

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**ENDOMETRİTİSLİ İNEKLERDEN PATOJEN  
MİKROORGANİZMALARIN MALDI-TOF MS İLE  
İDENTİFİKASYONU VE İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

**BURAK PALALIOĞLU**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Şükrü KIRKAN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-23027 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2024**

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Yiğit SEFEROĞLU'na ve tüm Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için eşime/aileme ayrıca teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

|                                                                                                    |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY .....                                                                                | i    |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                     | ii   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                  | iii  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                               | v    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                              | vi   |
| RESİMLER DİZİNİ .....                                                                              | vii  |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                              | viii |
| ÖZET .....                                                                                         | ix   |
| ABSTRACT .....                                                                                     | x    |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                     | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                            | 2    |
| 2.1. Endometritisin Tanımı .....                                                                   | 2    |
| 2.2. Endometritisin Etiyolojisi.....                                                               | 2    |
| 2.3. Endometritisin Patogenezi.....                                                                | 4    |
| 2.4. Süt İneklerinin Genital Sistem Mikrobiyotası.....                                             | 5    |
| 2.4.1. Vajinal Mikrobiyota.....                                                                    | 6    |
| 2.4.2. Servikal Mikrobiyota.....                                                                   | 7    |
| 2.4.3. Uterus Mikrobiyotası.....                                                                   | 8    |
| 2.5. Klinik ve Subklinik Endometritisin Süt İneklerinin Uterus Mikrobiyotası Üzerine Etkileri..... | 10   |
| 2.5.1. Uterus Mikrobiyotasının Bakteriyel Çeşitliliği.....                                         | 11   |
| 2.5.2. Uterus Mikrobiyotasında Endometritis ile İlişkili Değişiklikler.....                        | 13   |
| 2.5.3. Sağlıklı ve Endometritisli İneklerde Bakteriyel Kompozisyon.....                            | 14   |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                       | 16 |
| 3.1. Gereç .....                                               | 16 |
| 3.1.1. Örnekleme.....                                          | 16 |
| 3.1.2. Kullanılan Solüsyonlar, Besiyerleri.....                | 16 |
| 3.1.2.1. Gram boyama.....                                      | 16 |
| 3.1.2.2. Besiyerleri.....                                      | 16 |
| 3.1.2.2.1. Blood Agar.....                                     | 16 |
| 3.1.2.2.2. Mac Conkey Agar.....                                | 17 |
| 3.1.2.2.3. Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar..... | 17 |
| 3.1.2.2.4. Brucella Agar... ..                                 | 17 |
| 3.1.2.2.5. Tryptic Soy Agar.....                               | 18 |
| 3.1.2.2.6. Mueller Hinton Agar No.2.....                       | 18 |
| 3.1.2.2.7. Brain Heart Infusion Broth.....                     | 18 |
| 3.1.3. VITEK MS Slayt ve Solüsyonları.....                     | 18 |
| 3.1.4. Kullanılan Antibiyotik Diskleri.....                    | 18 |
| 3.2. Yöntem.....                                               | 18 |
| 4. BULGULAR .....                                              | 21 |
| 4.1. MALDI TOF MS Sonuçları .....                              | 21 |
| 4.2. Antibiyogram Sonuçları.....                               | 25 |
| 5. TARTIŞMA .....                                              | 28 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                     | 31 |
| KAYNAKLAR .....                                                | 32 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI .....                                     | 41 |
| ÖZ GEÇMİŞ .....                                                | 42 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|            |                                |
|------------|--------------------------------|
| <b>CE</b>  | : Klinik Endometritis          |
| <b>CF</b>  | : Klinik Doğum Öncesi          |
| <b>CG</b>  | : Klinik Gebelik               |
| <b>CP</b>  | : Klinik Doğum Sonrası         |
| <b>OTU</b> | : Operasyonel Taksonomik Ünite |
| <b>SCE</b> | : Subklinik Endometritis       |
| <b>VDS</b> | : Vaginal Discharge Score      |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                  |                                                                                                                 |    |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.</b>  | Üreme sisteminin çeşitli bölümlerinin mikrobiyotası.....                                                        | 5  |
| <b>Şekil 2.</b>  | Uterus lümeninden izole edilen bakteriyel etkenlerin sınıflandırılması.....                                     | 9  |
| <b>Şekil 3.</b>  | Üreme sisteminde olası mikrobiyota kaynakları.....                                                              | 10 |
| <b>Şekil 4.</b>  | Uterus mikrobiyotasının sağlıklı, klinik ve subklinik endometristisli hayvanlarda yapısal karşılaştırması ..... | 12 |
| <b>Şekil 5.</b>  | İneklerde yüksek oranda tespit edilen 40 bakteri cinsinin ortalama yoğunluğu.....                               | 13 |
| <b>Şekil 6.</b>  | Metritisli hayvanların bakteriyel cins ve tür yüzde oranları.....                                               | 15 |
| <b>Şekil 7.</b>  | İzole edilen bakteri türlerinin toplam dağılımı.....                                                            | 22 |
| <b>Şekil 8.</b>  | Aydın ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı.....                                                      | 23 |
| <b>Şekil 9.</b>  | Denizli ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı.....                                                    | 24 |
| <b>Şekil 10.</b> | Muğla ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı.....                                                      | 25 |
| <b>Şekil 11.</b> | İzolatların antibiyogram sonuçları.....                                                                         | 26 |
| <b>Şekil 12.</b> | İzolatların bölgesel yoğunluk ve antibiyotik duyarlılık ısı grafiği.....                                        | 27 |

## RESİMLER DİZİNİ

|                 |                                            |    |
|-----------------|--------------------------------------------|----|
| <b>Resim 1.</b> | Çalışmada kullanılan VITEK MS slaytı ..... | 21 |
|-----------------|--------------------------------------------|----|



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                           |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| <b>Tablo 1.</b> Uterus lümeninden izole edilen bakterilerin potansiyellerine göre sınıflandırılması ..... | 4 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|



## ÖZET

### ENDOMETRİTİSLİ İNEKLERDEN PATOJEN MİKROORGANİZMALARIN MALDI-TOF MS İLE İDENTİFİKASYONU VE İZOLATLARIN ANTİBİYOTİKLERİN DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

**Palahoğlu B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2024.**

**Amaç:** Bu araştırma Batı Ege illerinde (Aydın, Denizli, Muğla) endometritisli süt ineklerinin vaginal akıntı örneklerinden izole edilen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik direnç profillerinin ortaya konulması amacı ile yapıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Araştırma, Aydın, Denizli ve Muğla’da bulunan çeşitli işletmelerden (her ilden 50 adet olmak üzere) endometritis şüpheli toplamda 150 inekten alınan vajinal akıntı numuneleri ile yapılmıştır. Bakteriyel kültür sonucu izole edilen bakterilerin MALDI-TOF MS ile identifikasyonları yapıldı ve Kirby - Bauer Disk Diffüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılık testleri gerçekleştirildi.

**Bulgular:** Araştırmada Aydın ilinden alınan 50 örnekten 45 izolat, Denizli ilinden alınan 50 örnekten 43 izolat, Muğla ilinden alınan 50 örnekten 32 izolat elde edildi. İzolatlardan MALDI-TOF MS ile yapılan identifikasyon sonucunda 17 farklı bakteri türü tespit edildi. En çok tespit edilen bakteriyel etkenler (%27) *Trueperella pyogenes*, (%18) *Streptococcus pluranimalium*, (%13) *Escherichia coli* olarak bulundu. Antibiyotik duyarlılık testlerinde *Trueperella pyogenes* ve *Escherichia coli* izolatlarının tamamı amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin ve penisilin G’ye karşı dirençli olarak bulundu.

**Sonuç:** Araştırma sonucunda, *T. pyogenes* ve *E. coli* etkenleri birçok araştırmada olduğu gibi endometritis vakalarından en çok izole edilen etkenler olduğu tespit edildi. İzolatların dirençlilik profilleri göz önüne alındığında endometritis vakalarında bakteriyel teşhis ve teşhis edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanmasının gerekli olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik direnci, Endometritis, MALDI-TOF MS.

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF PATHOGENIC MICROORGANISMS FROM COWS WITH ENDOMETRITIS USING MALDI-TOF MS AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES

**Palahoğlu B. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Veterinary Microbiology, Master Thesis, Aydın, 2024.**

**Objective:** This study aimed to identify pathogenic microorganisms isolated from vaginal discharge samples of dairy cows with endometritis and to determine their antibiotic resistance profiles in the Western Aegean provinces (Aydın, Denizli, Muğla).

**Material and Methods:** The study was conducted with vaginal discharge samples collected from a total of 150 cows suspected of having endometritis from various farms in Aydın, Denizli, and Muğla (50 cows from each province). Bacteria isolated from the samples were identified using MALDI-TOF MS, and antibiotic susceptibility tests were performed using the Kirby-Bauer disk diffusion method.

**Results:** From the 50 samples collected in Aydın, 45 isolates were obtained; from the 50 samples in Denizli, 43 isolates were obtained; and from the 50 samples in Muğla, 32 isolates were obtained. Seventeen different bacterial species were identified using MALDI-TOF MS. The most frequently identified bacterial agents were *Trueperella pyogenes* (27%), *Streptococcus pluranimalium* (18%), and *Escherichia coli* (13%). Antibiotic susceptibility tests revealed that all isolates of *Trueperella pyogenes* and *Escherichia coli* were resistant to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin, and penicillin G.

**Conclusion:** The study concluded that *T. pyogenes* and *E. coli* were the most commonly isolated agents in endometritis cases, similar to findings in many other studies. Considering the resistance profiles of the isolates, it was determined that bacterial diagnosis and antibiotic susceptibility testing of identified agents are necessary for endometritis cases.

**Keywords:** Antibiotic resistance, Endometritis, MALDI-TOF MS.

# 1. GİRİŞ

Endometritis, süt ineklerinde infertilitenin en önemli nedenlerinden biridir (Sheldon ve diğerleri, 2009; Wagener ve diğerleri, 2017). Süt çiftliklerinde hastalanan hayvanların tedavisi, sütün atılması, itlaf, süt üretiminde azalma ve tedavi uygulanan ineklerde doğurganlığının azalması gibi ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Gilbert ve diğerleri, 2005; LeBlanc, 2008; Paiano ve diğerleri, 2019, 2020).

Metritis ve klinik endometritis, bazı çiftliklerde %8 ile %40 arasında değişen, ortalama %20'lik bir prevalans göstermektedir (LeBlanc, 2008; Galvão, 2012).

Süt ineklerinde endometritis ile ilişkili ana bakteri türlerinin *Trueperella pyogenes*, *Escherichia coli* ve *Fusobacterium necrophorum* olduğu bildirilmiştir (Williams ve diğerleri, 2005; Sheldon ve diğerleri, 2010; Machado ve diğerleri, 2012; Pascottini ve diğerleri, 2020).

Günümüzde, uterus mikrobiyotasının tanımlanması ve metritis, endometritis etkenlerinin identifikasyonu bakteriyel kültür yöntemleri veya metagenomik analizler yoluyla yapılmaktadır. Bakteriyel kültür yoluyla identifikasyon; bakteri izolasyonu sonrasında genel biyokimyasal testler veya MALDI-TOF MS gibi daha modern teknikler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir (Ballas ve diğerleri, 2021).

Antibiyotikler birçok bakteriyel enfeksiyonda olduğu gibi endometritis tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Azawi, 2008). Uterus enfeksiyonlarının tedavisi için çoğunlukla intrauterin infüzyon veya parenteral enjeksiyon yoluyla çeşitli antimikrobiyal ajanlar kullanılır (Gustafsson, 1984). Günümüzde patojen bakteriyel etkenlerde dünya genelinde antimikrobiyal direnç yaygın bir sorun haline gelmiştir. Endometritis vakalarında doğru tedavi protokolünün oluşturulması ve ineklerde görülen bakteriyel endometritis etkenlerinin bazılarının zoonotik karaktere de sahip olduğu düşünüldüğünde tedavide uygun antibiyotiğin kullanılabilmesi için tespit edilen patojenin antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması önemlidir (Takamtha ve diğerleri, 2013).

Araştırmamızda, Batı Ege illerinde bulunan süt işletmelerindeki CE (Klinik endometritis) ve SCE (subklinik endometritis) vakalarından alınan vajinal akıntı örnekleriyle endometritise neden olan bakteriyel etkenlerin MALDI-TOF MS ile teşhisi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Endometritisin Tanımı

Endometritis, endometriumun sistemik belirtileri olmayan yüzeysel bir iltihabıdır (Sheldon ve diğerleri, 2006).

Klinik endometritis (CE), uterus lümenine belirgin bir lökosit infiltrasyonunun eşlik ettiği doğum sonrası 21 veya daha fazla günde pürülan veya mukopürülan vajinal akıntının varlığı olarak tanımlanır. Subklinik endometritis (SCE), endometriumda klinik endometritis belirtilerinin olmaması ile birlikte artan oranda polimorfonükleer nötrofil (PMN) hücreleri ile karakterize edilir (Kasimnickam ve diğerleri, 2004).

Postpartum ilk 2 hafta boyunca süt ineklerinin %80-100'ünün uterusunda potansiyel patojenler de dahil olmak üzere geniş bir bakteri çeşitliliği gözlemlenebilir (Sheldon ve diğerleri, 2009).

Bağışıklık yanıtı ve rahim enfeksiyonu arasındaki dengeye bağlı olarak, ineklerin yaklaşık %25-40'ında doğumdan sonraki ilk 3 hafta içinde metritis gelişir (Markusfeld, 1987; Drillich ve diğerleri, 2001). Sonrasında, ineklerin %15-20'si CE geliştirmekte ve %30'u da doğumdan 3 hafta sonra SCE geliştirmektedir (Cheong ve diğerleri, 2011; Gilbert ve diğerleri, 2005; LeBlanc ve diğerleri, 2002).

Postpartum endometritis, oversikluslarının yeniden başlamasını geciktirdiği, postpartum luteal fazları uzattığı, ilk servise ve açık günlere kadar olan gün sayısını artırdığı ve konsepsiyon oranını düşürdüğü için üreme performansı üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Kasimnickam ve diğerleri, 2004; Ribeiro ve diğerleri, 2013).

## 2.2. Endometritisin Etiyolojisi

Endometritis oluşumundan birçok faktörün sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bunlar distosi, ikizler, doğum indüksiyonu, fetal membranların tutulması ve yumurtalık döngüsel aktivitesinin restorasyonu, süt verimi, metabolik hastalıklar ve uterusun bakteriyel kontaminasyonudur. Tutulan plasental membranlar endometritis için önemli risk faktörünü temsil eder (Potter ve diğerleri, 2010). İneklerde distosi sıklıkla, her ikisi de şüphesiz endometritis gelişimini destekleyen fetal membranlar ve gecikmiş uterus involüsyonu gibi çoklu doğum sonrası komplikasyonlarla ilişkilidir (Markusfeld, 1984).

Negatif enerji dengesi (NEB) en yaygın olarak şiddetli ve uzun süreli uterus iltihabı ve gecikmiş uterus involüsyonu ile bağlantılıdır (LeBlanc ve diğerleri, 2011). NEB, endometritis, özellikle plaseenta ve metritis retansiyonu için risk faktörlerini 6,1 ila 9,5 kat artırabilen, özellikle ketozis gibi birçok metabolik bozukluğun gelişimini destekler (Markusfeld, 1987). Bakterilerle çevresel kontaminasyon, doğum sırasında uterusu kontamine edebilir. Mastitis, çevrede endometritis gelişimini destekleyebilecek bir bakteriyel kontaminasyon kaynağını temsil eder (Madozve diğerleri, 2014). Buzağılama zamanı civarında yeterli kalsiyum mobilizasyonunun başarısız olması hipokalsemi ile sonuçlanır. Kalsiyum uterin involüsyon sürecinde önemli bir element olduğundan, herhangi bir eksiklik bu süreci geciktirir ve tutulan fetal membranlar için bir risk faktörü olarak kabul edilir ve endometritis insidansını ve şiddetini etkileyebilir (Ghavi Hossein-Zadeh ve Ardalán, 2011).

Klinik ve subklinik endometritisten, sığır herpes virüsü 4 (BoHV-4) ve çok sayıda bakteri sorumludur. Patojenitelerine ve izolasyon sıklıklarına göre sınıflandırılırlar (Williams ve diğerleri, 2005; Prunner ve diğerleri, 2014). (Tablo 1)

*T. pyogenes*, endometritisten etkilenen ineklerin uteruslarından en sık izole edilen bakteridir (Hartigan ve diğerleri, 1974). Ayrıca *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* gibi diğer bakteriler ve *E. coli* endometritise neden olduğu düşünülmektedir (Griffin ve diğerleri, 1974; Morrow, 1986). *Provetella spp.*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi anaerobik bakteriler tarafından takip edilir (Sheldon ve diğerleri, 2006; Prunner ve diğerleri 2014).

**Tablo 1.** Uterus lümeninden izole edilen bakterilerin potansiyellerine göre sınıflandırılması (Mounir ve diğerleri, 2017; Williams ve diğerleri, 2005).

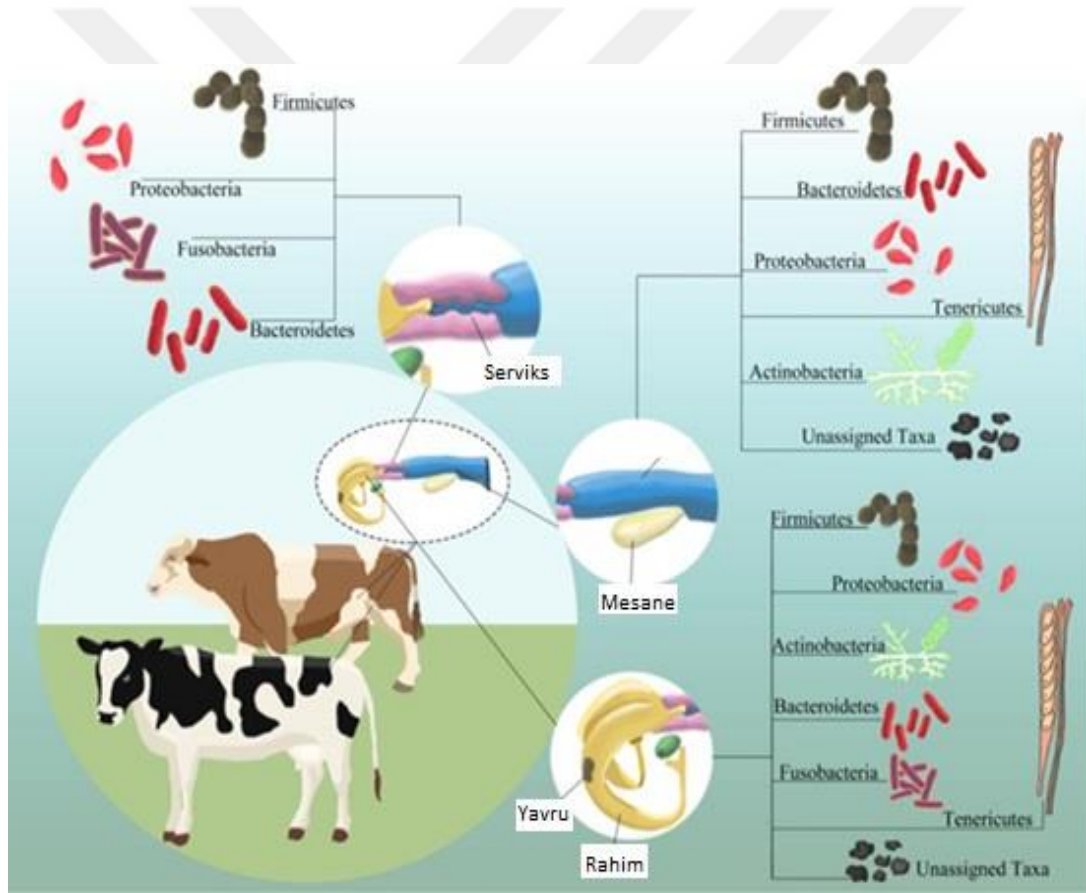
| Uterus Patojenleri                | Potansiyel Patojenler                   | Fırsatçı Kontaminantlar                        |
|-----------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------|
| <i>Prevotella melaninogenicus</i> | Non-hemolitik <i>Streptococcus</i> spp. | <i>Streptococcus acidominimus</i>              |
| <i>Escherichia coli</i>           | <i>Peptostreptococcus</i> spp.          | <i>Staphylococcus</i> spp.                     |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i>  | <i>Mannheimia haemolytica</i>           | <i>Proteus</i> spp.                            |
| <i>Trueperella pyogenes</i>       | <i>Pasteurella multocida</i>            | <i>Aspergillus</i> spp.                        |
| <i>Bacteroides</i> spp.           | <i>Enterococcus faecalis</i>            | <i>Klebsiella pneumoniae</i>                   |
|                                   | <i>Staphylococcus aureus</i>            | <i>Clostridium perfringens</i>                 |
|                                   | <i>Bacillus licheniformis</i>           | $\alpha$ - hemolitik <i>Streptococcus</i> spp. |
|                                   |                                         | <i>Micrococcus</i> spp.                        |

### 2.3. Endometritisin Patogenezi

Jubb ve diğerleri (1985) ve McEntee (1990) uterus enfeksiyonunu uterus dokularındaki histopatolojik değişikliklere bağlı olarak hafif, akut ve kronik form olarak sınıflandırmıştır. Hafif endometritisteki histopatolojik değişiklikler çarpıcı değil ve çoğunlukla yaygın, hafif yüzeysel epitelde hafif soyulma ve önemli vasküler değişiklikler olmadan inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu görüldüğünü belirtmişlerdir. Akut endometritiste ise bezler dahil tüm mukozal elemanları tutan, yüzeyde kitlesel, süpüratif ve yüzeysel nekroz ile belirgin bir lökosit infiltrasyonu, kronik endometritiste ise tüm mukozal elementleri tutan belirgin bir lökosit infiltrasyonu olduğunu belirlemişlerdir. Uterus duvarı kan ve ödem ile kalınlaşmıştır. Seroza mat ve boya fırçası tarzında kanamalarla ince granüler olup ince fibrin birikimi veya subserozal damarlarda koyu renkli tıkanıklık gözlenebilmektedir (Dzhurova ve Gülübinov, 1981).

## 2.4. Süt İneklerinin Genital Sistem Mikrobiyotası

Son yıllarda yapılan mikrobiyal araştırmalar, organizmaların mikrobiyom adı verilen belirli nişlerde türler içinde ve türler arasında nasıl etkileşime girdiğine odaklanarak bireysel bir in vitro odaktan daha ekolojik bir bakış açısına kaymıştır (Yeoman ve diğerleri, 2018). Mikrobiyota terimi, türlerde barış içinde yaşayan ve bir arada var olan bir dizi mikroorganizmayı ifade eder, ancak bu doğal popülasyonlardaki rahatsızlıklar sağlık ve normal fizyolojik koşullar üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilir (Knight ve diğerleri, 2017). Sığırların üreme sistemi, süt ve besi sığırlarının üreme yollarının farklı nişlerinde bulunan ve sınıf veya familyalarına göre değişen karmaşık bir mikrobiyotadan oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Üreme sisteminin çeşitli bölümlerinin mikrobiyotası (Knight ve diğerleri, 2017).

#### 2.4.1. Vajinal Mikrobiyota

İnek vajinasındaki mikrobiyota, bakteriyel kültüre bağlı bir teknik kullanılarak hastalık etkisine dayalı olarak çalışılmıştır (Wang ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, metagenomik gibi ileri teknolojilerin ortaya çıkmasıyla, Nellore, Holstein ve Fleckvieh sığırlarında benzer bakteri filumları ortaya çıkarılmıştır. Bunlar *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria*'dan oluştuğu belirtilmiştir (Laguardia-Nascimento ve diğerleri, 2015; Nesengani ve diğerleri, 2017). Şekil 1.'de gösterildiği gibi vajinal nişte bulunan bu bakteriler toplam bakterilerin yaklaşık %30-40'ını oluşturur (El-Hayek ve Clarke, 2016). Giannattasio-Ferraz ve diğerleri (2019), yaptıkları son çalışmalarda Nellore sığırlarının vajinal mikrobiyotası ve tanımlanan ana bakteri türlerini *Aeribacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides* ve *Ruminococcus* türleri olarak tespit etmişlerdir.

Farklı sığır ırklarının mikrobiyotasında bildirilen benzer bakteri türlerinin yanı sıra patojenik mantarların son zamanlarda özellikle maya ve *Penicilium* türleri olmak üzere Holstein süt sığırlarının servikal-vajinal sıvılarının kolonizasyonu olduğu da özellikle bildirilmiştir (Saini ve diğerleri 2019). Bununla birlikte, çeşitli teritojenik süreçlerde rol oynayan bu fırsatçı mantar patojenlerinin işlevi, daha fazla araştırma gerektirmektedir. Sığır vajina yolundaki mikrobiyotanın da üreme başarısı ve başarısızlığının biyo belirteçleri olarak önemli bir rol oynadığı yakın zamanda ortaya çıkarılmıştır (Deng ve diğerleri, 2019). Öncelikle dana düve örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, yakın zamanda random forest sınıflandırmada vajinada *Clostridiaceae* familyası, *Histophilus* türleri ve *Campylobacter* türlerinin yanı sıra dışkıda *Bacteroidales* takımı ve *Dorea* türünün varlığı da gebelik için önemli göstergeler olarak ortaya çıkarılmıştır (Deng ve diğerleri, 2019).

Mahalingam ve diğerleri (2019), vajinal mikrobiyotanın büyük bir mikrobiyal çeşitlilik ile üreme sistemi üzerine önemli bir katkı sağlasa da, kızgınlık döngüsünün farklı aşamalarında mikrobiyotanın rolü hakkında hala çok sınırlı bilgi olduğunu belirtmişlerdir. Örneğin, Buffalo cinsi sığırlarda östrus döngüsünün çeşitli evreleri sırasında vajinal mikrobiyotanın etkisi gözden geçirmişlerdir.

Öne çıkan operasyonel taksonomik birimlerden (OTU) yapılan 16S rRNA gen dizileri bir filogenetik sınıflandırma ağacına entegre edilmiş ve Buffalo cinslerinin vajinal sıvısında ağırlıklı olarak tespit edilen bakteri türlerinin *Corynebacterium*, *Porphyromonas*,

*Helcococcus*, *Anaerococcus* türleri ile çok yakından ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Östrus evrelerinde *Firmicutes* filumunun önemli seviyede olduğunu belirtmişlerdir.

Mahalingam ve diğerleri (2019) vajinal mikrobiyotada östrus döngüsünün farklı aşamalarında bakteri familya ile filumlarının tanımlanmasının, reproduktif aktiviteye probiyotiklerle tedavi ve tespit edilen yeni suşlar hakkında araştırmalarla bilgi edinilmesi gibi fayda sağlayabileceğini ortaya koymuşlardır.

Fettweis ve diğerleri (2019) ile Goltsman ve diğerleri (2018), yaptıkları araştırmada dikkat çekici bir şekilde, vajinal mikrobiyotada *Streptococcus* türlerinin luteal fazdaki sayısı foliküler fazdakinden önemli ölçüde daha fazla iken, *Lactobacillus* türlerinin ise foliküler fazda, luteal fazdan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, foliküler ve luteal fazlar arasındaki vajinal mikrobiyota arasındaki farkları daha iyi anlamak için, genom topluluğu içindeki bakterilerin ayrıntılı bir analizini gerekli olduğundan, gelecekteki çalışmaların Metagenomik Shotgun Dizileme (MSS) analizini kullanması gerektiğini vurgulamışlardır.

#### **2.4.2. Servikal Mikrobiyota**

Mukusla kaplı bir dizi kolajen halkadan oluşan serviks, uterusu ortamdaki patojenlerden koruyan önemli anatomik bariyerlerden biridir (Azawi, 2008; Sheldon ve Dobson, 2004). Servikal mukus, alt genital sistemden üreme yoluna çıkabilen mikroplara karşı biyolojik ve fiziksel bir bariyer işlevi görür (Sheldon ve Dobson, 2004). Fakat anatomik konumu nedeniyle serviks lümen artıkları tarafından oluşturulan iltihaplanmaya sebep olan ve uterus kasılmaları tarafından atılan bakterilere maruz kalır (Sharma ve diğerleri, 2017).

Singer ve diğerleri (2016) süt ineğinin serviksinde gözlemlenen bakteri popülasyonunun çeşitliliğinin, daha önceki araştırma çalışmalarında kullanılan geleneksel kültüre bağlı yöntemlerle bildirilenden daha karmaşık olacağını belirtmişlerdir. Yeni nesil dizilemenin ortaya çıkmasıyla, servikal mikrobiyotanın kapsamlı dizilimini ve veri analizini gerçekleştirerek bu niş içindeki kültürde üretilmeyen bakterileri keşfetmek daha kolay hale gelmiştir. Bu ileri teknik sayesinde servikste bulunan bakteriyel patojenlerin vajinal sürüntülerden daha yaygın olduğu ortaya çıkmıştır. Özellikle abort yapan ineklerde servikal sürüntülerinden izole edilen *S. aureus*, abort yapmayan hayvanlarda kıyasla daha yüksek olarak görülmüştür (Galvão, 2018).

Yeni nesil dizileme ile birlikte süt ineğinin serviksindeki çeşitli evreler de Wang ve diğerleri (2018), tarafından araştırıldı. Wang ve diğerleri (2018), ineklerin klinik doğum öncesi (CF), Klinik gebelik (CG) ve Klinik doğum sonrası (CP) evrelerinde servikste ana bakteri filumlarının *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes*'lerden oluştuğunu bulmuşlardır.

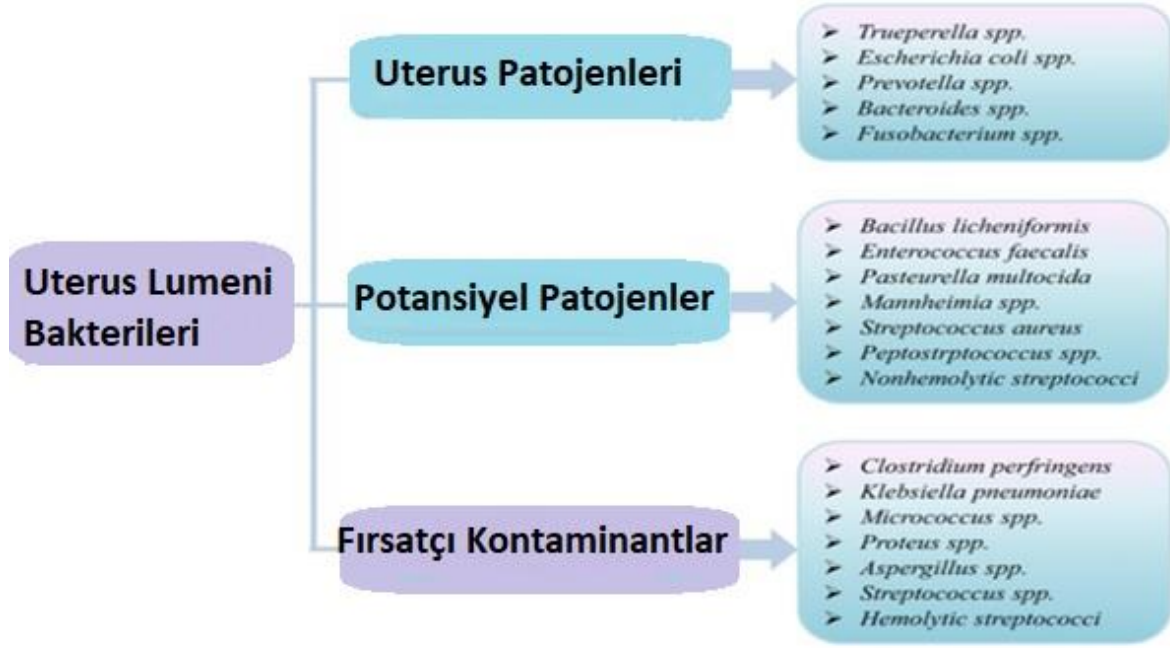
#### 2.4.3. Uterus Mikrobiyotası

Son yirmi yılda, doğum sonrası üreme sisteminde mikrobiyotanın hastalıklardaki rolü detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Daha öncesinde uterusun gebelik sırasında steril olduğuna ve doğumdan sonra hayvanlardan ve çevreden gelen spesifik olmayan bakterilerle kontamine olduğuna inanılıyordu (Galvão ve diğerleri, 2019).

Chen ve diğerleri (2017) dişi üreme sistemi boyunca mikrobiyotanın sürekliliğini göstererek ortamın steril olmadığını ortaya çıkarmıştır. Agostinis ve diğerleri (2019), uterus mikrobiyotasının ve lokal bağışıklık sisteminin çapraz düzenleyici bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bakterileri ve endometriyumun 16S ribozomal RNA dizilimini görüntüleyen floresan probalar, gebelik sırasında bile uterusu seyrek bir mikrobiyotanın var olduğuna dair kanıt sağlamıştır. Bu çalışmalarda ön plana çıkan bakteriler *T. pyogenes*, *Fusobacterium spp.* ve *Prevotella spp.* gibi endometriyal patojenleri de içermektedir. Bununla birlikte, uterus mikrobiyotasının bakteriyel yoğunluğu bağırsak veya vajinadan daha az olup mikrobiyotadaki etkenlerin küçük bir kısmı doğum sonrası uterus enfeksiyonlarına katkıda bulunmaktadır (Karstrup ve diğerleri, 2017; Moore ve diğerleri, 2017).

Doğum sonrasında ürogenital sistem bölümlerin birbirleri ile temas halinde olması genellikle erken doğum sonrası süt ineklerinin uterus mikrobiyotasını etkilemektedir (Galvão ve diğerleri, 2019; Miranda-CasoLuengo ve diğerleri, 2019).

Williams ve diğerleri (2005), uterus lümenindeki izole edilen bakterileri, uterus mikrobiyotasındaki patojen etkenler, diğer potansiyel patojen etkenler ve fırsatçı kontaminantlar olarak ayırmıştır (Şekil 2).

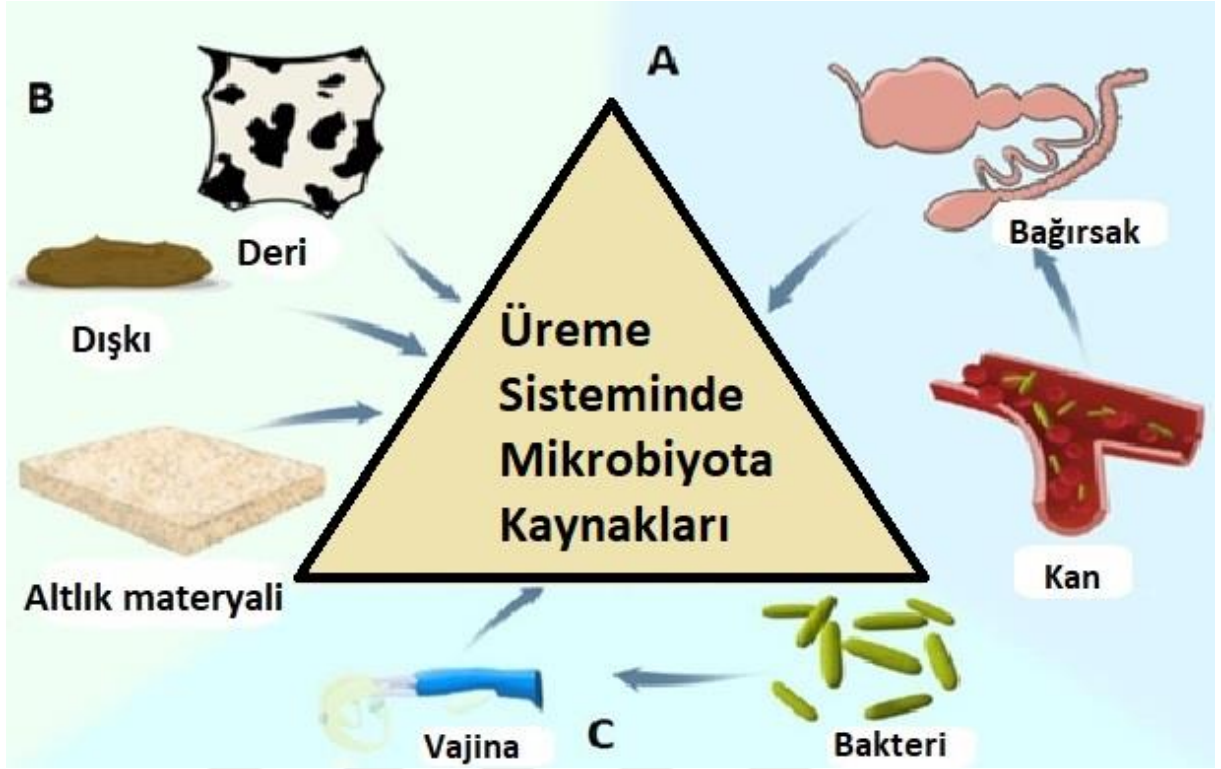


**Şekil 2.** Uterus lümeninden izole edilen bakteriyel etkenlerin sınıflandırılması (Williams ve diğerleri 2005).

Ayrıca vajinal ve uterus kaynaklı etkenlerin dağılması haricinde doğum sonrası uterus Şekil 2’de belirtilen bakterilerin birçoğu, vajina, deri ve bağırsak gibi çevresel kaynaklardan bulaşabilmektedir (Şekil 3) (Miranda-CasoLuengo ve diğerleri, 2019).

Ryan ve diğerleri (2020) patojen bakteriyel etkenlere maruziyetin uterus sağlığını olumsuz etkilediğini ve özellikle mera bazlı yetiştirilen Holstein-Friesian ırkı ineklerde sonraki üreme döneminde reproduktif parametreler üzerinde önemli bir etkiye yol açabildiğini belirtmişlerdir.

Canadas ve diğerleri (2020) laktasyondaki süt ineklerinde uterus sağlığı, korpus luteumun durumu, doğurganlık alt indeksi ve üreme işlevi arasında güçlü bir ilişki olduğunu açıkça vurgulamışlardır.



**Şekil 3.** Üreme sisteminde olası mikrobiyota kaynakları (Miranda-CasoLuengo ve diğerleri, 2019).

- A. Bağırsaktan uterusu bakteri geçişinin kan yoluyla bulaşı.
- B. Üreme sisteminin çeşitli bölümlerine bakterilerin bulaşının çevresel yolu.
- C. Bakterilerin vajinadan üreme sistemine geçiş yolu.

## **2.5. Klinik ve Subklinik Endometritisin Süt İneklerinin Uterus Mikrobiyotası Üzerine Etkileri**

Klinik endometritis, pürülan veya mukopürülan akıntı olarak tanımlanır (LeBlanc ve diğerleri, 2002). Endometritisli inekler daha yüksek derecede bakteriyel kontaminasyona maruz kaldığı için uterus dokusu daha ince ve deri kalınlaşmıştır (Foldi ve diğerleri, 2006). Uterusun rektal palpasyonu ile görülen klinik bulgular, asimetrik uterus boynuzları, kalınlaşmış uterus duvarı ve endometriumda bol sıvı varlığıdır (Lewis, 1997).

Subklinik endometritis, uterusu yetersiz eksudat birikimi ile karakterize olup, patognomonik özellikte servikal akıntının tamamen yokluğu ile sonuçlanmakta (Kasimanickam ve diğerleri, 2004; Gilbert ve diğerleri, 2005) ve vajinada pürülan akıntı

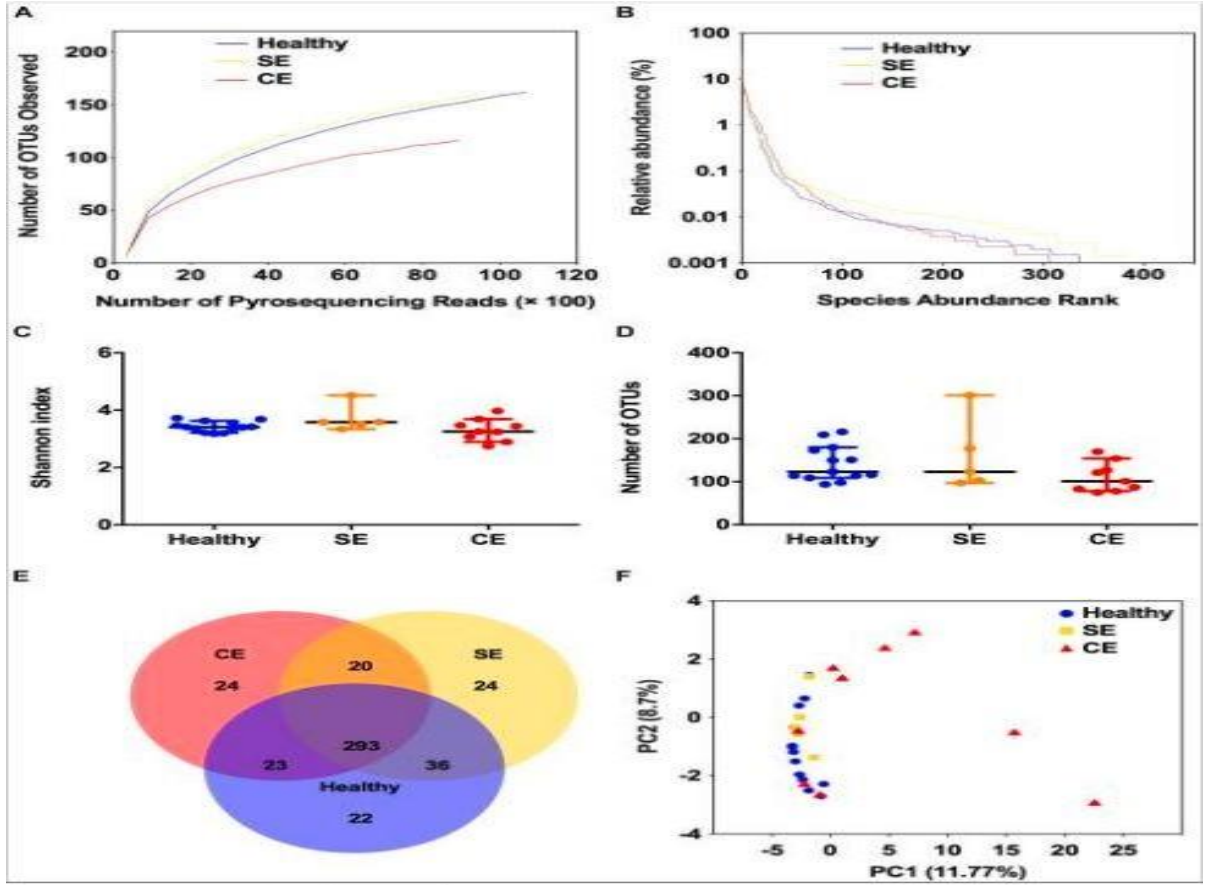
yoksa endometriyal sitoloji ile teşhis edilebilmektedir (Gilbert ve diğerleri, 2006). Subklinik endometritis, uterus sitoloji örneklerinde doğum sonrası 20-33. günlerde %18'den fazla PMN veya doğum sonrası 34-47. günlerde %10'dan fazla PMN gözlenmesiyle tanımlanabilmektedir (Sheldon ve diğerleri, 2006).

### **2.5.1. Uterus Mikrobiyotasının Bakteriyel Çeşitliliği**

Wang ve diğerleri (2018) yaptığı çalışmada, sığır uterin mikrobiyotasının profilini çıkarmak için, 27 vajinal akıntı numunesi için 16S rRNA dizilemesi gerçekleştirmişlerdir. Uterus mikrobiyotasında bakteriyel çeşitliliğin klinik veya subklinik endometritiste azaldığını ortaya koymuşlardır. (Şekil 4B).

Çalışmada tür çeşitliliği Shannon çeşitlilik indeksi olarak ölçülmüş, tür zenginliği OTU sayısı olarak hesaplanmıştır. Tür çeşitliliği açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır (Şekiller 4C, 4D).

Venn şeması, toplam 445 OTU'nun 293'ünün SCE, CE ve sağlıklı bireylerde ortak olarak bulunduğunu göstermektedir (Şekil 4E). Bu 293 OTU, sağlıklı, subklinik endometritis (SCE) ve klinik endometritis (CE) ineklerinde toplam OTU yoğunluğunun sırasıyla %99.68, %99.39 ve %98.67'sini temsil ettiğini raporlamışlardır (Şekil 4C, 4E).



**Şekil 4.** Uterus mikrobiyotasının sağlıklı, klinik ve subklinik endometristisli hayvanlarda yapısal karşılaştırması (Wang ve diğerleri, 2018).

A. OTU'ların Seyreklik eğrileri.

B. Tespit edilen türlerin ortalama yoğunluğu(%).

C. Mikrobiyotanın Shannon Çeşitlilik İndeks grafiği.

D. Sağlıklı, SE ve CE' de uterus mikrobiyotasının alfa çeşitliliğini tahmin etmek için kullanıldı. Semboller, bireysel ineklerden alınan verileri temsil eder, veriler %95 GA ile medyan olarak gösterilir.

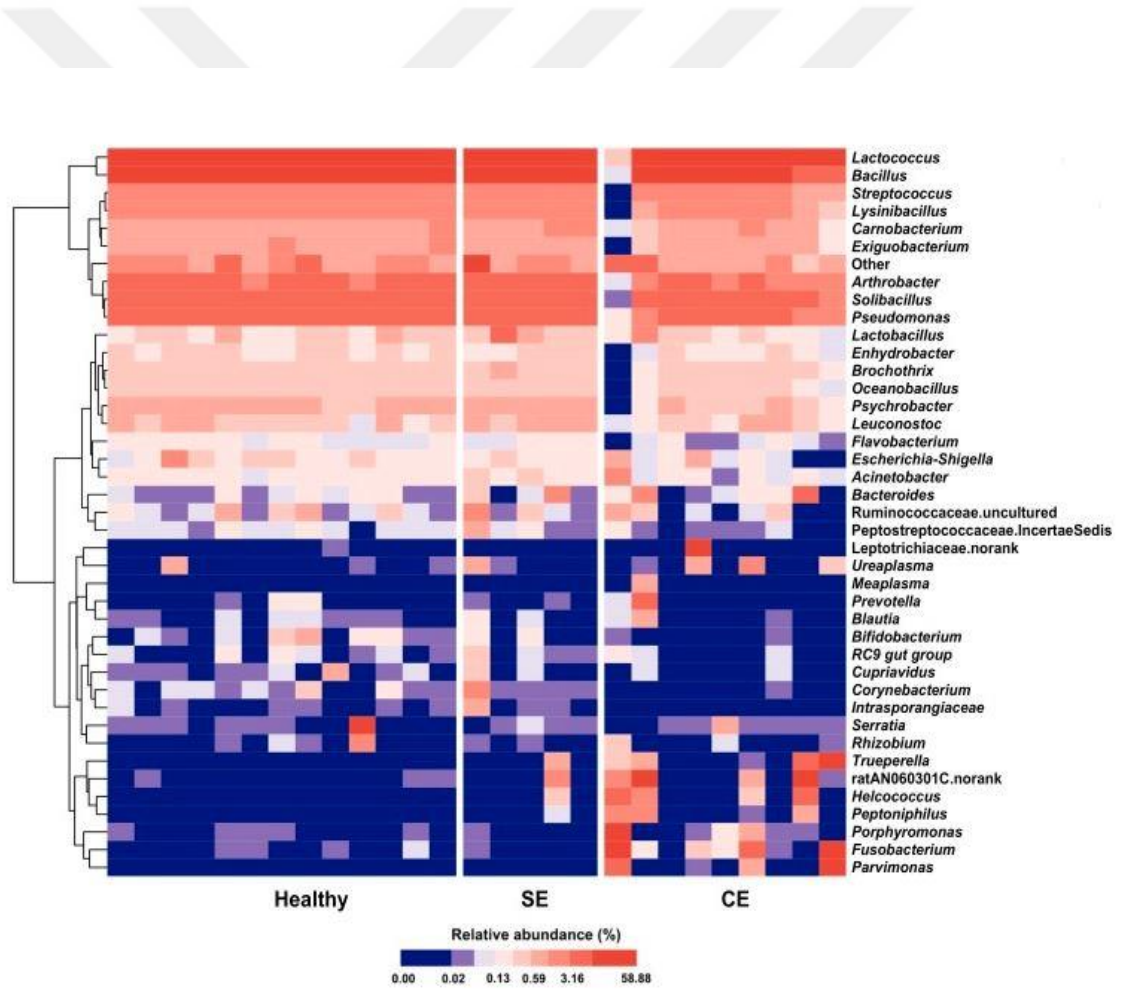
E. Üç grubun uterus mikrobiyotasındaki ortak ve özel OTU' ları gösteren Venn şeması.

F. Bray-Curtis farklılık indeksine sahip OTU' ların göreceli bolluğuna dayanan ve her bir inek için aralarındaki farklılıkları gösteren temel bileşenler analizi.

Sağlıklı inekler,  $n = 13$ ; SE, subklinik endometritisli inekler,  $n = 5$ ; CE, klinik endometritisli inekler,  $n = 9$ .

## 2.5.2. Uterus Mikrobiyotasında Endometritis ile İlişkili Değişiklikler

Wang ve diğerleri (2018), yaptığı çalışmada tüm örneklerde uterus mikrobiyotasında toplam 17 filum tanımlamışlardır. *Firmicutes* (%76,7), *Proteobacteria* (%8,1), *Actinobacteria* (%5,9), *Bacteroidetes* (%4,6), *Fusobacteria* (%4,3) ve *Tenericutes* (%0,2)' nin uterusu en bol bulunan altı filum olduğunu belirlemişler, bunun da toplam yoğunluğun %98,8' ini oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Toplamda, tüm örneklerde 206 farklı bakteri cinsi tanımlanmıştır. Şekilde sağlıklı, CE ve SE gruplarının sırasıyla toplam cins bolluğunun %99,6' sı, %99,48' i ve %98,61' ini oluşturduğu belirtilmiştir. Yoğunluğa göre yoğunluğu maviden (düşük) kırmızıya (yüksek) bir renk gradyanı ile gösterilmiştir (Şekil 5).



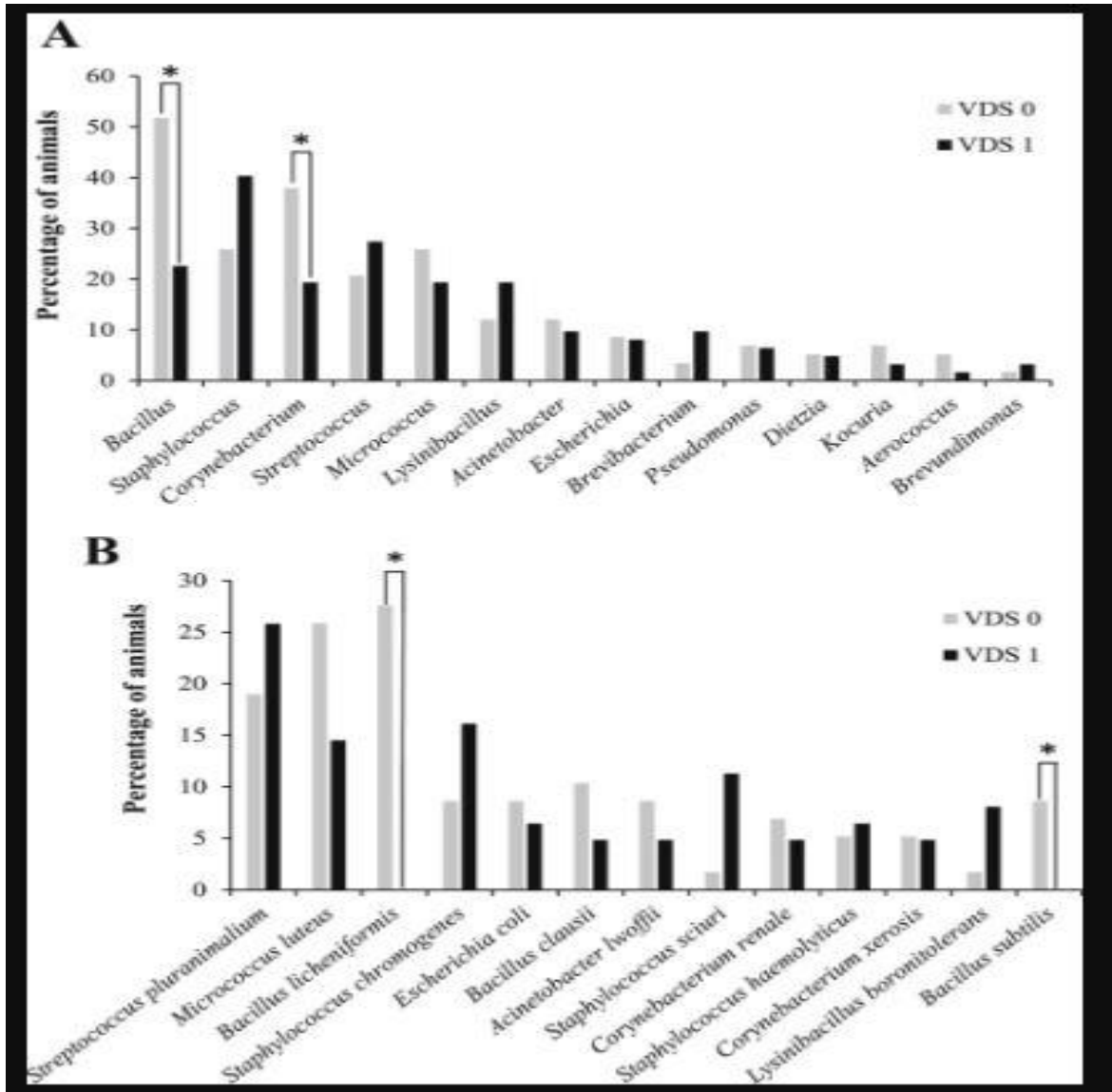
**Şekil 5.** İneklerde yüksek oranda tespit edilen 40 bakteri cinsinin ortalama yoğunluğu (Wang ve diğerleri, 2018).

Healthy: Sağlıklı; SE: Subklinik endometritis, CE: Klinik endometritis

Bu çalışmadaki tüm süt ineklerinin toplam filum ortalama yoğunluğunun %99.8'ini oluşturduğunu tespit edilmiştir. Sağlıklı ve SE ineklerinin uterusunda en yüksek bulunan çok az varyasyona sahip beş bakteri cinsi *Lactococcus*, *Bacillus*, *Solibacillus*, *Pseudomonas* ve *Arthrobacter* olarak belirlenmiştir. CE ineklerinde, *Lactococcus*, *Bacillus*, *Fusobacterium* ve *Solibacillus* en yüksek bulunan ilk beş cins olarak belirlenmiştir. Cins düzeyindeki ısı haritası analizi, CE ineklerinin uterus mikrobiyotasında cinsteki artışla birlikte, sağlıklı ve SE inekleriyle karşılaştırıldığında *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Porphyromonas*, *Peptoniphilus*, *Helcococcus*, *Trueperella* türleri bariz bir değişim gösterdiği raporlanmıştır.

### 2.5.3. Sağlıklı ve Endometritisli İneklerde Bakteriyel Kompozisyon

Ballas ve diğerleri (2021) yaptıkları çalışmada sağlıklı ve endometritisli ineklerdeki bakteriyel çeşitliliği cins seviyesinde araştırmıştır (şekil 6A, şekil 6B). Sağlıklı ineklerin yarısından fazlası (%51.7; 30/58) tohumlama gününde *Bacillus spp.* barındırırken, endometritisli ineklerde önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir (%22,6; 14/62). Buna ek olarak, suni tohumlama zamanında VDS 1'li ineklerde daha yüksek bir *Staphylococcus spp.* prevalansı bulmuşlardır. Ayrıca diğer cinsler için, VDS 0 ve VDS 1 arasında enfekte hayvanların yüzdelerinde önemli bir farklılık bulmamışlardır.



Şekil 6. Metritisli hayvanların bakteriyel cins ve tür yüzde oranları (Ballas ve diğerleri, 2021).

A. En sık tespit edilen cinslerle enfekte hayvanların yüzdeleri

B. En sık tespit edilen türlerle enfekte hayvanların yüzdeleri

Yıldız işaretleri, tek değişkenli analizde tespit edilen VDS 0 ve VDS 1 ( $P < 0.05$ ) arasındaki önemli farklılıkları gösterir.

Tür düzeyinde, VDS 0 ve 1 arasındaki bakteri yoğunluğundaki tek önemli fark, iki Bacillus türü olan *B. licheniformis* ve *B. subtilis* arasında görülmüştür. Endometritisli hayvanlar ne *B. licheniformis* ne de *B. subtilis* bulunmazken, bu türler VDS 0 ineklerinin sırasıyla ineklerin %27,6'sında (16/58) ve %8,6'sında (5/58) tespit ettiklerini raporlamışlardır.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Örnekleme**

Araştırmamızda Aydın, Denizli ve Muğla'da bulunan çeşitli işletmelerden (her ilden 50 adet olmak üzere) doğum sonrası 3 hafta içerisinde endometritis şüpheli toplamda 150 inekten aseptik ve tekniğe uygun olarak alınan vajinal akıntı numuneleri soğuk zincirde Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na getirilmiştir. Bakteriyel izolasyon yapılana kadar +4 °C'de muhafaza edilen örnekler araştırma materyalini oluşturmaktadır.

##### **3.1.2. Kullanılan Solüsyonlar, Besiyerleri**

###### **3.1.2.1. Gram boyama**

Kristal viyole, distile su, lugol çözeltisi, %95 ethanol, sulu fuksin kullanılmıştır.

###### **3.1.2.2. Besiyerleri**

###### **3.1.2.2.1. Blood Agar (HiMedia M073)**

|            |         |
|------------|---------|
| Blood Agar | 40 gr   |
| Distile su | 1000 ml |

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup, içine % 7 oranında defibrine koyun kanı ilave edilerek 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.2. Mac Conkey Agar (Oxoid CM0007)**

Mac Conkey Agar 50 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.3. Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar (HiMedia M022S)**

Eosin Methylene Blue Agar 37,5 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.4. Brucella Agar (Merck 1.10490)**

Brucella Agar 41 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup, içine % 7 oranında defibrine koyun kanı ilave edilerek 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.5. Tryptic Soy Agar (Merck 1.05458.0500)**

Tryptic Soy Agar 40 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.6. Mueller Hinton Agar No. 2 (M1084)**

Tryptic Soy Agar 38 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup 12,5 ml steril plastik petrilere döküldü.

#### **3.1.2.2.7. Brain Heart Infusion Broth (CM1135),**

Brain Heart Infusion 37 gr

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika sterilizasyon işleminden sonra 50°C’ye kadar soğutulup 4 ml steril cam tüplere aktarıldı.

#### **3.1.3. VITEK MS Slayt ve Solüsyonları**

#### **3.1.4. Kullanılan Antibiyotik Diskleri**

Antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesinde; amoxicillin-clavulanic acid (30 µg), gentamicin (10 µg), enrofloxacin (5 µg), ceftiofur (30 µg), tetracycline (30 µg), kanamycin

(30 µg), ampicillin (10 µg), penicillin G (10 µg), erythromycin (15 µg) antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

### 3.2. Yöntem

Laboratuvara getirilen numuneler, fenotipik izolasyon için %7 koyun Kanlı Agar, Mac Conkey Agar ve EMB Agar besiyerlerine ekilerek 37 °C’ de 24-48 saat aerobik inkubasyona bırakıldı. Anaerob izolasyon için incelenen örnekler %7 koyun kanlı Brucella Agar’a ekilerek 37 °C’ de 24-48 saat anaerobik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda bakteriyel üreme tespit edilen numunelerde üreyen koloniler Tryptic Soy Agar (TSA)’da saflaştırıldı. Saflaştırma işleminden sonra saf koloniler gram boyama yöntemi ile boyandı. Gram boyama işleminden sonra bakteriler gram pozitif ve gram negatif olarak sınıflandırıldı.

Çalışmamızda VITEK MS/IVD/V.3.0 (bioMérieux, France) veritabanı kullanıldı ve üreticinin talimatı doğrultusunda gerçekleştirilen bütün işlemler aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Sınıflandırılan Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin MALDI-TOF MS ile identifikasyonları yapıldı. 18-24 saat sonrasındaki taze saflaştırılan kolonilerden birer koloni 1 µl’lik öze ile alınarak VITEK MS slaytlarına ince bir tabaka halinde yayıldı. Hazırlanan slaytta her 16 kuyucuk ortasında yer alan kalibrasyon kuyucuğuna kalite kontrol ve kalibrasyon amacıyla kütle spektrum profili çok iyi bilinen *E. coli* ATCC 8739 ince bir tabaka halinde yayıldı. Hazırlanan slayttaki kuyucukların her birinin üzerine 1’er µl matriks solüsyonu CHCA ( $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklendi ve oda ısısında kurumaya bırakıldı. 2 dakika beklenildikten sonra slayt cihaz içine yerleştirilerek çalışma başlatıldı. Cihaz ilk çalıştırıldığında vakum ve kalibrasyon işleminin yaklaşık 10 dakika sürmesinin ardından izolatların her birinin spektrumları alınmaya başlandı. 48 adet örnek ve 3 adet kalibrasyon spotunun yer aldığı slaytların toplam raporlama süresi 57 dakika olarak ölçüldü (Örnek başına yaklaşık 1.7 Dakika).



**Resim 1.** Çalışmada kullanılan VITEK MS slaytı

İdentifikasyonu yapılan bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için Kirby-Bauer Disk Diffüzyon tekniği kullanıldı. Bakterilerin saf kolonilerinden Brain Heart Infusion Broth besiyerinde 0.5 McFarland koloni yoğunluğunda homojenize edildi ve 100 µl Mueller-Hinton Agar üzerine yayıldı. Belirlenen antibiyotik diskleri eşit aralıklarla yerleştirilerek 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çapları CLSI 2017 standardına göre değerlendirilerek kayıt altına alındı (CLSI, 2017).

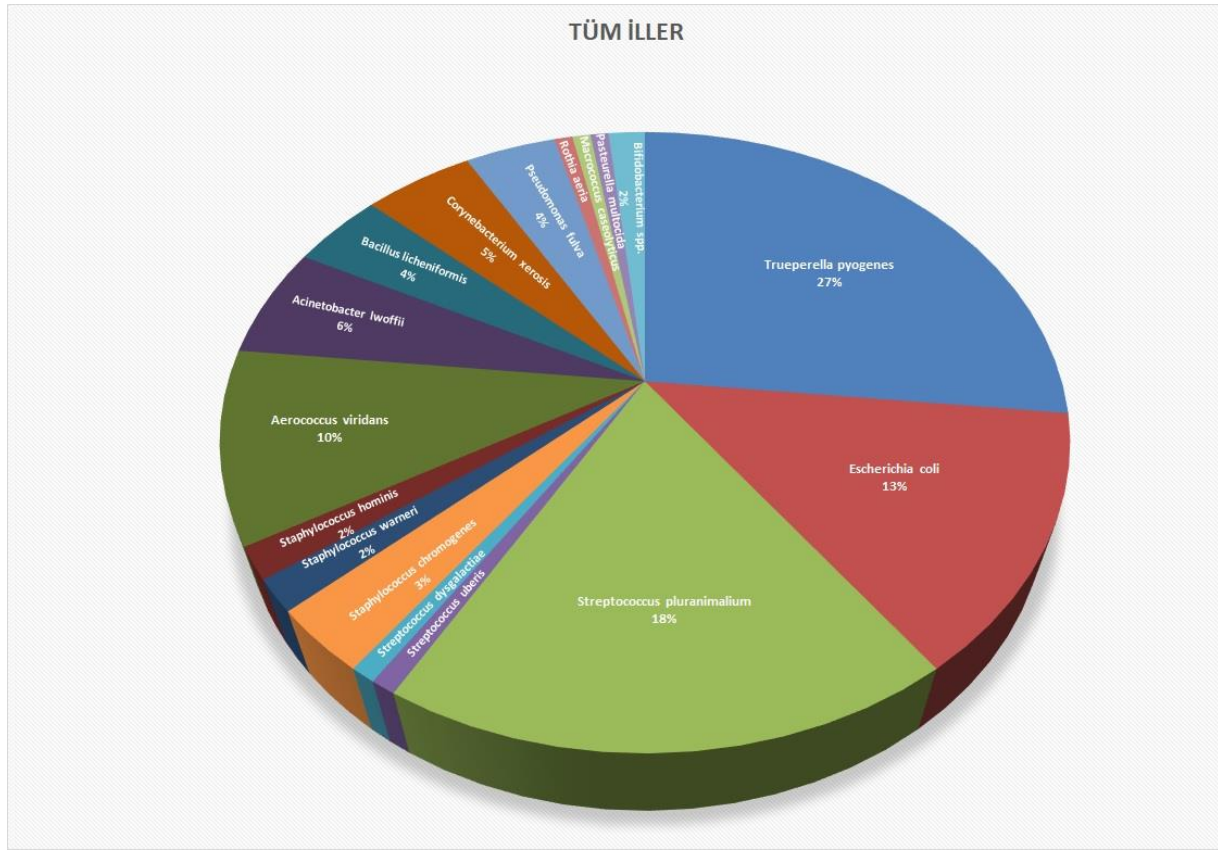
## 4. BULGULAR

Bu çalışmada Aydın, Denizli ve Muğla'da bulunan çeşitli işletmelerden (her ilden 50 adet olmak üzere) doğum sonrası 3 hafta içerisinde endometritis şüpheli toplamda 150 inekten aseptik ve tekniğe uygun olarak alınan vajinal akıntı numuneleri, endometritise neden olan bakteriyel etkenlerin MALDI-TOF MS ile teşhisi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi yapılmıştır.

Çalışmamızda toplamdan 150 tane alınan örnekten 60 tanesinde (%40) bakteriyel üreme tespit edilememiştir. Bakteriyel üreme tespit edilememe illere göre; Aydın ilinden alınan örneklerde %13'ünde, Denizli ilinden alınan örneklerde %12'sinde ve Muğla ilinden alınan örneklerde ise %15 olarak analiz edilmiştir.

### 4.1. MALDITOF MS Sonuçları

Araştırmamızda toplamda 150 adet uterustan aseptik koşullarda swap örneği alındı. Aydın ilinden alınan 50 örnekten 45 izolat, Denizli ilinden alınan 50 örnekten 43 izolat, Muğla ilinden alınan 50 örnekten 32 izolat elde edilmiştir. İzolatların bakteri identifikasyonu VITEK MS (MALDI-TOF MS) cihazı ile yapılmıştır. Yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda, izolatların 32 (%27)'si *Trueperella pyogenes*, 22 (%18)'si *Streptococcus pluranimalium*, 16 (%13)'sı *Escherichia coli*, 12 (%10)'si *Aerococcus viridans*, 7 (%6)'si *Acinetobacter lwoffii*, 6 (%5)'sı *Corynebacterium xerosis*, 5 (%4)'i *Bacillus licheniformis*, 5 (%4)'i *Pseudomonas fulva*, 4 (%3)'ü *Staphylococcus chromogenes*, 2 (%2)'si sırayla *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* ve *Bifidobacterium spp.* ve 1 (%1)'i sırasıyla *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Rothia aeria*, *Pasteurella multocida*, *Macroccoccus caseolyticus* olarak tespit edilmiştir (Şekil 7).



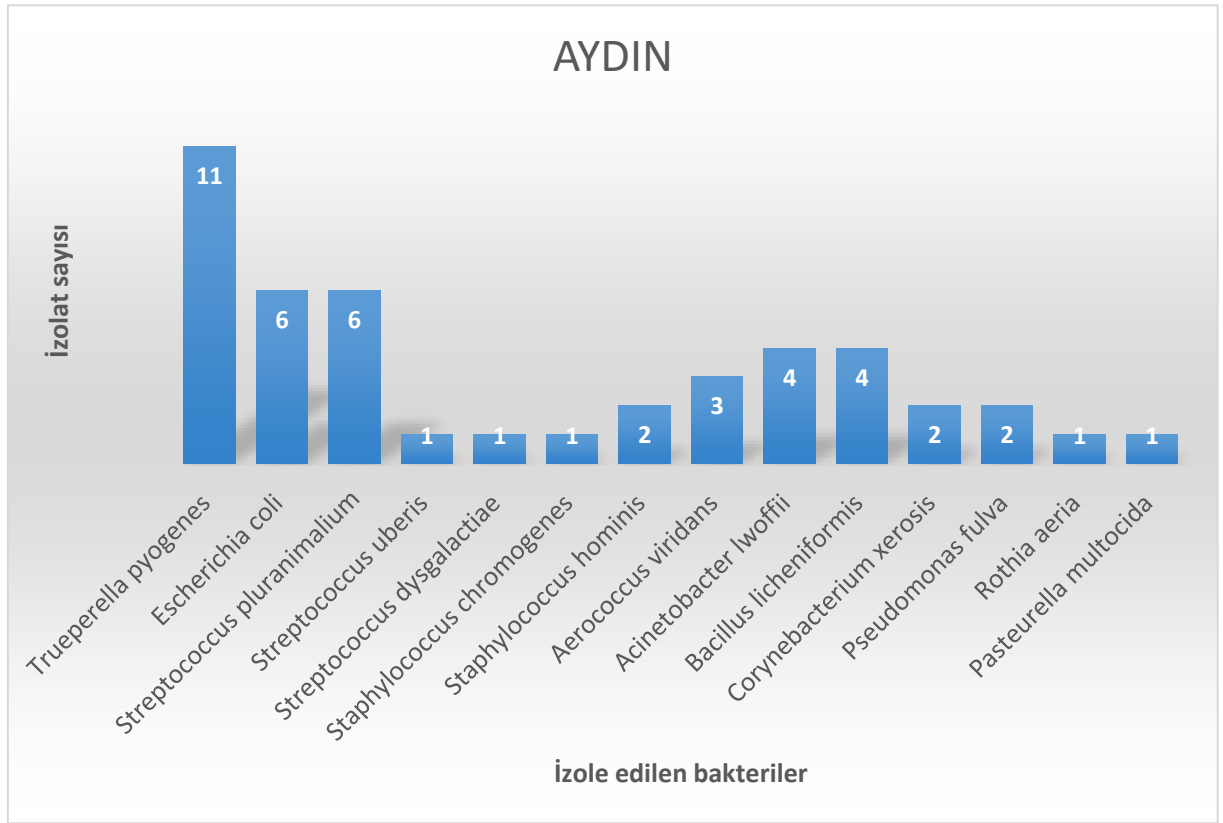
Şekil 7. İzole edilen bakteri türlerinin toplam dağılımı

Aydın bölgesinden alınan örneklerden toplamda 45 izolattan, %25'i *T. pyogenes*, %14'ü sırasıyla *E. coli* ve *S. plunarimalium* bakterileri olup, bu 3 bakteri diğer bakteri türlerinin toplamından bile daha yoğun olarak tespit edilmiştir (Şekil 8).

*T. pyogenes*, uzun yıllardan bu yana bölgedeki en büyük bakteriyel sorunlardan biridir. Kısa zaman içinde tedavi edilse bile artık bakteriyel dirençten kaynaklı işletmeye özel aşılar ile etkinliği azaltılmaya çalışılıyor.

*E. coli*, endometritiste her ne kadar örneklerde çıksa da infeksiyon oluşturma yüzdesi *T. pyogenes* kadar yüksek değildir.

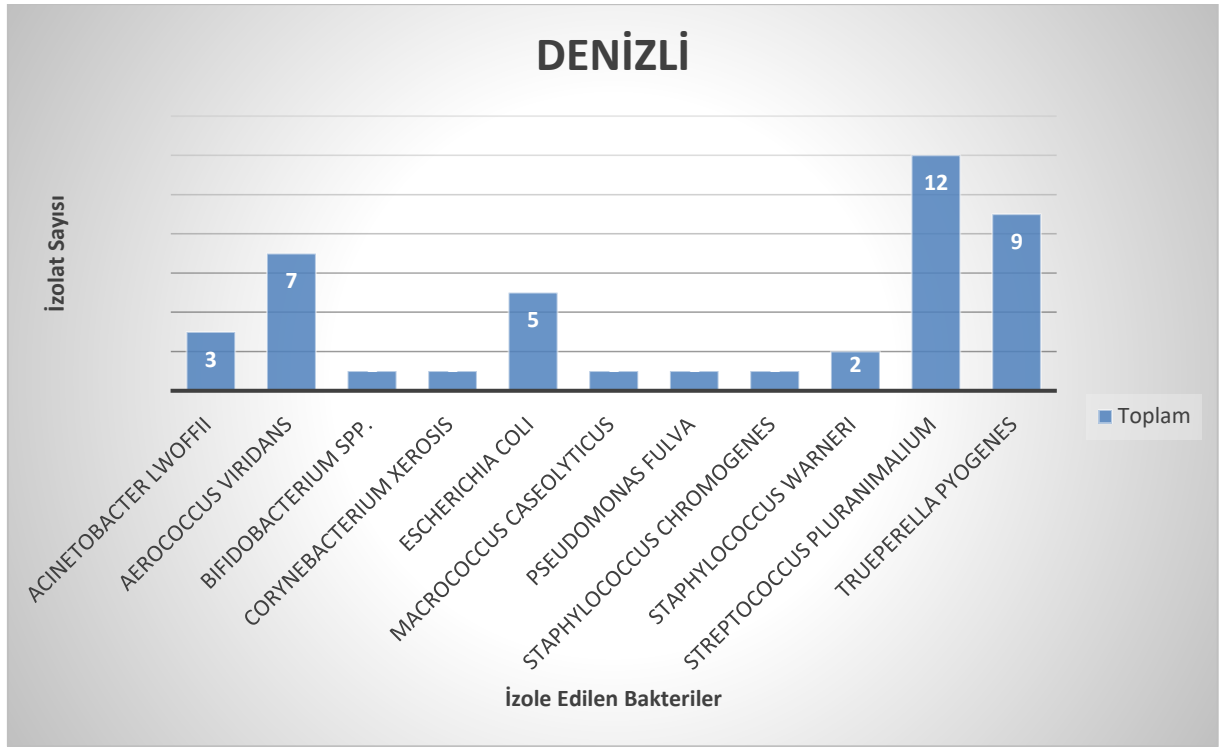
*S. plunarimalium* ise genellikle beşeri sağlıkta daha ön planda olan bir bakteri türüdür. Kolaylıkla tedavisi olan ancak oldukça bulaşıcı bir bakteri türüdür.



**Şekil 8.** Aydın ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı

Denizli bölgesinden alınan numunelerden 43 izolattan identifikasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda en çok identifiye olan bakteriler, %28'i *S. pluranimalium*, %21'i *T. pyogenes*, %16'sı *A. viridans* ve %12'si *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 9).

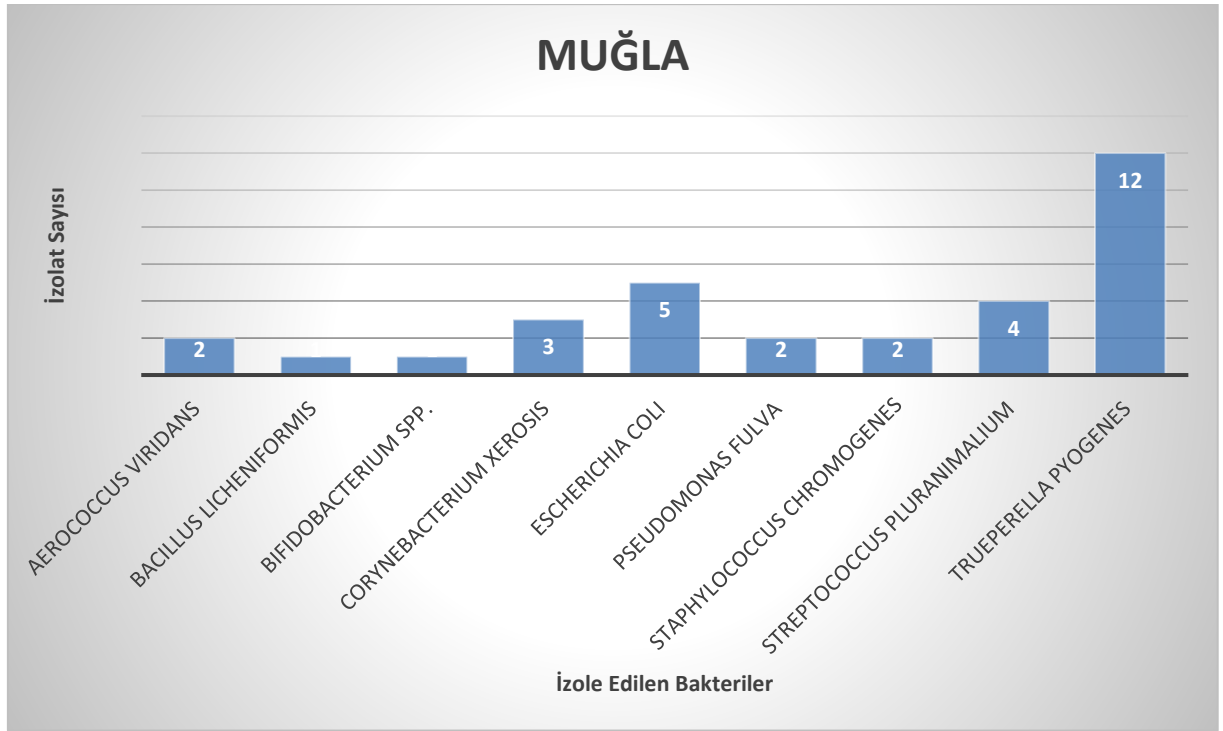
Denizli bölgesinde de Aydın ilindeki gibi veteriner hekimlikte daha önemli olan *T. pyogenes* yoğun olarak tespit edildi.



**Şekil 9.** Denizli ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı

Muğla bölgesinden alınan numunelerden 32 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların identifikasyonu sonucu en göze çarpan bakteriler sırasıyla %37,5'i *T. pyogenes*, %16'sı *E. coli*, %12,5'u *S. pluranimalium* ve %9'u *C. xerosis* olarak tespit edilmiştir (Şekil 10).

Burada farklılık olarak *C. xerosis* fırsatçı bir bakteri olarak göze çarpmaktadır. *S. pluranimalium* burada en yoğun bulunan bakteriyel etken olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 10.** Muğla ilinde izole edilen bakteri türlerinin dağılımı

MADITOF- MS ile yapılan identifikasyonda tüm bu bölgelerdeki bakteri türleri içerisinde özellikle *T. pyogenes*, *S. pluranimalium* ve *E. coli* tüm bölgelerde en yüksek oranda izole edilen bakteriler olmuştur. Ayrıca *A. viridans* ve *C. xerosis* de bölge hayvan transportunun yoğun olarak yapıldığı noktalarda belli bir yoğunlukta izole edilmiştir.

Veteriner sahada endometritiste en yoğun gözlemlenen patojenler *T. pyogenes* ve *E. coli* olduğu görülmektedir. Ege bölgesi genelinde yapılan tüm çalışmalarda da son 10 yıldır en yoğun endometritise sebep olan en önemli iki patojen olarak tanımlayabiliriz.

#### 4.2. Antibiyogram Sonuçları

Çalışmamızda tiplendirilmesi yapılan izolatların CLSI (2017) standartlarına göre değerlendirilen antibiyogram sonuçları Şekil 11’de belirtilmektedir.

| Endometritis İzolatları            | Amoxicillin-<br>Clavulanic acid<br>30 µg | Ampicillin<br>10 µg | Ceftiofur<br>30 µg | Enrofloxacin<br>5 µg | Erythromycin<br>15 µg | Gentamicin<br>10 µg | Kanamycin<br>30 µg | Penicillin G<br>10 µg | Tetracycline<br>30 µg |
|------------------------------------|------------------------------------------|---------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>Trueperella pyogenes</i>        | R                                        | R                   | I                  | S                    | R                     | S                   | R                  | R                     | S                     |
| <i>Escherichia coli</i>            | R                                        | R                   | S                  | I                    | R                     | S                   | I                  | R                     | R                     |
| <i>Streptococcus pluranimalium</i> | R                                        | S                   | S                  | I                    | I                     | R                   | R                  | R                     | S                     |
| <i>Streptococcus uberis</i>        | R                                        | R                   | S                  | I                    | S                     | R                   | R                  | S                     | R                     |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i>  | R                                        | R                   | I                  | I                    | I                     | R                   | R                  | R                     | R                     |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i>  | R                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | R                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Staphylococcus warneri</i>      | R                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | R                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Staphylococcus hominis</i>      | R                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | R                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Aerococcus viridans</i>         | I                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | R                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Acinetobacter lwoffii</i>       | R                                        | S                   | I                  | I                    | R                     | S                   | S                  | R                     | S                     |
| <i>Bacillus licheniformis</i>      | R                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | S                   | S                  | R                     | S                     |
| <i>Corynebacterium xerosis</i>     | I                                        | S                   | S                  | I                    | S                     | S                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Pseudomonas fulva</i>           | R                                        | S                   | S                  | I                    | I                     | I                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Rothia aeria</i>                | R                                        | S                   | S                  | I                    | I                     | S                   | I                  | S                     | S                     |
| <i>Pasteurella multocida</i>       | S                                        | S                   | S                  | S                    | I                     | S                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Macrococcus caseolyticus</i>    | R                                        | S                   | S                  | I                    | I                     | R                   | S                  | S                     | S                     |
| <i>Bifidobacterium spp.</i>        | I                                        | S                   | S                  | S                    | S                     | S                   | S                  | S                     | S                     |

**Şekil 11.** İzolatların antibiyogram sonuçları

S: Duyarlı  
I: Orta Derece Duyarlı  
R: Dirençli

Antibiyogram testlerinden de görüleceği gibi seftiofur, tetrasiklin, ampisilin, enrofloksasin ve kanamisin endometritis infeksiyonlarında izole edilen etkenlere karşı genel olarak en çok duyarlılık tespit edilen antibiyotik etkenleri olarak bulunmuştur.

Düşük oranda tespit edilen bakteri türlerinden (<%9) testi yapılan birçok antibiyotik grubuna karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir. En çok izole edilen *T. pyogenes* ve *E. coli* izolatları ise veteriner sahada tedavide çok sık olarak uygulanan penisilin, amoksisilin-klavulanik asit ve ampisilin etkenlerine karşı dirençli olarak tespit edilmiştir (Şekil 11).

Sonuçlara bakıldığında büyükbaş hekimliğinde sıklıkla kullanılan ve sahada ticari preparatları da sayıca fazla bulunan seftiofur antibiyotik etkeninin dirençli olduğu izolat tespit edilmemiştir. Tetrasiklin etken maddesine karşı tespit edilen 17 bakteri türünden sadece *E. coli*, *S. uberis* ve *S. dysgalactiae* izolatlarına karşı direnç tespit edilmiştir (Şekil 11).

Penisilin G *S. uberis* hariç diğer streptokok türlerinde dirençli olarak tespit edilmiştir (Şekil 11).

Ampisilin *T. pyogenes*, *E. coli*, *S. uberis* ve *S. dysgalactiae* bakteri türlerine karşı dirençli, diğer bakteri türlerinde ise duyarlı halde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 11).

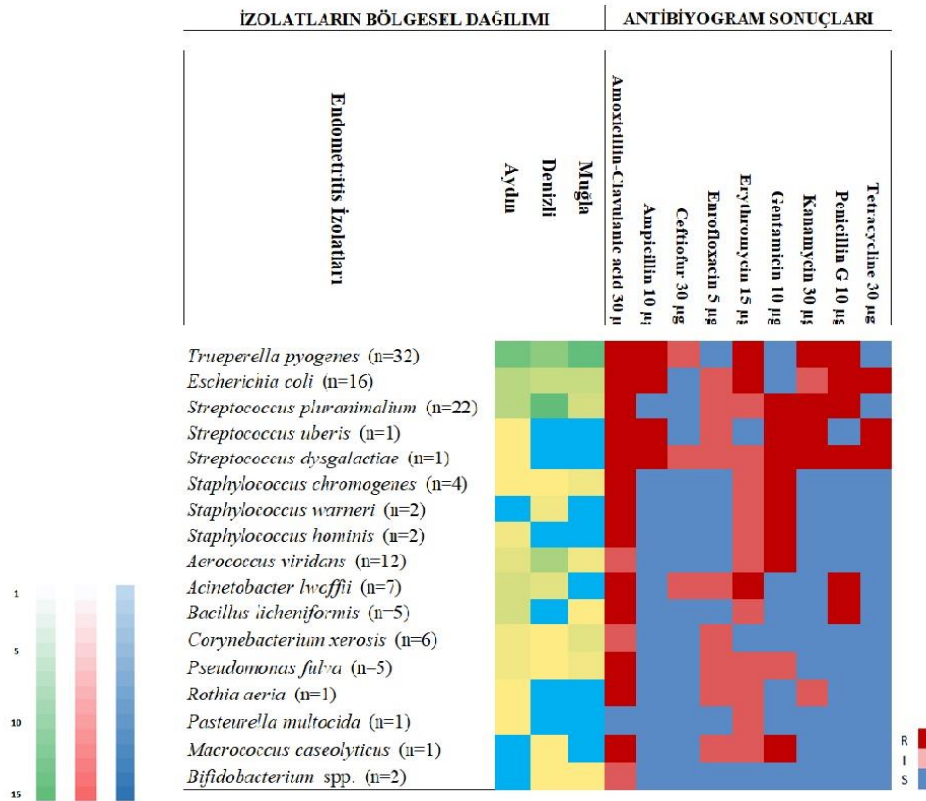
Amoksisilin-klavulanik asit *A. viridans*, *C. xerosis* ve *Bifidobacterium spp.* haricindeki teşhis edilen tüm izolatlarda dirençli olarak tespit edilmiştir (Şekil 11).

Enrofloksasine karşı tespit ettiğimiz bakteri türlerinin hiçbirinde dirençlilik olmadığı, %47'si duyarlı, %53 ise orta derece duyarlı olduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 11).

Endometritis olgularından identifiye edilen bakteriyel izolatların bölgesel yoğunluk ve antibiyotik duyarlılık ısı grafiği Şekil 12'de gösterilmektedir. İşı haritasında görüldüğü üzere gram pozitif bakteri türleri (%77) endometritiste hastalık oluşturma prevalansının daha yoğun olduğu gözlenmektedir. Gram negatif bakteriler içerisinde *E. coli* en göze çarpan bakteridir. Bir diğer husus ise birçok bakteri türü fakültatif anaerob olmasıdır (Şekil 12).

Ayrıca bu grup bakterilere karşı da ampisilin, seftiofur ve tetrasiklin gruplarının daha duyarlı olduğu net bir şekilde görülmektedir. İzolatlarda en çok bulunan bakteri türlerine bakıldığında ise *T. pyogenes* ve *E. coli* etkenlerine karşı tek duyarlı antibiyotik grubunun gentamisin olduğunu görülmüştür (Şekil 12).

Ayrıca gram negatif bakterilere karşı gentamisin en duyarlı antibiyotik grubu olarak tespit edilmiştir. Ayrıca %60'ın üzerinde diğer antibiyotik gruplarında da gram negatif bakterilere karşı direnç gözlemlenmemiştir (Şekil 12).



Şekil 12. İzolatların bölgesel yoğunluk ve antibiyotik duyarlılık ısı grafiği

## 5. TARTIŞMA

Endometritis, doğum sonrası sıklıkla rastlanan uterusun endometrium tabakasındaki yangısıdır. Endometritis sonucu uterus mikrobiyotasındaki değişimler uzun yıllar boyunca incelense de bölgesel veya ineklerin çevresel patojenlere göre uyumu süresince değişimler olduğu gözlenmiştir. Bizlerde bu çalışmada farklılık olarak son zamanlarda hem sütte hem de vajinal akıntılardan alınan örnekleri MALDITOF-MS yöntemiyle bakterileri daha detaylı inceleme fırsatı yakaladık. Tespit ettiğimiz bakteri türlerinin fakültatif anaerob bakteriler bakımından patojenite yapma yetenekleri ve antibiyotik duyarlılık testlerindeki sonuçlarında zaman içerisinde hem antibiyotik duyarlılıklarının azalması hem de bakteri türlerinde sıralamasının değişmesini de incelemiş olduk. Sonuçlardan da görüleceği gibi *T. pyogenes* ve *E. coli* en yoğun çıkan bakteri türleri olurken bu çalışmada uterusu etkisinin tam olarak çözilemeyen, normal mikrobiyotada da olabileceğini düşünülen *S. pluranimalium* da özellikle Ege bölgesi içinde çok önemli bir bakteri türü olduğunu tespit ettik. Streptokok infeksiyonları özellikle meme mikrobiyotasında oldukça patojen etkinliğinin olduğunu birçok çalışmada görmemize rağmen uterusu memeye göre yoğun bir streptokok varlığı tespit etmedik.

Matzemberger ve diğerleri (2024) Brezilya'nın Santa Catarina eyaletinde 37 uterus numunesinden 55 bakteri izole etmişlerdir. Bu araştırma sonunda %25,4'ü *T. pyogenes* ve %16,3'ü *E. coli* olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da benzer oranlarda %27'si *T. pyogenes* ve %13'ü *E. coli* tespiti yapılmıştır. Kısıtlı bir alanda az sayıda numune alınmış olsa da her iki bakterinin en yüksek oranda identifikasyonun olması aslında iklim koşullarındaki benzerliklere bakılarak çevresel faktörlerin uterus mikrobiyotasındaki benzerlikleri de eşdeğer olarak değerlendirmesini ve antibiyotik direnç profillerini ortaya koyan bir araştırma olduğunu göstermiştir. Matzemberger ve diğerleri (2024) yaptığı çalışmada tetrasiklin duyarlılık oranı %43,7 iken bizde bu oran %82 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca hem *E. coli* de hem de *T. pyogenes* de gentamisine karşı %100 direnç tespit edilmiş, bizim çalışmamızda ise bu oran %100 duyarlı olarak tespit edilmiştir. Her iki çalışmada bakteriyel identifikasyon sonuçlarında bakteri türlerindeki yoğunluk birbirlerine benzerlik gösterse de etkinlik açısından bakteriyel ajanlar farklılık göstermiştir. Bunun çevre patojenlerinin tedavisinde kullanılan antibiyotik grubu ürünlerinin yoğun ve yanlış kullanımı sonucu olduğunu da tespit etmiş olduk.

Paiano ve diğerleri (2022) yaptıkları çalışmada toplamda 279 inekten alınan örneklerde, SCE'li hayvanlardan aldıkları vajinal akıntı örneklerinin yüzde 40'ında; CE'li hayvanlarda ise %18,1 oranında bakteriyel kültür negatif olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da Aydın, Denizli ve Muğla illerinden toplamda 150 örneğin %40'ında bakteriyel kültür negatif olarak tespit edildi.

Paiano ve diğerleri (2022) yaptıkları çalışmada izole ettikleri bakteriyel etkenleri MALDI-TOF MS ile analiz yapmışlardır. SCE'li hayvanlardan aldıkları numunelerde toplam 21; CE'li hayvanlardan aldıkları numunelerde ise toplamda 53 bakteri türü bakteri türü tespit etmişlerdir. Tespit edilen bakteri türlerinden 13 tanesi hem SCE hem de CE'de ortak olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda toplanan tüm örneklerde toplamda 17 bakteri türü tespit edildi.

Paiano ve diğerleri (2022), Werner ve diğerleri (2012) ve Wagener ve diğerleri (2014) Kuzey Avrupa'da yaptıkları çalışmalarda bizim sonuçlarımızda olduğu gibi CE vakalarında en çok izole edilen bakteri türünü *T. pyogenes* olarak tespit etmişlerdir.

Ballas ve diğerleri (2020) ve Ledgard ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmalarda örneklerden çıkan sonuçlara göre en çok çıkan *Streptokoklar* içinde birinci *S. pluranimalium* ikinci ise *S. uberis* olarak tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda *S. pluranimalium* un yararlı bir bakteri olduğunu düşünmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise izolatları içinde *Streptokok* olarak birinci sırada onlarda olduğu gibi *S. pluranimalium* tespit edilmiş ancak diğer taraftan *S. uberis* ve *S. dysgalactiae* ise sadece Aydın ilinde %1 oranında tespit edilmiştir.

Ballas ve diğerleri (2022) MALDI-TOF MS ile yaptıkları çalışmada en yaygın fakültatif anaerobik cinsler olarak %27,8'i *T. pyogenes*, %25,4 *Streptokoklar*, %13,1 ile *E. coli* tespit etmişlerdir. Sadece diğer çalışmalardan tek farkı araştırmanın bir işletme içindeki ineklerden olmasıdır. Buradaki en önemli identifikasyon yapılan bakteriler içerisinde *S. pluranimalium* göze çarpıyor. *S. pluranimalium*' un streptokoklar içinde en yoğun izole edilen bakteri türü olduğunu ayrıca hem sağlıklı uterusda hem de CE li uterusda bulunduğunu da tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise fakültatif anaerob olarak baktığımızda elde edilen izolatların %27'sini *T. pyogenes*, %20'sini *Streptokoklar* ve %13 *E. coli* ile her iki çalışmada da birbirine çok yakın sonuçlar gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada sağlıklı veya sağlıklısız ayrımı yapmadan aldığımız numunelerde de *S. pluranimalium* oranı her üç ilde de %18 civarında olduğunu belirledik. *S. pluranimalium* uterus için yararlı bir bakteri türü

olabileceğini düşündüren bir sonuç olarak her iki çalışmada da bu tespitin yapılması aslında uterus mikrobiyotasının fertilité üzerinde patojen oluşturan streptokoklar açısından farklı bir pencere açmış olduğunu tespit ettik. Özellikle SCE vakalarında en sık izole edilen bakteri türü olan *E. coli*, diğer fakültatif anaerob bakteriler içerisinde patojenitesi en yüksek bakteri olarak göze çarpmıştır.

Galvão ve diğerleri (2019) ve Carneiro ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada *Fusobacterium necrophorum* tespit etmişler ayrıca bu çalışmalarda patojenitesi yüksek çıkmıştır. Çalışmamızda fakültatif anaerobik bakteriyel etken çalışması yapıldığından *Fusobacterium necrophorum* izolasyonu yapılmamıştır.

Baranski ve diğerleri (2012) yaptıkları uterusun sitoloji çalışmasında, uterusu %45 ile en çok *Streptococcus acidominimus* ve %26 ile ikinci *E. coli* bakterilerini bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda *E. coli* tespit edilmiştir. Ancak doğum sonrası süreçte Polonya da yapılan bu araştırmada MALTI-TOF MS kullanılmamıştır. Yine de Streptokok türlerinin oran açısından çok çıkması ve *E. coli* gibi fakültatif anaerobik bakterinin yüzdesel olarak tüm çalışmalarda ikinci veya üçüncü patojen olarak çıkması bizim çalışmamızda da olduğu gibi endometritis için önemli bir bakteri olduğunu burada da göstermiştir.

Paiano ve diğerleri (2022) yaptıkları çalışmada CE'li ineklerde *T. pyogenes* ve *E. coli* dışında *F. necrophorum* da tespit edilmiştir. Çalışmamızda fakültatif anaerob bakteriler üzerine olduğu için *F. necrophorum* tespiti olmamıştır.

Waganer ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada *S. uberis*'in spesifik biyotiplerinin uterus sağlığı durumu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda *S. uberis* sadece %1 izolatta tespit edilmiştir. *S. uberis* iyi bir meme patojeni olarak bilinir ve inatçı olarak burada bir biyofilm tabakası oluşturur. Aynı etkinin uterus mikrobiyotasında da yaptığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu oranın çok az olması, çalışma yaptığımız ineklerde uterus mikrobiyotası her ne kadar streptokok yoğunluğu bol olsa da temizlik ve hijyen açısından bu çalışmaya nazaran oldukça pozitif bir farklılık olduğunu tespitini yaptırmıştır.

Ballas ve diğerleri (2021) yaptığı çalışmada toplamda 120 süt ineğinden alınan numunelerde prevalansı en yüksek bakteri, streptokoklar içinde %90'ını oluşturan *S. pluranimalium* olarak tespit etmişler, %1 civarında *E. coli* ve *T. pyogenes* nadiren rastlamışlardır. Bizim çalışmamızda ise en yoğun bakteri türleri olarak *T. pyogenes* ve *E. coli* olurken üçüncü sırada *S. pluranimalium* tespiti yapılmıştır. Burada sağlıklı hayvanlar açısından bakıldığında *S. pluranimalium* oranının yüksek olması gayet normalken, SCE veya

CE'li hayvanlarda da bu oranların çıkması her iki çalışma açısından bakıldığında uterus için yararlı bir patojen tespiti için önemli bir bulgu olarak göze çarpmıştır. *B. licheniformis* açısından ise bu çalışmada *Basilluslar* içerisinde %42 gibi bir oranda varlığını belli etmiştir. Bizim çalışmamızda ise *B. licheniformis* %4 oranında bulunmuş ve Denizli ilinde hiç rastlanmamıştır.

Mekibib ve diğerleri (2023) yaptığı çalışmada *E. coli* de tetrasiklin grubu antibiyotiklere orta derece duyarlı, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı, ampisilin grubu antibiyotiklere orta derece duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tetrasiklin grubu antibiyotiklerine karşı dirençli, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı, ampisilin grubu antibiyotiklere karşı dirençli olarak tespit ettik. *T. pyogenes* tetrasiklin grubu antibiyotiklere orta derece duyarlı, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı, ampisilin grubu antibiyotiklere orta derece duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tetrasiklin grubu antibiyotiklerine karşı dirençli, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı, ampisilin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı olarak tespit ettik. Streptokok türlerinde tetrasiklin grubu antibiyotiklere orta derece duyarlı, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı duyarlı, ampisilin grubu antibiyotiklere duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tetrasiklin grubu antibiyotiklerine karşı *S. pluranimalium* hariç dirençli, gentamisin grubu antibiyotiklere karşı dirençli, ampisilin grubu antibiyotiklere karşı *S. pluranimalium* hariç dirençli olarak tespit ettik.

Pande ve diğerleri (2022) yaptıkları çalışmada elde ettikleri izolatlardan tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı %48,5 duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Bunun yanında ampisilin, gentamisin ve penisilin g grubu antibiyotiklere karşı herhangi bir üreme olmadığı ve dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı %82 oranında duyarlı olduğunu gözlemledik. Ayrıca tespit ettiğimiz izolatlarda ampisilin grubu antibiyotiklere karşı %76, gentamisin grubu antibiyotiklere %47, penisilin g grubu antibiyotiklere ise %65 oranında duyarlılık tespitinde bulunduk.

Sharma ve diğerleri (2009) yaptığı çalışmada 238 uterus numunesinden 147 izolat elde etmişlerdir. Üreyen bakteri cinslerine karşı yapılan antibiyogram testleri sonuçlarına göre sırasıyla %91,8 gentamisin grubu antibiyotiklere, %83,6 enrofloksasin grubu antibiyotiklere, %76,8 tetrasiklin grubu antibiyotiklere, %70 amoksisilin-klavulanik asit grubu antibiyotiklere ve %53,7 penisilin g grubu antibiyotiklere duyarlı olduğu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda tüm türlere göre antibiyogram duyarlılık sırasıyla %82 tetrasiklin grubu antibiyotiklere, %65 penisilin g grubu antibiyotiklere, %47 gentamisin grubu antibiyotiklere,

%46 enrofloksasin grubu antibiyotiklere ve %6 amoksisilin-klavulanik asit grubu antibiyotiklere duyarlı olduğunu tespiti gözlenmiştir. Ayrıca bizim çalışmamızda en yüksek duyarlılığı tetrasiklinden daha fazla oranda seftiofur grubu antibiyotiklerde olduğunu da sonuçlarımızda görmüş olduk.

Ingale ve diğerleri (2016) yılında *E. coli* patojenine karşı yapmış oldukları çalışmada antibiyogram sonuçları; tetrasiklin grubu antibiyotiklere %100 duyarlı ve gentamisin grubu antibiyotiklere %90 duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *E. coli* patojenine karşı tetrasiklin grubu antibiyotiklerde %100 dirençli ve gentamisin grubu antibiyotiklerde ise %100 duyarlı olarak tespiti yapılmıştır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Endometritis, süt ineklerinde infertilitenin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve süt endüstrisinde yüksek ekonomik kayıplara yol açan bir hastalıktır. Her ne kadar tedavisi yapılsa da buzağı alım süresinin uzamasına sebep olmaktadır.

Yapılan çalışma sonucunda, özellikle *T. pyogenes* ve *E. coli* açısından birçok araştırmada olduğu gibi endometritis vakalarından en çok izole edilen etkenler olduğu görülmüştür. Endometritis vakalarında bakteriyel teşhis ve teşhis edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılık testlerine göre tedavi protokollerinin düzenlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Çalışmada teşhis edilen bakteriyel etkenlerin zoonotik potansiyelleri de düşünüldüğünde halk sağlığı açısından antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi önemlidir.

Metritis tedavisinde, bölgelere göre mevcut mikrobiyotanın tespit edilmesi, patojen türlerin saptanması ve antibiyotik duyarlılık testleri ile çoklu antimikrobiyel direncin tespit edilmesine yönelik çalışma ve projelerin desteklenerek sürdürülmesi önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Agostinis, C., Mangogna, A., Bossi, F., Ricci, G., Kishore, U., Bulla, R. (2019). Uterine immunity and microbiota: a shifting paradigm. *Frontiers in Immunology*, 10, 485083.
- Azawi, O. I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science*, 105(3-4), 187-208. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.010>
- Ballas, P., Gabler, C., Wagener, K., Drillich, M., & Ehling-Schulz, M. (2020). Streptococcus uberis strains originating from bovine uteri provoke upregulation of pro-inflammatory factors mRNA expression of endometrial epithelial cells in vitro. *Veterinary Microbiology*, 245, 108710.
- Ballas, P., Pothmann, H., Pothmann, I., Drillich, M., Ehling-Schulz, M., & Wagener, K. (2022). Dynamics and diversity of intrauterine anaerobic microbiota in dairy cows with clinical and subclinical endometritis. *Animals*, 13(1), 82.
- Ballas, P., Reinländer, U., Schlegl, R., Ehling-Schulz, M., Drillich, M., Wagener, K. (2021). Characterization of intrauterine cultivable aerobic microbiota at the time of insemination in dairy cows with and without mild endometritis. *Theriogenology*, 159, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.10.018>
- Barański, W., Podhalecz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., Janowski, T. (2012). The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78(9), 1939-1947.
- Braga Paiano, R., Becker Birgel, D., Harry Birgel Junior, E. (2019). Uterine involution and reproductive performance in dairy cows with metabolic diseases. *Animals*, 9(3), 93.
- Canadas, E.R., Herlihy, M.M., Kenneally, J., Grant, J., Kearney, F., Lonergan, P., Butler, S. T. (2020). Associations between postpartum phenotypes, cow factors, genetic traits, and reproductive performance in seasonal-calving, pasture-based lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 1016-1030. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16001>
- Carneiro, L.C., Cronin, J.G., Sheldon, I.M. (2016). Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility. *Reproductive Biology*, 16(1), 1-7.

- Chen, C., Song, X., Wei, W., Zhong, H., Dai, J., Lan, Z., Jia, H. (2017). The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nature Communications*, 8(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>
- Cheong, S.H., Nydam, D.V., Galvão, K.N., Crosier, B.M., Gilbert, R.O. (2011). Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 762-770. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3439>
- Deng, F., McClure, M., Rorie, R., Wang, X., Chai, J., Wei, X., Zhao, J. (2019). The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0401-2>
- Drillich, M., Beetz, O., Pfützner, A., Sabin, M., Sabin, H. J., Kutzer, P., Heuwieser, W. (2001). Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(9), 2010-2017. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74644-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74644-9)
- Dzhurova, I., Güllübinov, G. (1981). Histological endometrial changes in cows with latent endometritis. *Veterinarno-medicinski Nauki*, 18(10), 98-103.
- El-Hayek, S., Clarke, H.J. (2016). Control of oocyte growth and development by intercellular communication within the follicular niche. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 191-224. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5_8)
- Fettweis, J.M., Serrano, M.G., Brooks, J.P., Edwards, D.J., Girerd, P.H., Parikh, H.I., Huang, B., Arodz, T.J., Edupuganti, L., Glascock, A.L., Xu, J., Jimenez, N.R., Vivadelli, S.C., Fong, S.S., Sheth, N.U., Jean, S., Lee, V., Bokhari, Y.A., Lara, A.M., Mistry, S.D., Duckworth, R.A., Bradley, S.P., Koparde, V.N., Orenda, X.V., Milton, S.H., Rozycki, S.K., Matveyev, A.V., Wright, M.L., Huzurbazar, S.V., Jackson, E.M., Smirnova, E., Korlach, J., Tsai, Y.C., Dickinson, M.R., Brooks, J.L., Drake, J.I., Chaffin, D.O., Sexton, A.L., Gravett, M.G., Rubens, C.E., Wijesooriya, N.R., Hendricks-Muñoz, K.D., Jefferson, K.K., Strauss, J.F., Buck, G.A. (2019). The vaginal microbiome and preterm birth. *Nature Medicine*, 25(6), 1012-1021. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0450-2>
- Foldi, J., Kulksar, M., Pecs, A., Lohuis, J.A.C.M. (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 265-281. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.08.006>

- Galvão, K.N. (2012). Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Animal Reproduction*, 9(3), 290-296.
- Galvão, K.N. (2018). Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Animal Reproduction*, 9(3), 290-296.
- Galvão, K.N., Bicalho, R.C., Jeon, S.J. (2019). Symposium review: The uterine microbiome associated with the development of uterine disease in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 11786-11797. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17106>
- Ghavi Hossein-Zadeh, N., Ardalan, M. (2011). Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Veterinary Research Communications*, 35, 345-354. <https://doi.org/10.1007/s11259-011-9479-5>
- Giannattasio-Ferraz, S., Laguardia-Nascimento, M., Gasparini, M.R., Leite, L.R., Araujo, F. M.G., de Matos Salim, A.C., Barbosa-Stancioli, E.F. (2019). A common vaginal microbiota composition among breeds of *Bos taurus indicus* (Gyr and Nellore). *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(4), 1115-1124. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00120-3>
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L. and Erb, H.N. (2006). *Production Diseases in Farm Animals: Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64, 1879-1888. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.022>
- Goltsman, D.S.A., Sun, C.L., Proctor, D.M., DiGiulio, D.B., Robaczewska, A., Thomas, B. C., Relman, D.A. (2018). Metagenomic analysis with strain-level resolution reveals fine-scale variation in the human pregnancy microbiome. *Genome Research*, 28(10), 1467-1480. <https://doi.org/10.1101/gr.236000.118>
- Griffin, J.F.T., Hartigan, P.J., Nunn, W.R. (1974). Non-specific uterine infection and bovine fertility: I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology*, 1: 91-106. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(74\)90052-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(74)90052-1)
- Gustafsson, B.K. (1984). Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the uterus in large animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(10), 1194-1198.

- Hartigan, P.J., Griffin, J.F.T., Nunn, W.R. (1974). Some observations on *Corynebacterium pyogenes* infection of the bovine uterus. *Theriogenology*, 1:153-166.
- Ingale, A.M., Rai, R.B., Saminathan, M., Vadhana, P., Hingade, S.S., Dhama, K., Singh, R. (2016). Isolation, PCR detection, pathotyping and antibiogram profiling of *Escherichia coli* associated with endometritis in buffaloes. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(5).
- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N. (2015). *Pathology of domestic animals* (6<sup>th</sup> ed.). California: Academic Press.
- Karstrup, C.C., Klitgaard, K., Jensen, T.K., Agerholm, J.S., Pedersen, H.G. (2017). Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology*, 99, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.013>
- Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1-2), 9-23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
- Knight, R., Callewaert, C., Marotz, C., Hyde, E.R., Debelius, J.W., McDonald, D., Sogin, M.L. (2017). The microbiome and human biology. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 18, 65-86. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083115-022438>
- Laguardia-Nascimento, M., Branco, K.M.G.R., Gasparini, M.R., Giannattasio-Ferraz, S., Leite, L.R., Araujo, F.M.G., Nicoli, J.R., Barbosa-Stancioli, E.F. (2015). Vaginal microbiome characterization of Nellore cattle using metagenomic analysis. *PLoS One*, 10(11), e0143294. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143294>
- LeBlanc, S.J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Veterinary Journal*, 176, 102-114. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019>
- LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(9), 2223-2236. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74302-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6)
- LeBlanc, S.J., Osawa, T., Dubuc, J. (2011). Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 76, 1610-1618. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.017>

- Ledgard, A.M., Smolenski, G.A., Henderson, H., Lee, R.F. (2015). Influence of pathogenic bacteria species present in the postpartum bovine uterus on proteome profiles. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(2), 395-406.
- Lewis, G.S. (1997). Uterine health and disorders. *Journal of Dairy Science*, 80, 984-994. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76024-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76024-7)
- Machado, V.S., Bicalho, M.L.S., Pereira, R.V., Caixeta, L. S., Bittar, J.H.J., Oikonomou, G., Bicalho, R.C. (2012). The effect of intrauterine administration of mannose or bacteriophage on uterine health and fertility of dairy cows with special focus on *Escherichia coli* and *Arcanobacterium pyogenes*. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3100-3109.
- Madoz, L.V., Giuliadori, M.J., Migliorisi, A.L., Jaureguiberry, M., de la Sota, R.L. (2014). Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 195-201. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6836>
- Mahalingam, S., Dharumadurai, D., Archunan, G. (2019). Vaginal microbiome analysis of buffalo (*Bubalus bubalis*) during estrous cycle using high-throughput amplicon sequence of 16S rRNA gene. *Symbiosis*, 78(1), 97-106. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-00595-y>
- Markusfeld, O. (1984). Factors responsible for post parturient metritis in dairy cattle. *The Veterinary Record*, 114(22), 539-542. <https://doi.org/10.1136/vr.114.22.539>
- Markusfeld, O. (1987). Periparturient traits in seven high dairy herds. Incidence rates, association with parity, and interrelationships among traits. *Journal of Dairy Science*, 70(1), 158-166. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)79990-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79990-1)
- Matzemberger, B., Fantinel, D. D. S., Rodrigues, C. M., da Silva, S. P., Marin, M. H. D. B., Rosa, D. S., ... & Girardini, L. K. (2024). Antimicrobial efficiency of bromhexine hydrochloride against endometritis-causing *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* in bovines. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-12.
- McEntee, K. (1990). *Reproductive pathology of domestic animals* (1<sup>st</sup> ed.). California: Academic Press.

- Mekibib, B., Belachew, M., Asrade, B., Abebe, R. (2023). Isolation, identification, and antibiogram profiles of bacteria from dairy cows with postpartum uterine infection in southern Ethiopia. *BMC Microbiology*,
- Miranda-CasoLuengo, R., Lu, J., Williams, E.J., Miranda-CasoLuengo, A.A., Carrington, S.D., Evans, A.C., Meijer, W.G. (2019). Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endometritis. *PLoS One*, 14(1), e0200974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200974>
- Moore, S.G., Ericsson, A.C., Poock, S.E., Melendez, P., Lucy, M.C. (2017). Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4953-4960. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12592>
- Morrow D.A. (1986). *Current Therapy in Theriogenology* (2<sup>nd</sup> ed.). Philadelphia: Saunders.
- Mounir, A., Rachid, K., Christian, H., Gary, C.W. (2017). Risk factors of clinical and subclinical endometritis in cattle: a review, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 41, 1-11. <https://doi.org/10.3906/vet-1603-63>
- Nesengani, L.T., Wang, J., Yang, Y., Yang, L., Lu, W. (2017). Unravelling vaginal microbial genetic diversity and abundance between Holstein and Fleckvieh cattle. *RSC Advances*, 7(88), 56137-56143. <https://doi.org/10.1039/C7RA10553C>
- Paiano, R.B., Birgel, D.B., Bonilla, J., Birgel Junior, E.H. (2020). Alterations in biochemical profiles and reproduction performance in postpartum dairy cows with metritis. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(11), 1599-1606.
- Paiano, R.B., Moreno, L.Z., Gomes, V.T.D.M., Parra, B.M., Barbosa, M.R., Sato, M.I.Z., Moreno, A. M. (2022). Assessment of the main pathogens associated with clinical and subclinical endometritis in cows by culture and MALDI-TOF mass spectrometry identification. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3367-3376.
- Pande, M., Kumar, S., Soni, Y.K., Prasad, N., Chand, N. (2022). Cytological, Bacteriological and Antibiogram Studies for the Management of Uterine Infection in Repeat Breeder Bovines. *Indian Journal of Animal Research*, 1, 6.

- Pascottini, O.B., Van Schyndel, S.J., Spricigo, J.F., Rousseau, J., Weese, J.S., LeBlanc, S.J. (2020). Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69317-z>
- Potter, T.J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P.J., Sheldon, I.M. (2010). Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 74(1), 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.023>
- Prunner, I., Wagener, K., Pothmann, H., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Risk factors for uterine diseases on small and medium sized dairy farms determined by clinical, bacteriological and cytological examinations. *Theriogenology*, 82, 857-865. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.06.015>
- Ribeiro, E.S., Lima, F.S., Greco, L.F., Bisinotto, R.S., Monteiro, A.P.A., Favoreto, M., Ayres, H., Marsola, R.S., Martinez, R., Thatcher, W.W., Santos, J. E. P. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5682-5697. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6335>
- Ryan, N.J., Meade, K.G., Williams, E.J., O'Farrelly, C., Grant, J., Evans, A.C., Beltman, M.E. (2020). Purulent vaginal discharge diagnosed in pasture-based Holstein-Friesian cows at 21 days postpartum is influenced by previous lactation milk yield and results in diminished fertility. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 666-675. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17116>
- Saini, P., Singh, M., Kumar, P. (2019). Fungal endometritis in bovines. *Open Veterinary Journal*, 9(1), 94-98. <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.16>
- Sharma, A., Singh, M., Kumar, P., Sharma, A., Neelam, A.M.J., Sharma, P. (2017). Postpartum Uterine Infections in Cows and Factors Affecting it—A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 1020-1028. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.123>
- Sheldon, I.M., Rycroft, A.N., Dogan, B., Craven, M., Bromfield, J.J., Chandler, A., Simpson, K.W. (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.

- Sheldon, I.M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., Schuberth, H.J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction*, 81(6), 1025-1032. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>
- Sheldon, I.M., Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*, 82, 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.006>
- Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>
- Shweta Sharma, S.S., Madhumeet Singh, M.S., Vasishta, N.K. (2009). Isolation and antimicrobial susceptibility of aerobic bacteria recovered from the uteri of dairy cows suffering from endometritis. *Indian Journal of Animal Sciences*, 79(3), 278.
- Singer, E., Bushnell, B., Coleman-Derr, D., Bowman, B., Bowers, R.M., Levy, A., Gies, E.A., Cheng, J.F., Copeland, A., Klenk, H.P., Hallam, S.J., Hugenholtz, P., Tringe, S.G., Woyke, T. (2016). High-resolution phylogenetic microbial community profiling. *The ISME journal*, 10(8), 2020-2032. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.249>
- Takamtha, A., Phanaratkitti, V., Adirekkiet, O., Panyapornwitaya, V., Boonyayatra, S., Kraesusukol, K. (2013). Prevalence of isolated bacteria from clinical endometritis uterine and antimicrobial susceptibility in postpartum dairy cows. *Chinag Mai Veterinary Journal*, 11(3), 237-245.
- Wagener, K., Gabler, C., Drillich, M. (2017). A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 94, 21-30. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.005s>
- Wagener, K., Grunert, T., Prunner, I., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. (2014). Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and *Trueperella pyogenes* in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis. *The Veterinary Journal*, 202(3), 527-532.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.11.004>

- Wang, M.L., Liu, M.C., Xu, J., An, L.G., Wang, J.F., Zhu, Y.H. (2018). Uterine microbiota of dairy cows with clinical and subclinical endometritis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2691. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02691>
- Wang, Y., Wang, J., Li, H., Fu, K., Pang, B., Yang, Y., Cao, R. (2018). Characterization of the cervical bacterial community in dairy cows with metritis and during different physiological phases. *Theriogenology*, 108, 306-313. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.028>
- Williams, E.J., Fischer, D.P., Pfeiffer, D.U., England, G.C., Noakes, D.E., Dobson, H., Sheldon, I.M. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*. 63, 102-117. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.03.017>
- Yeoman, C.J., Ishaq, S.L., Bichi, E., Olivo, S.K., Lowe, J., Aldridge, B.M. (2018). Biogeographical differences in the influence of maternal microbial sources on the early successional development of the bovine neonatal gastrointestinal tract. *Scientific Reports*, 8(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21440-8>