

Koyunlarda intravajinal sünger uygulamasına bağlı vajinitis olgularından izole edilen aerobik bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları

Osman Yaşar TEL

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Şanlıurfa, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 29.12.2010, Kabul Tarihi / Accepted: 22.03.2011

Özet: Bu çalışmada, intravajinal sünger uygulamaları sonrası vajinitis oluşan koyunlardan, aerobik bakterilerin izolasyonu, identifikasyonu ve izole edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılıklarının saptanması amaçlandı. Çalışmada, bakteriyel vajinitis enfeksiyonlarından, 18 (%42.85) *Escherichia coli*, 15 (%35.71) *Bacillus* spp., 2 (%4.76) *Klebsiella pneumoniae*, 4 (%9.52) *Corynebacterium* spp., 1 (%2.38) *Pseudomonas aureginosa* ve 2 (%4.76) *Staphylococcus aureus* izole ve tanımlendi. İzole edilen etkenlerin yapılan antibiyogramları sonucunda ampisilin, penisilin, eritromisin ve amoksisiline yüksek oranda dirençli ve gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, sefuroksim, nalidiksik asit, norfloksasin, tetrasiklin ve streptomisine ise duyarlı oldukları belirlendi. Sonuç olarak, sünger uygulamalarından sonra yaygın olarak gelişen vajinitis enfeksiyonlarından *E.coli* ve *Bacillus* spp. etkenlerinin yüksek oranda izole edildiği, izole edilen etkenlerin ampisilin, penisilin, eritromisin ve amoksisiline dirençli olduğu, kullanılan diğer antibiyotiklere karşı genel olarak duyarlı oldukları kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Aerobik bakteri, antibiyotik duyarlılığı, intravajinal sünger, koyun, vajinitis.

Aerobic bacteria and their antibiotic susceptibility of sheep with vaginitis due to intravaginal sponges application

Summary: The aim of this study, was to isolate, identify aerobic bacteria and determine antibiotic susceptibility of isolated agents in sheep with vaginitis due to intravaginal sponges application. In the study, 18 (42.85%) *Escherichia coli*, 15 (35.71%) *Bacillus* spp., 2 (4.76%) *Klebsiella pneumoniae*, 4 (9.52%) *Corynebacterium* spp., 1 (2.38%) *Pseudomonas aureginosa* and 2 (4.76%) *Staphylococcus aureus* were isolated and identified from bacterial vaginitis infections. As a result of antibiotic susceptibility; the agents are highly resistant against ampicillin, penicillin, erythromycin, amoxicillin, and sensitive to gentamicin, trimethoprim-sulphamethoxazole, cefuroxime, nalidixic acid, norfloxacin, tetracycline and streptomycin. As a result, *E.coli* and *Bacillus* spp. were highly isolated from vaginitis infections due to intravaginal sponges applications. It has been concluded that isolated agents were resistant to ampicillin, penicillin, erythromycin and amoxicillin and in general, sensitive to other antibiotics.

Key words: Aerobic bacteria, antibiotics susceptibility, intravaginal sponge, sheep, vaginitis.

Giriş

Koyunlarda, progestagen emdirilmiş intravajinal sünger uygulamaları östrus senkronizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (6). Ancak, intravajinal sünger uygulamalarına bağlı olarak vajinitis oluşabileceği de bildirilmektedir (4,13). Vajinitis olgularında, vajinada eritem, purulent ve kokuşmuş vajinal akıntı, bol miktarda vajinal lökosit görülmekte ve vajinal bakteri sayısında artış şekillenmektedir (7). Koyunlarda anormal vajinal akıntının, yüksek oranda infertil ovum, embriyo gelişiminde bozukluk ve döl tutma oranının düşmesine sebep olduğu bildirilmektedir (12).

Evcil ruminantlarda vajinitis olgularına genellikle fırsatçı bakteriler neden olmaktadır (11). Koli-

formlar, üreme kanalında bulunan fırsatçı patojenler olup, bakteriyel vajinal flora değişikliğine neden olan durumlarda baskın duruma geçerler (5). Vajinitise neden olan bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları farklılık göstermektedir. Vajinitis oluşturan bakteri türlerini ve onların antibiyotiklere olan duyarlılıklarını belirlemek, vajinitisin kontrolü açısından önem taşımaktadır (11). Buna karşın, vajinitis oluşturan bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları konusunda yapılan araştırmalar sınırlı sayıdadır.

Bu çalışmada, vajinal sünger uygulamalarından sonra oluşan vajinitis enfeksiyonlarında aerobik bakterilerin izolasyonu, identifikasyonu ve izole edilen etkenlerin antibiyotiklere olan duyarlılıklarını saptamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada intravajinal sünger (Chronogest, Intervet, International B.V., Netherlands) uygulanan toplam 50 merinos koyun kullanıldı. Sünger uygulaması öncesinde spekulum ile yapılan vajinal muayenede koyunların hiçbirinde klinik olarak bozukluk görülmedi. İntravajinal süngerler, çıkarıldığında, 50 koyunun 35 (%70)'inde klinik olarak vajinitis görüldü. Klinik muayenede, vajinada purulent akıntı ve çeşitli derecelerde eritem gözlemlendi. Süngerlerin uzaklaştırılmasının hemen ardından steril svaplar kullanılarak vajinal duvara temas etmeden örnekler toplandı. Svaplar stuart transport besiyeri içerisinde soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara getirildi ve %7'lik koyun kanlı agara ekimleri gerçekleştirildi. Besiyerleri, 37 °C'de aerobik olarak 24-48 saat inkubasyona bırakıldı.

İnkubasyon sonucunda besiyerinde üreyen bakterilerin, koloni morfolojileri, hemoliz özellikleri, Gram boyanma, Triple Sugar Iron Agar, sitrat, üre, Metil-Red, Voges-Proskauer, nitrat, koagulaz, oksidaz, katalaz, indol gibi biyokimyasal testleri ve Mc Conkey agarda üreme gibi özellikleri incelenerek standart metotlara göre identifikasyonları yapıldı (3, 10).

Antibiyotik Duyarlılıkları: İzole edilen etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıkları Kirby Bauer Disk Diffüzyon Metodu ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre yapıldı (1,8). Antibiyotik duyarlılık testinde, gentamisin (10 µg), sefuroksim (30 µg), eritromisin (15 µg), amoksisilin (25 µg), ampisilin (10 µg), penisilin G (10 u), norfloksasin (10 µg), tetrasiklin (30 µg), streptomisin (10 µg), nalidiksik asit (30 µg) ve trimetoprim-sulfametoksazol (25 µg) (tamamı oxoid) olmak üzere toplam 11 farklı antibiyotik diski kullanıldı.

Bulgular

Çalışma sonucunda, vajinitis oluşan koyunlardan, 18 (%42,85) *E.coli*, 15 (%35,71) *Bacillus* spp., 2 (%4,76) *K.pneumonia*, 4 (%9,52) *Corynebacterium* spp., 1 (%2,38) *P.aureginosa* ve 2 (%4,76) *S.aureus* izole ve identifiye edildi (Tablo 1).

Bütün örneklerden genel olarak saf bakteriyel üreme görülürken, 5 örnekte *Bacillus* spp. + *E.coli*, 1 örnekte *E.coli* + *S.aureus*, 2 örnekte *E.coli* + *Corynebacterium* spp. ve 1 örnekte *S.aureus* + *Bacillus* spp miks olarak üredi. Birden fazla koloninin ürediği durumlarda en yaygın koloni tipine antibiyotik duyarlılık testi uygulandı.

Tablo 1. Koyun vajinal svaplarından izole edilen bakteriler ve oranları.

İdentifiye Edilen Bakteriler	İdentifikasyon Sayısı	İdentifikasyon Yüzde Oranı (%)
<i>E.coli</i>	18	42.85
<i>Bacillus</i> spp	15	35.71
<i>K.pneumonia</i>	2	4.76
<i>Corynebacterium</i> spp	4	9.52
<i>P.aureginosa</i>	1	2.38
<i>S.aureus</i>	2	4.76
Toplam	42	100

Yapılan antibiyogram testleri sonucunda etkenlerin ampisilin, penisilin eritromisin ve amoksisiline yüksek oranda dirençli oldukları görüldü. Penisilin, ampisilin, eritromycine ve amoksisiline *E.coli* suşları sırasıyla %94, %94, %76, %47 oranlarında, *Bacillus* spp. suşları sırasıyla, %100, %100, %83, %41,6 oranlarında dirençli olarak saptandı. *P.aureginosa*, *Corynebacterium* spp. ve *K.pneumoniae*'nin bu

antibiyotiklere karşı dirençli olduğu saptanırken, *S.aureus*'un bu antibiyotiklerden sadece ampisilin ve penisiline dirençli olduğu belirlendi. Etkenlerin diğer antibiyotiklere karşı (gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, sefuroksim, nalidiksik asit, norfloksasin, tetrasiklin ve streptomisin) duyarlı olduğu saptandı (Tablo 2).

Tablo 2. Vajinitis olgularından identifiye edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları.

Bakteriler	G	C	E	AMX	AMP	PEN	N	NA	T	TS	S
	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N	R/N
<i>E.coli</i>	1/17	0/17	13/17	8/17	16/17	16/17	1/17	2/17	3/17	1/17	3/17
<i>S.aureus</i>	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>K.pneumonia</i>	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	1/2	0/2	1/2
<i>Bacillus</i> spp	0/12	0/12	10/12	5/12	12/12	12/12	0/12	1/12	1/12	0/12	2/12
<i>Corynebacterium</i> spp.	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
<i>P.aureginosa</i>	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1

G-gentamisin, C-sefuroksim, E-eritromisin, AMX-amoksisilin, AMP-ampisilin, PEN-penisilin, N-norfloksasin, NA-nalidiksik asit, T-tetrasiklin, TS- trimetoprim-sulfametoksazol, S-streptomisin, R/N: Antibiyotiklere dirençli bakteri sayısı/Antibiyogramı yapılan bakteri sayısı.

Tartışma ve Sonuç

Koyunlarda östrus senkronizasyonu amacıyla intravajinal sünger uygulamaları sonucunda, lokal bir yangı oluşumuyla birlikte vajinal bakterilerin sayısında önemli bir artış şekillenebilmektedir (7). Vajinada sünger bulunmasının, yabancı cisim etkisi yaparak lokal mukus sekresyonunu artırdığı bildirilmektedir (13).

Ruminantların yaygın genital kanal hastalığı olan vajinitis, sekonder bakteriyel etkenler ve özellikle de *E.coli* tarafından oluşturulmaktadır (5). İnvajinal sünger uygulamalarının fırsatçı bakteri oranını artırdığı ve vajinitis için predispozisyon oluşturduğu bildirilmiştir (4, 11). Martins ve ark. (5), sünger uygulaması sonucu oluşan vajinitis infeksiyonlarından izole ettikleri 22 izolatın 20'sini koliform (16 *E.coli* ve 4 *K.pneumoniae*), 4'ünü de *S.aureus* olarak identifiye etmişlerdir. Manes ve ark. (4), intravajinal sünger uygulamalarından önce vajinal bakteriyel floranın çoğunlukla (%90) gram pozitif (*Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp.) bakterilerden oluştuğunu, intravajinal süngerlerin çıkarılmasından sonra ise floranın, %79'unun Gram negatif özellikle *Enterobacteriaceae* (*E.coli*) familyası bakteriler tarafından ve %21'ininde Gram pozitif bakteriler tarafından oluşturulduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda da yüksek oranda koliform bakterilerin izole edilmesi ve izole edilen diğer bakteri türleri, Martins ve ark. (5)'nin bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Sünger uygulamaları sonucunda gelişen vajinitis olaylarının bazıları kendiliğinden iyileşme gösterirken, iyileşmeyen olgularda antibiyotik tedavisi gerekmektedir (13). Martins ve ark. (5), yaptıkları

çalışmada, koyun vajinitislerinden izole ettikleri etkenlerin en az bir antibiyotiğe olmak üzere antibiyotiklere genel olarak dirençli olduklarını saptamışlardır. Çalışmada, koliform bakterilerde penisilin direnci yaygın olarak görülmüş ve ampisilin %95, amoxicilin %80, tetrasiklin %85, gentamisin %70 ve cefalotine %70 oranında direnç bildirilmiştir. Ayrıca etkenlerin ciprofloxacacin ve trimetoprim-sulfametoksazole %100 duyarlı olduğu belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar, izole ettikleri iki *S.aureus* suşunun ise sadece penisiline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Suarez ve ark. (13), yaptıkları çalışmada, koyun vajinitislerinden izole ettikleri etkenleri amoksisilin ve ampisiline karşı dirençli bulurken cephalotin ve gentamisine karşı direnç saptamamışlardır. Guerra ve ark. (2), keçilerde gentamisinin intravajinal lokal uygulamalarının vajinal infeksiyonları önlemede etkili olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, vajinitis olgularından izole edilen etkenlerin yapılan antibiyogramı sonucunda, clindamycin, eritromisin, penisilin ve vankomisinin diğer antibiyotiklere göre daha dirençli olduğu bildirilmiştir (9). Bu sonuçlar, yapılan çalışmada elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir. Penisilin grubunda görülen yüksek direncin, bu grup antibiyotiklerin yaygın kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, sünger uygulamalarından sonra yaygın olarak gelişen vajinitis infeksiyonlarından genellikle *E.coli* ve *Bacillus* spp. sorumlu olduğu, izole edilen etkenlerin özellikle ampisilin, penisilin eritromisin ve amoksisiline dirençli, kullanılan diğer antibiyotiklere genel olarak duyarlı oldukları kanısına varılmıştır. Elde edilen sonuçların, etkili reproduktif kontrol programlarının oluşturulmasında yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. **Bauer AU, Kirby WM, Sherris JC, Tack M**, (1966). *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method*. J Clin Pathol. 45, 493-494.
2. **Guerra, MMP, Mota RA, Mergulhao FCC, Lima RF, Souza AF, Melo EH, Silva KPC, Soares PC**, (2002). *Study of the microbial flora and evaluation of the effectiveness of Gentocin (R) 40mg in the prevention of vaginal infection in dairy goats submitted to estrous synchronization*. A Hora Vet. 22, 13-17.
3. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC**, (1997). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Fifth edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. p: 211-765.
4. **Manes J, Fiorentino MA, Kaiser G, Hozbor F, Alberio R, Sanchez E, Paolicchi F**, (2010). *Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes*. Small Rumin Res. 94, 201-204.
5. **Martins G, Figueira L, Penna B, Brandao F, Varges R, Vasconcelos C, Lilenbaum W**, (2009). *Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges*. Small Rumin Res. 81, 182-184.
6. **Menchaca A, Rubianes E**, (2004). *New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants*. Reprod Fert Develop. 16, 403-413.
7. **Motlomelo KC, Greyling JPC, Schwalbach LMJ**, (2002). *Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments*. Small Rumin Res. 45, 45-49.
8. **National Committee for Clinical Laboratory Standards** (2004). *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; informational supplement*. M31-S1. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
9. **Özyurtlu N, Yeşilmen S, Küçükaslan İ**, (2008). *The effectiveness of using antibiotic with intravaginal sponge and duration of sponge treatments on the vaginal flora and fertility in anestrus ewes*. J Anim Vet Adv. 7(6), 723-727.
10. **Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR**, (1999). *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publication, London, UK.
11. **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, 875-876.
12. **Scudamore CL**, (1988). *Intravaginal sponge insertion technique*. Vet Rec. 123, 554.
13. **Suarez G, Zunino P, Carol H, Ungerfeld R**, (2006). *Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes*. Small Rumin. Res. 63, 39-43.