy cows. *Anim Prod Sci.* 59, 1898-1905.

De Oliveira-Garcia D, Dall'Agnol M, Rosales M, Azzuz AC, Alcántara N, Martinez MB, Girón JA. (2003) Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. *Cell Microbiol.* 5(9), 625-636.

Di Bonaventura G, Spedicato I, D'Antonio D, Robuffo I, Piccolomini R. (2004) Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(1), 151-160.

- Dignani MC, Graziutti M, Anaissie E. (2003) *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Semin Respir Crit Care Med.* 24(01), 89-98.
- Drillich M, Beetz O, Pfützner A, Sabin M, Sabin HJ, Kutzer P, Nattermann H, Heuwieser W. (2001) Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 84(9), 2010-2017.
- Elias L, Balasubramanyam AS, Ayshpur OY, Mushtuk IU, Sheremet NO, Gumeniuk VV, Musser J, Rogovskyy AS. (2020) Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, and *Escherichia coli* Isolated from Mastitic Dairy Cattle in Ukraine. *Antibiotics.* 9(8), 469.
- El-Khadrawy HH, Ahmed WM, Hanafi M. (2011) Observations on repeat breeding in farm animals with emphasis on its control. *J Reprod Infertil.* 2(1), 1-7.
- Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. (2007) Non-fermentative Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 29, 33-41.
- Földi J, Kulcsar M, Peci A, Huyghe B, De Sa C, Lohuis JA, Cox P, Huszenicza G. (2006) Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci.* 96(3-4), 265-281.
- Galvão KN. (2018) Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Anim Reprod.* 9(3), 290-296.
- Gani MO, Amin MM, Alam MG, Kayesh ME, Karim MR, Samad MA, Islam MR. (2008) Bacterial flora associated with repeat breeding and uterine infections in dairy cows. *Bangladesh J Vet Med.* 6(1), 79-86.
- Gilbert RO. (2019) Symposium review: Mechanisms of disruption of fertility by infectious diseases of the reproductive tract. *J Dairy Sci.* 102(4), 3754-3765.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 64(9), 1879-1888.
- Helfrich AL, Reichenbach HD, Meyerholz MM, Schoon HA, Arnold GJ, Fröhlich T, Weber F, Zerbe H. (2020) Novel sampling procedure to characterize bovine subclinical endometritis by uterine secretions and tissue. *Theriogenology.* 141, 186-196.
- Husted JR. (2005) Bacterial and fungal organisms in the vagina of normal cows and cows with vaginitis. Doctoral dissertation, Texas A and M University, USA.
- Iakovlieva L, Bahlai T. (2019) B-lactam antibiotics in Ukraine: market and consumption analysis in 2013–2018. *SR Pharm Sci.* (2), 16-21.
- Johnson EH, Al-Busaidy R, Hameed MS. (2003) An outbreak of lymphadenitis associated with *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* in Omani goats. *J Vet Med Series B.* 50(2), 102-104.
- Jucker BA, Harms H, Zehnder AJ. (1996) Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *J Bacteriol.* 178(18), 5472-5479.
- Kassé FN, Fairbrother JM, Dubuc J. (2016) Relationship between *Escherichia coli* virulence factors and postpartum metritis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 99(6), 4656-4667.
- Kerr KG, Denton M, Todd N, Corps CM, Kumari P, Hawkey PM. (1996) A new selective differential medium for isolation of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 15(7), 607-610.
- Khan IU. (2002) Identification and Further Characterization of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* Isolated from Bovine Milk Samples. Faculty of Veterinary Medicine Justus-Liebig-University, Giessen, Germany.
- LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. (2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 85(9), 2223-2236.
- LeBlanc SJ, Osawa T, Dubuc J. (2011) Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 76(9), 1610-1618.
- Looney WJ, Narita M, Mühlemann K. (2009) *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infect Dis.* 9(5), 312-323.
- Lorenzen E, Kudirkiene E, Gutman N, Grossi AB, Agerholm JS, Erneholt K, Skytte C, Dalgaard MD, Bojesen AM. (2015) The vaginal microbiome is stable in prepubertal and sexually mature Ellegaard Göttingen Minipigs throughout an estrous cycle. *Vet Res.* 46(1), 1-13.
- Machado VS, Oikonomou G, Bicalho ML, Knauer WA, Gilbert R, Bicalho RC. (2012) Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomic pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Vet Microbiol.* 159(3-4), 460-469.
- Manickam R, T Reetha L, Puvarajan B. (2019) Isolation and identification of bacterial species from vagina of apparently healthy ewes. *Int J Sci Environ Technol.* 8(5), 1017-1022.
- Martins G, Figueira L, Penna B, Brandão F, Varges R, Vasconcelos C, Lilienbaum W. (2009) Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progesterin-impregnated intravaginal sponges. *Small Rumin Res.* 81(2-3), 182-184.
- Moges N, Regassa F, Yilma T, Unakal CG. (2013) Isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria from dairy cows with clinical endometritis. *J Reprod Infertil.* 4(1), 4-8.
- Nader-Macias ME, Otero MC. (2009) Lactic Acid Bacteria as probiotic on the prevention of reproductive diseases. In: Probiotics: Production, Evaluation and Uses in Animal Feed ed. Guerra, N.P. and Castro, Kerala, India: Research Signpost. L.P. pp. 119-174.
- Otero C, Saavedra L, Silva de Ruiz C, Wilde O, Holgado AR, Nader-Macias ME. (2000) Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Lett Appl Microbiol.* 31(3), 251-254.
- Ozgunmus OB, Celik-Sevim E, Alpay-Karaoglu S, Sandalli C, Sevim A. (2007) Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. *J Microbiol.* 45(5), 379-387.
- Penna B, Libonati H, Director A, Sarzedas AC, Martins G, Brandão FZ, Fonseca J, Lilienbaum W. (2013) Progesterin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Anim Reprod Sci.* 142(1-2), 71-74.
- Pérez-Ibarreche M, Field D, Ross RP, Hill C. (2021) A Bioengineered Nisin Derivative to Control Biofilms of *Streptococcus uberis*. *Appl Environ Microbiol.* ,87(16), e0039121.
- Reinosa EB, Lasagno MC, Dieser SA, Odierno LM. (2011) Distribution of virulence-associated genes in *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis. *FEMS Microbiol Lett.* 318(2), 183-188.
- Ringberg H, Cathrine Petersson A, Walder M, Hugo Johansson PJ. (2006) The throat: an important site for MRSA colonization. *Scand J Infect Dis.* 38(10), 888-893.
- Rocha AA, Gambarini ML, Andrade MA, Oliveira Filho BD, Gomes FA. (2004) Cervico-vaginal microbiota around the parturition time. *Cienc Anim Bras.* 5(4), 215-220.
- Raheel IAER, Hassan WH, Salem SSR, Salam HSH. (2020) Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine

- endometritis and their antibiotic resistance profiles. *J Adv Vet Anim.* 7(3), 442.
- Santos TMA, Gilbert RO, Bicalho RC. (2011) Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *J Dairy Sci.* 94(1), 291-302.
- Santos TMA, Gilbert RO, Caixeta L S, Machado VS, Teixeira LM, Bicalho RC. (2010) Susceptibility of *Escherichia coli* isolated from uteri of postpartum dairy cows to antibiotic and environmental bacteriophages. Part II: In vitro antimicrobial activity evaluation of a bacteriophage cocktail and several antibiotics. *J Dairy Sci.* 93(1), 105-114.
- Sargison ND, Howie F, Mearns R, Penny CD, Foster G. (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* as a perennial cause of abortion in a closed flock of Suffolk ewes. *Vet Rec.* 160(25), 875.
- Sharma RN, Singh B K, Sharma MP. (1988) Bacteriological studies on the cervical mucus of repeat breeding crossbred cattle, their treatment and conception rate. *Indian J Anim Reprod.* 9(2), 105-109.
- Sharma A, Singh M, Kumar P, Sharma A, Kashyap A, Neelam IB, Sharma A, Chaudhary N, Sharma P. (2017) Bacterial isolation, culture sensitivity test, endometrial cytology of postpartum cows and assessment of their reproductive performance. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 6(9), 519-527.
- Sheldon IM. (2015) Genes and environmental factors that influence disease resistance to microbes in the female reproductive tract of dairy cattle. *Reprod Fertil Dev.* 27(1), 72-81.
- Sheldon IM, Dobson H. (2004) Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 82, 295-306.
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology.* 65(8), 1516-1530.
- Sheldon IM, Owens SE. (2018) Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. *Anim. Reprod.* 14(3), 622-629.
- Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. (2002) Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction.* 123(6), 837-845.
- Sheldon IM, Rycroft AN, Dogan B, Craven M, Bromfield JJ, Chandler A, Roberts MH, Price SB, Gilbert RO, Simpson KW. (2010) Specific strains of *Escherichia coli* are pathogenic for the endometrium of cattle and cause pelvic inflammatory disease in cattle and mice. *PLoS one.* 5(2), e9192.
- Silva VF, Damasceno TE, Souza NJ, Franco I, Costa MM. (2011) Cervical-vaginal microbiota of crossbred sheep in Petrolina/PE, Brazil, and its susceptibility to antibiotics. *Pesqui Vet Bras.* 31(7), 586-590.
- Silva E, Leitão S, Tenreiro T, Pomba C, Nunes T, da Costa L L, Mateus L. (2009) Genomic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates recovered from the uterus of puerperal dairy cows. *J Dairy Sci.* 92(12), 6000-6010.
- Singh NP, Chaturvedi VK, Singh DP. (1996) Bacteriological studies on repeat breeder bovines. *Indian Vet J.* 73(4), 462-463.
- Taponen S, Simojoki H, Haveri M, Larsen HD, Pyörälä S. (2006) Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Vet Microbiol.* 115(1-3), 199-207.
- Vitali B, Cruciani F, Baldassarre ME, Capursi T, Spisni E, Valerii MC, Candela M, Turrone S, Brigidi P. (2012) Dietary supplementation with probiotics during late pregnancy: outcome on vaginal microbiota and cytokine secretion. *BMC Microbiol.* 12(1), 1-14.
- Wang Y, Ametaj BN, Ambrose DJ, Gänzle MG. (2013) Characterisation of the bacterial microbiota of the vagina of dairy cows and isolation of pediocin-producing *Pediococcus acidilactici*. *BMC Microbiol.* 13(1), 1-11.
- Wang J, Sun C, Liu C, Yang Y, Lu W. (2016) Comparison of vaginal microbial community structure in healthy and endometritis dairy cows by PCR-DGGE and real-time PCR. *Anaerobe.* 38, 1-6.
- Williams EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GC, Rycroft A, Dobson H, Sheldon IM. (2007) The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology.* 68(4), 549-559.
- Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. (2005) Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology.* 63(1), 102-117.