

1-1-2003

Isolation of *Klebsiella pneumoniae* from Mares with Metritis and Stallions, Detection of Biotypes and Capsule Types

N. YAKUT ÖZGÜR

ARZU FUNDA BAĞCIGİL

SERKAN İKİZ

M. RAGIP KILIÇARSLAN

BABÜR CARIÖĞLU

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary>



Part of the [Animal Sciences Commons](#), and the [Veterinary Medicine Commons](#)

Recommended Citation

ÖZGÜR, N. YAKUT; BAĞCIGİL, ARZU FUNDA; İKİZ, SERKAN; KILIÇARSLAN, M. RAGIP; CARIÖĞLU, BABÜR; and ILGAZ, ATILLA (2003) "Isolation of *Klebsiella pneumoniae* from Mares with Metritis and Stallions, Detection of Biotypes and Capsule Types," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*: Vol. 27: No. 1, Article 33. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol27/iss1/33>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Isolation of *Klebsiella pneumoniae* from Mares with Metritis and Stallions, Detection of Biotypes and Capsule Types

Authors

N. YAKUT ÖZGÜR, ARZU FUNDA BAĞCIGİL, SERKAN İKİZ, M. RAGIP KILIÇARSLAN, BABÜR CARIÖĞLU,
and ATILLA ILGAZ

Metritisli Kısraklardan ve Aygırlardan *Klebsiella pneumoniae* İzolasyonu, Kapsül Tiplerinin ve Biotiplerinin Belirlenmesi*

N. Yakut ÖZGÜR, A. Funda BAĞCIGİL, Serkan İKİZ

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

M. Ragıp KILIÇARSLAN

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Babür CARIÖĞLU

İzmit Pansiyon Hara, İzmit - TÜRKİYE

Atilla ILGAZ

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 29.03.2002

Özet: 2000-2001 yıllarında Türkiye'de yarış atı yetiştiriciliğinin yoğun olduğu Marmara Bölgesindeki safkan damızlık kısraklarda *Klebsiella pneumoniae*'nin neden olduğu metritis olgularının sıklığı araştırıldı. Ayrıca İzmit yöresinde bir aşım merkezinde bulunan safkan aygırlar *Klebsiella pneumoniae*'nin varlığı yönünden incelendi. İzolatların biyotipleri ve kapsül tipleri belirlendi ve antibiyotiklere duyarlılıkları saptandı.

Elli altı metritisli kısraktan alınan intrauterin svap örneği ile 27 aygırdan alınan üretral fossa svapı ve sperma örnekleri incelendi. Kısrakların 13 (% 23,2)'ünden ve aygırların 2 (% 7,4)'sinden *K. pneumoniae* izole edildi. İzolatların üreaz oluşumu ile sorboz ve dulcitolü fermente etme özelliklerine göre yapılan biyotiplendirme sonucunda, kısraklardan izole edilen 13 *K. pneumoniae* izolatından 3'ü biyotip 1, 5'i biyotip 2 ve 5'i biyotip 3 olarak tiplendirildi. Aygırlardan izole edilen her iki izolatın da biyotip 3 olduğu belirlendi.

İzolatlar kapsül tip 1-6 antiserumları (Denka SEIKEN) kullanılarak tiplendirildi. Kısraklardan izole edilen 13 *K. pneumoniae* izolatından 3 (% 23)'ü kapsül tip 1 olarak tanımlandı ve biyotip 1'e aitti. Diğer 10 izolat ve aygırlardan izole edilen 2 izolat kapsül tip 1-6 olarak tanımlanamadı.

Kısraak ve aygırlardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarından yapılan antibiyotik duyarlılık testine göre, tüm izolatların enrofloxacin, gentamicin ve imipenem'e duyarlı, amoxicillin, erythromycin ve rifaximin'a dirençli oldukları saptandı. Diğer antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları değişiklik gösterdi.

Anahtar Sözcükler: *Klebsiella pneumoniae*, metritis, kısraak, aygır, kapsül tip, biyotip

Isolation of *Klebsiella pneumoniae* from Mares with Metritis and Stallions, Detection of Biotypes and Capsule Types

Abstract: In 2000-2001, the frequency of metritis cases due to *Klebsiella pneumoniae* was investigated in Thoroughbred breeding mares in the Marmara region of Turkey, where most racehorses are reared. In addition, Thoroughbred stallions from the breeding centre in the İzmit district were examined for the presence of *K. pneumoniae*. Biotypes and capsule types of the isolates were detected, and their antibiotic susceptibilities were determined.

Intrauterine swabs taken from 56 mares with metritis, and semen samples and swabs of urethral fossa from 27 stallions were investigated. *K. pneumoniae* was isolated from 13 (23.2%) mares and 2 (7.4%) stallions. Biotyping of the isolates was performed according to urease production, sorbose and dulcitol fermentation tests. Three of 13 *K. pneumoniae* isolates from mares were biotype-1, 5 were biotype-2 and 5 were biotype-3. Both isolates from the stallions belonged to biotype-3.

The isolates were tested using antisera for capsule types 1 to 6 (Denka SEIKEN). Three (23%) of the 13 isolates obtained from mares were identified as capsule type-1 and all of them were biotype-1. The remaining 10, and the 2 isolates from the stallions were not identified as capsule types 1 to 6.

With respect to antibiotic susceptibility tests of *K. pneumoniae* isolates from the mares and stallions, all isolates were sensitive to enrofloxacin, gentamicin and imipenem while being resistant to amoxicillin, erythromycin and rifaximin. Sensitivity to other antibiotics tested varied.

Key Words: *Klebsiella pneumoniae*, metritis, mare, stallion, capsule type, biotype

* Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje no: 1427/05052000

Giriş

Metritis, endometriumda meydana gelen akut ya da kronik yangısal değişimlerdir ve bu durum kısıraklarda infertilitenin önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir (1). Allen ve Newcombe (2), kısıraklarda metritise neden olarak infertiliteye yol açan bakterileri 3 gruba ayırmışlardır; 1. grupta fırsatçı patojenler olarak sınıflandırılan *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *S. dysgalactiae subsp. equisimilis*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus* türleri; 2. grupta venereal patojenler olarak sınıflandırılan *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae* kapsül tip 1, 2 ve 5, ve bazı *Pseudomonas aeruginosa* suşları; 3. grupta ara sıra patojenik olan mayalar, *Proteus vulgaris* ve bazı *P. aeruginosa* suşları bulunmaktadır. Kısıraklar için *T. equigenitalis* ve *K. pneumoniae* kapsül tip 1, 2 ve 5'in gerçek venereal patojenler olduğu belirtilmiştir (2,3,4).

Sağlıklı kısırakların genital florasında normal olarak bulunmayan venereal patojenler infekte kısıraklardan diğerlerine ya çiftleşme sırasında aygırlar aracılığı ile ya da genital muayene sırasında bulaşır (2,3,5,6). İnfekte aygırlarda açık bir klinik belirti saptanamayabilir ancak bu aygırların çiftleşme sırasında etkenleri kısıraklara bulaştırması sonucunda genital organlar etkenler tarafından infekte edilir. İnfekte kısıraklar, etkenler uterusdan uzaklaştırılıncaya kadar haftalarca hatta aylarca infekte olarak kalabilirler. Etkenlere karşı duyarlılığı saptanan antibiyotiklerle sağaltım, etkenlerin eliminasyonunu hızlandırmaktadır (2).

K. pneumoniae'nin neden olduğu metritis, ilk kez Dimock ve Edwards (7) tarafından kısıraklarda infertilitenin bir nedeni olarak bildirilmiştir. Kısıraklarda metritis salgınlarının çoğunlukla *K. pneumoniae* kapsül tip 1, 2 ve 5'ten ileri geldiği ve bu mikroorganizmaların bulaşmasında aygırların çok önemli rol oynadığı belirtilmiştir (7-10). Bu nedenle *K. pneumoniae*'nin patojenitesi düşük suşlarını metritis salgınlarına yol açan suşlardan ayırdetmenin çok önemli olduğu, kısıraklardan ya da aygırlardan *K. pneumoniae* izole edilmesi durumunda mutlaka kapsül tipinin belirlenmesi gerektiği vurgulanmıştır (11,12). Epidemiyolojik araştırmalar için kapsüller serotiplendirme ve biyotiplendirmenin birlikte uygulanmasının daha yararlı olacağı bildirilmiştir (13). Eguchi ve ark. (12) atlardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatları arasında 4 biyotip saptamışlardır. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının biyotiplendirmesi, sorboz ve dulsitol fermentasyonu ile üreaz aktivitesine göre

yapılmaktadır ve özellikle sorboz fermentasyonu biyotip 1 için önemli bir özelliktir. Araştırmacılar biyotip 1'in sorbozu fermente etmediğini, diğer biyotiplerin ise fermente ettiğini belirlemiş ve bu nedenle kısıraklarda *K. pneumoniae* kapsül tip 1'in identifikasyonunda sorboz fermentasyon testinin geçerli bir test olduğunu bildirmişlerdir. Biyotip 2, biyotip 3 ve 4'ten dulsitolü fermente etme yeteneğine göre ayrılırken, biyotip 3 ve 4 üreaz oluşturma yeteneklerine göre birbirinden ayırılır.

Ülkemizde at populasyonunun büyük kısmını oluşturan ve yarış atı yetiştirmek amacıyla kullanılan safkan damızlık kısıraklarda endometritis ve bunun sonucu şekillenen infertilite sorunlarıyla sık karşılaşmaktadır. Türkiye'de venereal patojenlerden *T. equigenitalis* ilk kez 1998 yılında metritisli ve infertilite sorunu olan iki kısıraktan izole edilmiştir (14). Yurdaydın ve ark. (15) ile Ülgen ve ark. (16) tarafından yapılan araştırmalarda infertil kısıraklardan diğer venereal patojen olan *K. pneumoniae*'nin izole edildiği bildirilmesine karşın, kapsüller serotiplendirme yapılmamıştır.

Bu araştırmada, yarış atı yetiştiriciliğinin yoğun olduğu Marmara Bölgesindeki safkan damızlık kısıraklarda *K. pneumoniae*'nin neden olduğu metritis olgularının sıklığının belirlenmesi, metritisli kısıraklardan ve aygırlardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının biyotiplerinin ve kapsül tiplerinin belirlenmesi ve izolatların antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Atlar: 2000-2001 yıllarında Marmara Bölgesinde yarış atı yetiştiriciliği yapılan haralarda metritis tanısı konulan 56 safkan damızlık kısırak ve İzmit yöresindeki bir aşım merkezinde bulunan 27 safkan aygır incelendi.

Örnekler: Metritisli kısıraklardan intrauterin svap örnekleri, aygırlardan üretral fossa svapları ve sperma örnekleri alındı. Svaplar kömürlü Amie's transport mediumlara aktarıldı, sperma örnekleri steril tüplere alındı. Örnekler buz kalıpları içeren termoslara konularak laboratuvara ulaştırıldı.

Bakteriyoloji

a. *K. pneumoniae*'nin izolasyon ve identifikasyonu: İntrauterin ve üretral fossa svaplarından direkt olarak, sperma örnekleri ise 12.000 g'de 15 dakika santrifüje

edildikten sonra dipteki çöküntüden, MacConkey agar ve Kanlı agara ekimler yapıldı ve aerobik koşullarda 37 °C de 24 saat inkube edildi. Koloniler morfolojik olarak incelendikten sonra, şüpheli kolonilerden Gram boyama yapıldı. İzolatların katalaz, oksidaz ve oksidasyon-fermentasyon özellikleri incelendikten sonra *K. pneumoniae*'nin identifikasyonu için gerekli olan hareket muayenesi, Voges Proskauer (VP) reaksiyonu, sitrat ve malonat utilizasyonu, nitrat reduksiyonu, indol, üre, H₂S oluşumu, jelatin, ONPG, lizin ve ornitin dekarboksilaz, arjinin dihidrolaz, fenilalanin deaminaz, eskulin hidrolizi ve karbonhidrat fermentasyon testleri (adonitol, arabinoz, dulsitol, fruktoz, galaktoz, glukoz, inositol, mannitol, rafinoz, salisin, sellobioz, sorboz, trehaloz) yapıldı (3).

b. Biyotiplendirme: İzolatların sorboz ve dulsitolü fermente etme ve üreaz oluşturma özelliklerine göre yapıldı (12).

c. Kapsül tiplendirme: Kapsülün belirgin olarak gelişimini sağlamak amacıyla izolatlardan Worfel-Ferguson agara pasaj yapılarak 37 °C de 18 saat inkube edildi. Her izolata ait kolonilerden PBS (pH 7) ile McFarland 10 yoğunluğunda süspansiyon hazırlanarak, *K. pneumoniae*'nin 6 kapsül tipine (kapsül tip 1-6) karşı hazırlanmış tip spesifik antiserumlar (Denka SEIKEN) ile lam aglutinasyon testi yapıldı (17). Pozitif kontrol olarak Dr. Toru Anzai (Equine Research Institute, Japan Racing Association, Kokubunji, Tochigi)'den sağlanan *K. pneumoniae* kapsül tip 1 suşu kullanıldı.

d. Kapsül şişme (Quellung) reaksiyonu: Pozitif aglutinasyonun doğrulanması amacıyla Casewell (17)'in yöntemine göre uygulandı.

Kapsül tipi belirlenen izolatların Worfel-Ferguson agardaki kolonilerinden PBS ile McFarland 2 yoğunluğuna göre süspansiyon hazırlandı. Bir öze dolusu süspansiyon eşit miktarda spesifik antiserumu ile karıştırılarak 2-3 dakika bekletildi. Üzerine bir damla çini mürekkebi damlatıldıktan sonra lamel kapatıldı ve immersiyon yağı damlatılarak 100 x objektif ile mikroskopta incelendi. Pozitif kontrol amacıyla, referans *K. pneumoniae* kapsül tip 1 suşundan hazırlanan süspansiyon, tip 1 antiserumu ile karıştırıldıktan sonra çini mürekkebi damlatılarak aynı tarzda incelendi. Negatif kontrol amacıyla, süspansiyon sadece çini mürekkebi ile karıştırıldıktan sonra mikroskopta incelendi. Basillerin hareket etmediği, çevresindeki kapsülün şiştiği ve sınırlarını belirleyen ince

siyah bir çizginin olduğu reaksiyon pozitif, basillerin pasif hareket yaptığı ve kapsül kenarlarının belirgin olmadığı reaksiyon negatif olarak değerlendirildi.

Antibiyotik Duyarlılık Testi: İzolatların antibiyotiklere duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi (18) ile saptandı. Bu amaçla, Amoxicillin, Amoxicillin/Clavulanic acid, Ampicillin, Ceftiofur, Enrofloxacin, Erythromycin, Gentamicin, Imipenem, Kanamycin, Neomycin, Penicillin G, Rifaximina, Streptomycin, Sulfamethoxazole / Trimethoprim diskleri (Oxoid) kullanıldı.

K. pneumoniae'nin izole edildiği kısrağın ve aygırların duyarlı olduğu belirlenen antibiyotiklerle tedaviye alındı. Kontrol amacıyla tedavilerden birer hafta sonra tekrar örnek alınarak *K. pneumoniae* yönünden incelendi.

Bulgular

a. İzolasyon ve identifikasyon bulguları

Metritisli kısrağın intrauterin svaplarından izolasyon: MacConkey agarların 37 °C'de 24 saat inkubasyondan sonra, 56 svap örneğinden 26'sının laktozu fermente eden koloniler oluşturduğu gözlemlendi. Kolonilerin morfolojik incelemesinde, 13 kısrağın svap örneklerine ait kültürlerdeki koloniler oldukça büyük mukoid koloniler tarzındaydı. Aynı örneklerin kanlı agarlarda oluşan kolonileri de büyük, nemli ve mukoid, krem renginde, non-hemolitik özellikteydi. Kolonilerden yapılan mikroskopik incelemede Gram negatif çomaklar görüldü. Diğer kültürler, koloni ve mikroskopik morfolojileri yönünden farklılık gösterdi.

Aygırların üretral fossa svapları ve sperma örneklerinden izolasyon: Yirmiyedi üretral fossa svabı ve sperma örneğinden ikisinin MacConkey ve kanlı agarlarda 24 saat inkubasyondan sonra, saf kültür halinde, Klebsiella morfolojisine benzer koloniler oluşturduğu gözlemlendi.

Kısrağlardan izole edilen 13 ve aygırlardan izole edilen 2 izolatın katalaz pozitif, oksidaz negatif ve fermentatif oldukları belirlendi. İzolatların biyotiplendirmede kullanılan sorboz ve dulsitolü fermente etme ile üreaz oluşturma yetenekleri dışındaki biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu özellikler temel alınarak 15 izolat *K. pneumoniae* olarak identifiye edildi.

Sonuç olarak 56 intrauterin svap örneğinin 13 (% 23.2)'ünden ve 27 üretral fossa svabı ve sperma örneğinin 2 (% 7.4)'sinden *K. pneumoniae* izole edildi.

Tablo 1. İzolatların biyokimyasal özellikleri.

	Pozitif	Negatif
Katalaz	15	0
Oksidaz	0	15
Oksidasyon-Fermentasyon	15	0
Hareket	0	15
VP	0	15
Sitrat	15	0
Malonat	15	0
Nitrat	15	0
İndol	0	15
H ₂ S	0	15
Jelatin	0	15
ONPG	15	0
Lizin dekarboksilaz	15	0
Ornitin dekarboksilaz	0	15
Arjinin dihidrolaz	0	15
Fenilalanin deaminaz	0	15
Eskulin	15	0
Adonitol	15	0
Arabinoz	15	0
Fruktoz	15	0
Galaktoz	15	0
Glukoz	15	0
İnositol	15	0
Mannitol	15	0
Rafinoz	15	0
Salisin	15	0
Sellobioz	15	0
Trehaloz	15	0

b. Biyotiplendirme: Kısraklardan izole edilen 13 *K. pneumoniae* izolatından 3 (% 23)'ünün sorboz fermentasyonu negatif, dulsitol fermentasyonu ve üreazı pozitif ve biyotip 1 olarak tiplendirildi. Diğer 10 izolatın sorboz fermentasyonu ve üreaz oluşumu pozitif. Bu izolatlar arasında dulsitol fermentasyonu yönünden farklılık saptandı. Dulsitolü fermente etmeyen 5 izolat biyotip 2, dulsitolü fermente eden diğer 5 izolat biyotip 3 olarak tiplendirildi. Aygırlardan izole edilen iki *K. pneumoniae* izolatının da sorboz ve dulsitolü fermente ettiği ve üreaz oluşturduğu saptandı ve biyotip 3'e ait oldukları belirlendi (Tablo 2). Biyotip 3'ü biyotip 4'ten ayıran üreaz oluşturma yeteneği, tüm biyotip-3 izolatlarında pozitif olduğu için, izolatlar arasında biyotip 4'e ait izolat saptanmadı.

Kısra ve aygırlardan izole edilen toplam 15 *K. pneumoniae* izolatından 3 (% 20)'ü biyotip 1, 5 (% 33)'i biyotip 2 ve 7 (% 47)'si biyotip 3 olarak belirlendi.

c. Kapsül tiplendirme: İzolatların Worfel-Ferguson agarda oluşan kolonilerinden hazırlanan süspansiyonların kapsül tip 1-6 antiserumlarıyla yapılan lam aglutinasyon testi sonucunda, kısraklardan izole edilen ve biyotip 1'e ait olduğu belirlenen 3 izolat, kapsül tip 1 antiserumu ile aglutinasyon oluşturdu ve *K. pneumoniae* kapsül tip 1 olarak tanımlandı. Kısraklardan izole edilen diğer 10 ve aygırlardan izole edilen iki *K. pneumoniae* izolatı, kapsül tip 1-6'ya karşı hazırlanmış antiserumların hiçbirisiyle aglutinasyon oluşturmadı (Tablo 2).

d. Quellung reaksiyonu: Pozitif aglutinasyonun doğrulanması amacıyla, *K. pneumoniae* kapsül tip 1 olarak tanımlanan 3 izolatın mikroskopik muayenesinde, hareket etmeyen bakterilerin çevresindeki kapsülün şiştiği ve sınırlarının belirgin olduğu görüldü. Pozitif kontrol amacıyla kullanılan referans *K. pneumoniae* kapsül tip 1 suşu da aynı görüntüyü sergiledi.

	Kısra			Aygır
	3	5	5	2
<i>K. pneumoniae</i> izolatlarının sayısı	3	5	5	2
Üreaz oluşumu	+	+	+	+
Sorboz fermentasyonu	-	+	+	+
Dulsitol fermentasyonu	+	-	+	+
Biyotip	Biyotip 1	Biyotip 2	Biyotip 3	Biyotip 3
Kapsül tip	1	1-6 değil		

Tablo 2. *K. pneumoniae* izolatlarının biyotip ve kapsül tipleri.

Antibiyotik Duyarlılık Testi: Tüm izolatların enrofloxacin, gentamicin ve imipenem'e duyarlı, amoxicillin, erythromycin ve rifaximina'ya dirençli oldukları saptandı. Diğer antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları değişiklik gösterdi (Tablo 3).

Kısrağın ve aygırlardan tedavi sonrası alınan örneklerin bakteriyolojik incelemesi sonucunda, örneklerin hiçbirinden *K. pneumoniae* izole edilmedi.

Tartışma

Kısrağın bakteriyel metritis nedeniyle ortaya çıkan fertilitte kaybı damızlık at yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından birisidir. Özellikle *T. equigenitalis* ve *K. pneumoniae*'nin belirli kapsül tiplerinin neden olduğu metiritis olguları aygır tarafından ya da veteriner muayene sırasında bulaştırıldığında çok sayıda kısrağın akut metritis salgınlarına neden olmakta ve at yetiştiriciliği açısından büyük ekonomik kayıplar şekillenmektedir.

Kamada ve ark. (3) Japonya'da 4 yıl süresince metritisli ve infertil kısrağın alından servikal svaplarda *K. pneumoniae* yönünden yaptıkları bir araştırmada, 259 metritisli kısrağın 29 (% 11,2)'undan *K. pneumoniae* izole etmişlerdir. Kikuchi ve ark. (19), 6 yıl süresince devam eden araştırmalarında yarış atı yetiştiriciliği için kullanılan 898 metritisli kısrağa ait servikal svapların 111

(% 12)'inden ve 94 sağlıklı aygırdan 30 (% 31,9)'unun spermelerinden *K. pneumoniae* izole edildiğini bildirmişlerdir. El Seedy ve ark. (20), endometritli 100 kısrağın 17'sinin ve 45 sağlıklı aygırın 6'sının genital örneklerinden *Klebsiella* spp izole edildiğini, bunların arasında en yaygın izolatın 9 kısrağın ve 4 aygırdan izole edilen *K. pneumoniae* olduğunu belirlemişlerdir. Menchaca ve ark. (21) Arjantin'de 188 infertil kısrağın % 12,7'sinden *K. pneumoniae* izole edildiğini, Langoni ve ark. (22) Portekiz'de metritisli kısrağın *K. pneumoniae*'nin izolasyon oranının % 3,8 olduğunu bildirmişlerdir. Vaissaire ve ark. (23) ise Fransa'da normal ve infertil aygırların semeninden *K. pneumoniae*'nin izolasyon oranının % 22,5 olduğunu belirlemişlerdir. Yurdaydın ve ark. (15) infertilite problemi olan 32 kısrağın klitoris örneklerinden % 25, aygırların üretra örneğinden % 3,1 oranında *K. pneumoniae* izole edildiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada 56 metritisli kısrağın 13 (% 23,2)'ünden ve 27 aygırın 2 (% 7,4)'ünden *K. pneumoniae* izole edildi. Kısrağın *K. pneumoniae*'nin izolasyon oranı diğer ülkelere göre daha yüksek bulunurken, aygırlardan izolasyon oranı daha düşüktü.

Araştırmada izolatların üreaz oluşumu ile sorboz ve dulsitol fermentasyonlarına göre biyotiplendirmeleri yapıldı ve 15 *K. pneumoniae* izolatı arasında 3 biyotip bulundu. Biyotip 1 olarak tiplendirilen 3 kapsül tip 1 izolatının da sorbozu fermente etmediği belirlendi. Bu bulgu Eguchi ve ark. (12)'nin görüşünü desteklemektedir. Eguchi ve ark. (12) *K. pneumoniae* biyotip 2 ve biyotip 3'ün kapsül tip 1-6'ya ait olmadıklarını ve sırasıyla tayarların bağırsaklarından ve aygırların prepusyal sıvılarından izole edildiğini bildirmesine karşın, bu araştırmada kısrağın izole edilen 5 izolat biyotip 2 olarak tiplendirilirken, kısrağın izole edilen diğer 5 ve aygırlardan izole edilen 2 izolat biyotip 3 olarak tiplendirildi. Biyotip 2 ve 3 olarak tiplendirilen izolatların kapsül tipleri Eguchi ve ark. (12)'nin bulgularına paralel olarak kapsül tip 1-6 değildi. Diğer taraftan aygırlardan izole edildiği ve kapsül tip 1-6'ya ait olmadığı bildirilen (12) biyotip 4 bu araştırmada kısrağın ya da aygırlardan izole edilmedi.

Kısrağın *K. pneumoniae*'nin değişik kapsül tiplerinin metritise yol açtığı (10,19,24,25) ve bunların arasında kapsül tip 1'in predominant olduğu bildirilmiştir (3,10,12,19). Kamada ve ark. (3), 259 metritisli kısrağın izole ettikleri 29 *K. pneumoniae* suşunun

Tablo 3. *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları.

Antibiyotik	İzolat sayısı		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Amoxicillin	0	0	15
Amoxicillin/Clavulonic acid	12	2	1
Ampicillin	0	1	14
Ceftiofur	6	9	0
Enrofloxacin	15	0	0
Erythromycin	0	0	15
Gentamicin	15	0	0
Imipenem	15	0	0
Kanamycin	8	1	6
Neomycin	5	4	6
Penicillin G	0	1	14
Rifaximina	0	0	15
Streptomycin	3	3	9
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	9	2	4

kapsüller tiplendirmesi sonucunda tümünün kapsül tip 1 olduğunu saptamışlardır. Eguchi ve ark. (12) metritisli kısıraklardan izole edilen 20 izolattın tümünü kapsül tip 1 olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar aygırlardan izole edilen 11 izolattan ise sadece 1 (% 9)'ünün kapsül tip 1 olduğunu belirlerken diğer 10 izolattın kapsül tip 1-6'ya ait olmadığını bildirmişlerdir. Kamada ve ark. (26), 478 metritisli ve infertil kısıraktan izole edilen 43 *K. pneumoniae* izolatından 33 (% 77)'ünün kapsül tip 1, 10 (% 23)'ünün diğer kapsül tiplerinde olduğunu belirlemişlerdir. Kikuchi ve ark. (19), referans suşlara karşı hazırladıkları 65 antiserum ile metritisli kısıraklar ve aygırlardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının kapsül tiplerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, metritisli kısıraklardan izole edilen 88 izolattan 79 (% 89,8)'unu kapsül tip 1, 1'ini tip 7 ve 1'ini tip 22, aygırlardan izole edilen 19 izolattan 5 (% 26,3)'ünü kapsül tip 1, 7'sini kapsül tip 7 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar metritisli kısırakların % 8'inin servikal svaplarından ve aygırların % 36,8'inin spermalarından izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının ise tiplendirilemediğini belirtmişlerdir. Platt ve ark. (10) İngiltere'de 1973'de equine metritis olgularında predominant kapsül tiplerinin 5 den 1'e kadar değişirken, aygırların genital sistemlerinde muhtemelen normal florayı oluşturan kapsül tip 7'nin en yaygın izolat olduğunu ve kısıraklarda daha az oranda metritise yol açtığını bildirmişlerdir. Ülkemizde önceden yapılan çalışmalarda (15,16) kısırak ve aygırlardan *K. pneumoniae* izole edilmiş olmasına karşın izolatların kapsül tipleri belirlenmemiştir. Bu çalışmada, metritisli kısıraklardan izole edilen 13 *K. pneumoniae* izolatından 3

(% 23)'ü kapsül tip 1 olarak belirlenirken, diğer 10 izolat ve aygırlardan izole edilen 2 izolat kapsül tipi 1-6 olarak tanımlanmadı. Bu bulgular, ülkemiz kısıraklarında da kapsül tip 1'in venereal patojen olarak nitelendirilen *K. pneumoniae* suşları arasında predominant olduğunu göstermesine karşın, bu oran Japonya'da yapılan araştırma sonuçlarına göre düşüktür.

Araştırmacılar (27, 28) metritisli kısıraklardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarına duyarlı antibiyotiklerin saptanarak tedavi yapılmasının, mikroorganizmanın kısırak ve aygırlar arasında yayılmasını önleyeceği ve metritis salgınlarının bu şekilde kontrol altına alınabileceğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada tüm *K. pneumoniae* izolatlarının gentamicin, enrofloxacin ve imipenem'e duyarlı oldukları saptandı. Kısırak ve aygırlara duyarlı antibiyotiklerden biri ile uygulanan tedavi sonrası kontrol amacıyla ikinci kez alınan örneklerden *K. pneumoniae* izole edilmedi.

Sonuç olarak ülkemiz kısıraklarında *Taylorella equigenitalis*'ten sonra, at yetiştiriciliği yapılan ülkelerde predominant olan diğer önemli venereal patojen *K. pneumoniae* kapsül tip-1'in varlığı da saptanmıştır. İnfertilite sorunu olan kısırakların da venereal *K. pneumoniae* yönünden araştırılmasına gereksinim vardır. Her ne kadar araştırma sırasında aygırlardan venereal *K. pneumoniae* izole edilmediyse de 3 kısıraktan izole edilen kapsül tip 1'in varlığı, damızlık aygırların genital sistemi ve spermalarının aşım sezonu süresince periyodik olarak incelenmesi gerekliliğini de ortaya çıkarmıştır.

Kaynaklar

1. Kenney, R.M.: Proceedings of the John P Hughes International Workshop on Equine Endometritis. Summary by WR Allen. Equine. Vet. J. 1993; 25: 184.
2. Allen, W.E., Newcombe, J.R.: Aspects of genital infection and swabbing techniques in the mare. Vet. Rec. 1979; 104: 228-231.
3. Kamada, M., Oda, T., Wada, R., Fukunaga, Y., Kumanomido, T.: Isolation of *Klebsiella pneumoniae*, capsule type 1, from mares with metritis and infertility in Japan. Bull. Equine Res. Inst. 1984; 21: 95-99.
4. Mackintosh, M.E.: Bacteriological techniques in the diagnosis of equine genital infections. Vet. Rec. 1981; 108: 52-55.
5. Frank, C.J., David, J.S.E., Smith, H.: Code of practice for the control of contagious equine metritis and other venereal diseases for the 1980 covering season. Vet. Rec. 1979; 105: 395-397.
6. Timoney, P.J.: Contagious equine metritis. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 1996; 19: 199-204.
7. Dimock, W.W., Edwards, R.P.: Genital infection in mares by an organism of the encapsulatus group. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1927; 70: 469-480.
8. Crouch, J.R.F., Atherton, J.G., Platt, H.: Venereal transmission of *Klebsiella aerogenes* in a thoroughbred stud farm: a persistently infected stallion. Vet. Rec. 1972; 90: 21-24.
9. Greenwood, R.E.S., Ellis, D.R.: *Klebsiella aerogenes* in mares. Vet. Rec. 1976; 99: 439.
10. Platt, H., Atherton, J.G., Orskov, I.: *Klebsiella* and *Enterobacter* organisms isolated from horses. J. Hyg. Camb. 1976; 77: 401-408.
11. Codes of Practice on Contagious Equine Metritis, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (1997-1999); Horserace Betting Levy Board, London.

12. Eguchi, M., Yokomizo, Y., Kuniyasu, C.: Biochemical characteristics of *Klebsiella pneumoniae* derived from horses. Jpn. J. Vet. Sci. 1987; 49: 279-283.
13. Rennie, R.P., Duncan, I.B.R.: Combined biochemical and serological typing of clinical isolates of *Klebsiella*. Appl. Microbiol. 1974; 28: 534-539.
14. Ozgur, N.Y., İkiz, S., Carioglu, B., Kılıcarslan, R., Yılmaz, H., Akay, O., Ilgaz, A.: Contagious equine metritis in Turkey: first isolation of *Taylorella equigenitalis* from mares. Vet. Rec. 2001; 149: 120-122.
15. Yurdaydın, N., Erdeğer, J., Tekin, N., Daşkın, A., Keskin, O., Klug, E.: Atlarda infertiliteye neden olan mikrofloranın saptanması. Etlik Vet. Mikrob. Derg. 1992; 7: 93-107.
16. Ülgen, M., Seyrek-İntaş, K., Kocabıyık, L., Uzman, M.: İnfertilite problemi olan atlarda bakteriyolojik incelemeler. III. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Bursa, 23-25 Eylül 1998, Kongre Özet Kitabı, 160.
17. Casewell, M.V.: Experiences in the use of commercial antisera for the capsule typing of *Klebsiella* species. J. Clin. Pathol. 1972; 25: 734-737.
18. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 1966; 45: 493-496.
19. Kikuchi, N., Iguchi, I., Hiramune, T.: Capsule types of *Klebsiella pneumoniae* isolated from the genital tract of mares with metritis, extra-genital sites of healthy mares and the genital tract of stallions. Vet. Microbiol. 1987; 15: 219-228.
20. El Seedy, F.R., Ezzat, M., Nadia, N.: Investigations of the klebsiellas of the genital tract of mares and stallions. Vet. Med. J. Giza. 1991; 39: 105-117.
21. Menchaca, E.S., Moras, E.V., Barboni de Stella, A.M., Palacios Bacque, H.: Infectious diseases of Thoroughbreds. I. Genital infections causing infertility. Rev. Mil. Vet. 1981; 27: 127-128.
22. Langoni, H., Alvarange, M.A., Papa, F.O., Sakamoto, C., Simon, J.J., Listoni, F.J.P., Carreira, E.L.C.: Microbiological and cytological study of the genital tract of mares. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 1994; 46: 623- 636.
23. Vaissaire, J., Plateau, E., Collobert Laugier, C.: Importance of bacteria in stallion semen. Bull. Acad. Vet. Fr. 1987; 60: 165-175.
24. Merkt, K., Klug, E., Bohm, K.H., Weiss, R.: Recent observations concerning *Klebsiella* infections in stallions. J. Reprod. Fertil. Suppl. 1975; 23: 143-145.
25. Brown, J.E., Corstvet, R.E., Stratton, L.G.: A study of *K. pneumoniae* infection in the uterus of the mare. Am. J. Vet. Res. 1979; 40 (11): 1523-1530.
26. Kamada, M., Kumanomido, T., Anzai, T., Kanemaru, T., Senba, H., Ohishi, H.: Isolation and drug susceptibility of streptomycin sensitive *Taylorella equigenitalis* from mares with metritis and infertility in Japan. Bull. Equine Res. Inst. 1986; 23: 55-61.
27. Eguchi, M., Kuniyasu, C., Ohmae, K., Kashiwazaki, M.: Drug-sensitivity of *Klebsiella pneumoniae* derived from horses. Jpn. J. Vet. Sci. 1988; 50: 1268-1270.
28. Kamada, M., Wada, R., Fukunaga, Y., Kumanomido, T., Oda, T., Senba, H., Ohishi, H., Nishihara, K., Honma, S.: Susceptibility to 60 antimicrobial agents of *Klebsiella pneumoniae*, capsule type 1, originated from genital infections in mares. Bull. Equine Res. Inst. 1984; 21: 88-94.