

ATLARDA İNTERNİTEYE NEDEN OLAN MİKROFLORANIN SAPTANMASI⁽¹⁾

Nafiz YURDAYDIN⁽²⁾ Jale ERDEĞER⁽³⁾ Necmettin TEKİN⁽⁴⁾
Ali DAŞKIN⁽⁵⁾ Ogun KESKİN⁽⁵⁾ Erich KLUG⁽⁶⁾

G İ R İ Ş

At yetiştiriciliğinin verimli bir şekilde yapılabilmesi başta bu hayvanlardan alınacak döl verimine bağlıdır. Bugüne kadar atların döl verimine etkileyen genital hastalıklar konusunda birçok araştırma yapılmıştır. Bu hastalıkların arasında Contagious Equine Metritis (CEM)'de bulunmaktadır. CEM, atların venereal bir hastalığıdır ve çiftleşme ile bulaşmaktadır (7,16). İlk kez bir CEM salgını 1977'de İngiltere'de Crowhurst tarafından rapor edilmiştir (8). Daha sonra bu hastalığın varlığı çeşitli Avrupa ülkeleri (4,11, 19,40), Avustralya (14), Japonya (29) ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (31) bildirilmiştir. CEM etkeni Gram negatif, mikroaerofilik, hareketsiz, non-fermentatif bir kokobasildir ve bu mikroorganizma Taylor ve ark. (34) tarafından Haemophilus cinsi içerisinde klasifiye edilmiş ve aynı araştırmacılar etkene Haemophilus equigenitalis adını vermiştir. Daha sonra, Sugimoto ve ark. (28) etkeni tekrar klasifiye ederek Taylorella cinsi içinde incelemişler ve etken, bugün Taylorella equigenitalis olarak anılmaktadır. Hastalık servisit, vajinitis ve endometritis ile karakterizedir (30). Enfekte aygırlar herhangi bir klinik belirti göstermez(14). Enfeksiyon sonunda oluşabilen infertilite ve abortlar at yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (7,14).

-
- (1) Bu araştırma, A. Ü. Veteriner Fakültesi ile Hannover Veteriner Yüksek Okulu İşbirliği anlaşması (BMZ-GTZ 852170.01-100/13) ve A. Ü. Araştırma Fonu desteğiyle (Proje No: 88 10 00 01) yürütülmüştür.
Durchgeführt im Rahmen der Universitätspartnerschaft zwischen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Ankara und der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Gefördert durch Mittel des BMZ GTZ-Projekt Nr. 852170.01-100/13 und des Forschungsfonds der Universität Ankara (Projekt Nr. 88 10 00 01).
- (2) Yrd. Doç. Dr., A. Ü. Vet. Fak., Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Ankara
- (3) Araş. Gör., A. Ü. Vet. Fak., Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara
- (4) Doç. Dr., A. Ü. Vet. Fak., Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Ankara
- (5) Araş. Gör., A. Ü. Vet. Fak., Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Ankara
- (6) Prof. Dr., Tierärztliche Hochschule, Hannover

Timoney (37) 1978-1979 yılları arasında İrlanda'da 28 safkan attan *H.equigenitalis* izole edildiğini bildirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1978'de bir CEM salgınında 5 kısrağın klitorisinden streptomisin'e dirençli CEM organizmleri saptanmıştır (32). Frank ve ark. (12) İngiltere'de 1978'de 49, 1979'da ise 11 kısrağın Contagious Equine Metritis Organizm (CEMO)'leri ile infekte olduğunu bildirmişlerdir. Eckstein (10), 1978-1982 yılları arasında Federal Almanya'da 61 kısrağın ve 8 aygırda CEMO tespit edildiğini bildirmiştir. Yine aynı ülkede Klug ve ark. (17), 146 kısrağın aldıkları örneklerde CEMO izole etmişlerdir. Lorin ve ark. (20), Avusturya'da değişik haralar ve aygır deposundaki 72 kısrağın klitoris ve serviks uterusundan, 23 aygırın da ön sekret, corpus penis, uretra ve fossa glandis'lerinden aldıkları örneklerin % 14.7'sinden CEMO saptamışlardır. Aynı araştırmacılar 3 aylık gebe bir kısrağın da aynı etkeni belirlemişler ve bu kısrağın daha sonra abort yapmıştır.

Allen (1), kısrağlarda endometritis'e neden olan etkenleri fırsatçı patojenler (*Str.zooepidemicus*, *Str.equisimilis*, *Staphylococcus* sp., *E.coli*), venereal patojenler (*H.equigenitalis*, *K.aerogenes*, *Ps.aeruginosa*) ve nadiren patojenik olanlar (*Ps.aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Candida* sp.) olmak üzere 3 grupta toplamıştır. Merkt ve ark. (22), 1961-1985 yılları arasında Almanya'da gebe kalmayan toplam 2118 kısrağın aldıkları klitoris ve serviks örneklerinin % 72'sinden β -hemolitik streptokok, % 11'inden *Klebsiella* sp. ve % 5'inden *Ps. aeruginosa* belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu mikroorganizmalara etkili antibiyotikleri saptayarak, kısrağların tedavisi yapıldıktan sonra yetiştirmede kullanıldığını ve bundan sonra normal bir dölvürümü alındığını bildirmişlerdir. Çeşitli Avrupa ülkelerinde (İsveç, Almanya, İtalya) da kısrağ ve aygırlarda CEMO ve diğer venereal patojenler üzerinde yapılan araştırmalarda patojenik *Klebsiella* sp. ve *Pseudomonas* sp. izole edilmiştir (13). Ayrıca, Vaissaire ve ark. (39) yaptıkları araştırmada aldıkları örneklerden CEMO ile birlikte *Klebsiella* sp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. gibi diğer patojenik mikroorganizmaları da izole etmişlerdir. Amtsberg ve Krabisch (2), 1969-1973 yılları arasında inceledikleri 6028 serviks örneğinde en çok β -hemolitik streptokok ve diğer streptokok türlerini belirlemişlerdir. Blobel ve ark. (5) da 57 kısrağın klitoris ve serviksinden aldıkları örneklerden aynı mikroorganizmaları izole etmişlerdir. Taylor (35) atlarda endometritis ile seyreden CEM'e benzer bir durumun *Klebsiella* cinsi bakteriler tarafından oluşturulduğunu ve bu mikroorganizmaların kolayca izole edildiğini öne sürmüştür. O'Driscoll (23), 11 aygırın uretrasından ve kısrağların serviksinden aldığı örneklerden *Proteus mirabilis* izole etmiştir. Organizmalar ampisilin'e duyarlı bulunmuş ve yapılan tedaviden başarılı sonuçlar alınmıştır. Ayrıca, İrlanda'da 2 kısrağın genital bölgelerinden *Staph.aureus* izole edilmiş, benzer üremeler aygırların external genital bölgelerinden de elde edilmiştir (38). Sevinç ve ark. (27) aygırların bakteriyel florasını belirlemek için yaptıkları bir çalışmada aygırlardan alınan sperm

örneklerinde Staph.epidermidis, E.coli, C.renale ve Staph.aureus izole etmişlerdir. Aynı araştırmacılar Mycoplasma ve CEMO yönünden yapılan ekimlerden negatif sonuçlar almışlardır.

MATERYAL VE METOT

Örneklerin toplanması : Yetiştirici ve kamu kurumlarına (Çifteler Harası, Karacabey Harası, Hasırcı Merkez Atçılık Islah Kurumu) ait infertilite problemleri olan değişik yaş gruplarından kısrakların gebelik kontrolleri yapıldıktan sonra, gebe olmayanların klitoris ve serviks uterilerinden, aygırların ise orificium urethra externa, corpus penis ve fossa glandis'lerinden Vi-pak Transport Swab System ile Amies Transport Medium'a alınan örnekler +4°C'de laboratuvara ulaştırıldı.

Besiyeleri : T.equigenitalis izolasyonu için % 10 defibrine at kanı ile hazırlanmış Eugon Çukulata Agar'dan yararlanıldı. Bu besiyeri streptomisin'li (200 µg/ml) ve streptomisin'siz olarak iki seri hazırlandı. T.equigenitalis dışındaki diğer bakterilerin izolasyonunda % 5-7 defibrine koyun kanı ile hazırlanan zenginleştirilmiş Kanlı Agar ve ayrıca MacConkey Agar (Difco) kullanıldı. Sıvı besiyeri olarak da Brain Heart Infusion Broth (Difco) ve Nutrient Broth (Difco), antibiyotik duyarlılık testini yapmada kanlı Mueller-Hinton Agar'dan yararlanıldı.

Antibiyotik duyarlılık testi : Antibiyotik duyarlılık testi için Ampisilin (25 µcg), Kloramfenikol (10 µcg), Kolistin sülfat (10 µcg), Kanamisin (30 µcg), Neomisin (30 µcg), Penisilin (6 lü), Streptomisin (25 µcg), Tetrasiklin (30 µcg), antibiyotiklerini kapsayan multodisk (Oxoid) kullanıldı. Üreyen etkenlerin antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk diffüzyon metoduna göre Mueller-Hinton Agar (Merck) ve koyun kanlı Mueller-Hinton Agar kullanılarak yapıldı (3).

İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları : Laboratuvara gelen swabların herbirinden en kısa zamanda streptomisin'li ve streptomisin'siz Eugon Agar ve aynı materyalden Kanlı Agar ve MacConkey Agar'lara ekimler yapıldı. Ekimleri yapılan streptomisin'li ve streptomisin'siz Eugon Agar'lar nemli, % 5-10 CO₂'li atmosferde (Gas Pak System), 37°C'de, 3-14 gün süreyle inkube edildi. 72 saat inkubasyondan sonra üreyen koloniler Taylorella yönünden ele alınarak 14. güne kadar hergün incelendi. Kanlı Agar ve MacConkey Agar'a ekilen materyaller ise 37°C'de aerobik olarak inkube edildi ve 3 gün süreyle üreme olup olmadığı kontrol edildi (15,29).

Eugon Agar'larda üreyen şüpheli Taylorella kolonilerini, ayrıca Kanlı Agar ve MacConkey Agar'da üreyen etkenleri identifiye etmek için klasik biyokimyasal testlerden yararlanıldı (18).

B U L G U L A R

İzolasyon çalışmaları sonuçları : 1988 yılında infertilite problemi olan 32 kısrağın 20 (% 62.5)'sinin klitorisinden, 6 (% 18.7)'sının serviksinden alınan örneklerden; 1989 yılında ise yine infertilite problemi olan 54 farklı kısrağın 45 (% 83.3)'inin klitorisinden 6 (% 11.1)'sının serviksinden alınan örneklerden izolasyon yapıldı (Tablo-1).

Tablo-1 : 1988-1989 yıllarında serviks uteri ve klitorisinden izolasyon yapılan kısrakların sayısı ve oranları

Yıl	Kısraak sayısı	Klitorisinden izolasyon yapılan hayvan		Serviksinden izolasyon yapılan hayvan	
		Sayı	%	Sayı	%
1988	32	20	62.5	6	18.7
1989	54	45	83.3	6	11.1

1988 yılında serviks uteri ve klitorislerinden örnek alınan 32 kısrağın sadece 1'inin klitorisinden *Acinebacter sp.* ve *K.pneumoniae* üredi. Klitorisinden saf olarak *E.coli* izole edilen 5 kısrağın serviks uterusinden yine saf olarak *E.coli*, 1 kısrağın serviks uteri ve klitorisinden saf olarak *Str.agalactiae* izole edildi. 1988 yılında kısrakların serviks uteri ve klitorislerinden alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ve izolasyon oranları Tablo-2'de gösterilmiştir. Bu kısrakların serviks uteri ve klitorislerinden *T.equigenitalis* izole edilemedi.

1989 yılında incelenen 54 kısrağın 2'sinin hem serviks uteri hem de klitorisinden saf olarak *E.coli*, 1 kısrağın yine hem serviks uteri hem de klitorisinden *streptococcus sp.*, 1 kısrağın klitorisinden *K.pneumoniae*, *Acinetobacter sp.*, *E.coli*, serviks uterusinden sadece *E.coli*, 1 kısrağın klitorisinden *Bacillus sp.*, *Staph.epidermidis*, *Corynebacterium sp.*, serviks uterusinden sadece *Staph.epidermidis*, yine 1 kısrağın hem serviks uteri hem de klitorisinden *Bacillus sp.*, *Staph.epidermidis*, *K.pneumoniae* izole edildi.

1989 yılında kısrakların klitoris ve serviks uterilerinden alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ve oranları Tablo-3'te gösterilmiştir. Aynı kısrakların serviks uteri ve klitorislerinden alınan örnekler *T.equigenitalis* yönünden incelendi ve negatif bulundu.

1989 yılında incelenen 40 aygırın uretra, fossa glandis ve corpus penisinden farklı oranlarda Streptococcus sp., E.coli, Acinebacter sp., Staph. epidermidis, K.pneumoniae, Staph.aureus, Corynebacterium sp., Moraxella sp., Bacillus sp., Alcaligenes sp., Neisseria sp., Pseudomonas sp. üredi. Aygırların uretra,fossa glandis ve corpus penislerinden izole edilen mikroorganizmalar ve izolasyon oranları Tablo-4'de verilmiştir. Bu aygırlardan alınan örneklerden T.equigenitalis izole edilemedi.

Tablo-2 : 1988 yılında kısırakların serviks uteri ve klitorislerinden alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ve oranları

İzole edilen mikroorganizma	Klitoris		Serviks uteri	
	Sayı	%	Sayı	%
E.coli	10	50	5	83.3
Staph.aureus	1	5	-	-
Acinetobacter sp.	1	5	-	-
Str.agalactiae	2	10	1	16.6
K.pneumoniae	5	25	-	-
K.pneumoniae				
Acinetobacter sp.	1	5	-	-
Toplam	20		6	

Antibiyotik duyarlılık test sonuçları : 1988 ve 1989 yıllarında örnek alınan kısırakların serviks uteri ve klitorislerinden izole edilen mikroorganizmaların duyarlı oldukları antibiyotikler ve yüzde oranları Tablo-5 ve Tablo-6'da gösterilmiştir.

1988 yılında aygırların fossa glandis, uretra ve korpis penislerinden izole edilen mikroorganizmaların duyarlı oldukları antibiyotikler ve yüzde oranları Tablo-7'de verilmiştir.

Tablo-3 : 1989 yılında kısırakların serviks uteri ve klitorislerinden alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ve oranları

İzole edilen mikroorganizma	Klitoris		Serviks	
	Sayı	%	Sayı	%
E.coli	9	20.0	3	50
K.pneumoniae	2	4.4	-	-
Staph.epidermidis	5	11.1	1	16.6
Streptococcus sp.	3	6.6	1	16.6
Acinetobacter sp.	1	2.2	-	-
Bacillus sp.	2	4.4	-	-
Corynebacterium sp	1	2.2	-	-
K.pneumoniae E.coli	1	2.2	-	-
Corynebacterium sp. Staph.epidermidis	2	4.4	-	-
Pseudomonas sp. Acinetobacter sp.	1	2.2	-	-
Acinetobacter sp. Staph.epidermidis	1	2.2	-	-
Streptococcus sp. E.coli	1	2.2	-	-
Streptococcus sp. Acinetobacter sp.	1	2.2	-	-
Staph.epidermidis E.coli	2	4.4	-	-
Bacillus sp. E.coli	2	4.4	-	-
K.pneumoniae Bacillus sp.	2	4.4	-	-

Tablo-3'ün devamı

İzole edilen mikroorganizma	Klitoris		Serviks	
	Sayı	%	Sayı	%
K.pneumoniae E.coli Acinetobacter sp.	1	2.2	-	-
Staph.epidermidis Corynebacterium sp. E.coli	1	2.2	-	-
Streptococcus sp. Bacillus sp. E.coli	2	4.4	-	-
Bacillus sp. Staph.epidermidis E.coli	1	2.2	-	-
Bacillus sp Moraxella sp. E.coli	1	2.2	-	-
Corynebacterium sp. Staph.epidermidis Acinetobacter sp.	1	2.2	-	-
Bacillus sp. Staph.epidermidis Corynebacterium sp.	1	2.2	-	-
Bacillus sp. Staph.epidermidis K.pneumoniae	1	2.2	-	-
Toplam	45		6	

Tablo-4 : 1988 yılında aygırların uretra, fossa glandis ve corpus penislerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve oranları

İzole edilen mikroorganizma	İzolasyon sayısı					
	Uretra		Fossa glandis		Corpus penis	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Streptococcus sp.	15	23.8	4	8.16	4	11.4
E.coli	3	4.7	1	2.04	-	-
Acinetobacter sp.	2	3.1	2	4.08	1	2.8
Staph.epidermidis	10	15.8	7	14.2	8	22.8
K.pneumoniae	2	3.1	1	2.04	1	2.8
Staph.aureus	4	6.3	1	2.04	-	-
Corynebacterium sp.	15	23.8	16	32.6	5	14.2
Moraxella sp.	2	3.1	3	6.1	1	2.8
Bacillus sp.	5	7.9	13	26.5	6	17.1
Alcaligenes sp.	5	7.9	1	2.04	4	11.4
Neisseria sp.	-	-	-	-	1	2.8
Pseudomonas sp.	-	-	-	-	4	11.4
Toplam	63	100	49	100	35	100

Tablo-5 : 1988 yılında örnek alınan kısrakların serviks uteri ve klitorislerinden izole edilen mikroorganizmaların duyarlı oldukları antibiyotikler (%)

Etken	AMP	C	CT	K	N	P	S	TE
Staph.aureus	100	100	0	100	100	100	100	100
Acinetobacter sp.	100	100	100	100	66.6	0	66.6	100
E.coli	0	100	100	100	100	0	38.5	100
Streptococcus sp.	100	100	0	100	100	100	100	100
K.pneumoniae	50	100	100	100	83.3	0	50	100

AMP: Ampisilin C : Kloramfenikol CT: Kolistin sülfat
N : Neomisin P : Penisilin S : Streptomisin
K : Kanamisin TE: Tetrasiklin

Tablo-6 : 1989 yılında kısırakların serviks uteri ve klitorislerinden izole edilen mikroorganizmaların duyarlı oldukları antibiyotikler (%)

Etken	AMP	C	CT	K	N	P	S	TE
K.pneumoniae	100	85.7	71.4	85.7	85.7	14.2	85.7	100
Acinetobacter sp.	100	85.7	57.1	71.4	85.7	42.8	57.1	71.4
E.coli	84.6	65.4	96.2	84.6	84.6	0	80.8	73.1
Moraxella sp.	66.6	66.6	100	100	100	33.3	66.6	100
Staph.epidermidis	55.5	100	61.1	94.4	94.4	88.8	100	100
Corynebacterium	83.3	83.3	66.6	100	100	100	100	100
Pseudomonas sp.	0	0	100	0	0	0	0	100
Streptococcus sp.	62.5	87.5	25	62.5	50	100	37.5	62.5
Bacillus sp.	53.8	100	7.6	100	92.3	7.6	92.3	100

Tablo-7 : 1988 yılında aygırların forseket, uretra ve corpus penislerinden izole edilen mikroorganizmaların duyarlı oldukları antibiyotikler (%)

Etken	AMP	C	CT	K	N	P	S	TE
Staph.aureus	100	100	100	100	100	100	100	100
Acinetobacter sp.	0	100	100	100	100	50	100	100
E.coli	0	100	100	100	92.3	7.6	100	100
Klebsiella sp.	0	100	100	100	100	0	83.3	100
Arizona	0	100	0	0	0	0	0	100

AMP: Ampisilin

C : Kloramfenikol

CT: Kolistin sülfat

N : Neomisin

P : Penisilin

S : Streptomisin

K : Kanamisin

TE: Tetrasiklin

T A R T I Ő M A

At yetiştiriciliğinde infeksiyonlara bağlı infertilite sorunları dölverimini fazlasıyla etkilemektedir. Bu konuda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu Contagious Equine Metritis'le ilgilidir (16,26,28,33). Bu infeksiyonun yanısıra kısırak endometritislerinden bazı fırsatçı mikroorganizmalar ile patojenik mikroorganizmalar izole edilmiştir (1,23,25).

Contagious Equine Metritis kısırakların *T.equigenitalis*'ten ileri gelen, oldukça önemli ve infertiliteye neden olan bir hastalığıdır. Crowhurst ve ark. (9), 1978'de İngiltere'de aldıkları 392 örneğin 7'sinde CEMO izole etmişler ve araştırıcılar 13 infertil ve 4 gebe kısırakta bu hastalığı saptamışlardır. Timoney ve Powell (37), 1978-1982 yılları arasında İngiltere ve İrlanda'da 15 tay ve 2 kısıraktan CEMO izole etmişler, Kamada ve ark. (16) ise, 1985'te Japonya'da metritisli ve infertil kısırakların servikslerinden alınan 478 svabın 33'ünde *T.equigenitalis* izole etmişlerdir.

Çalışmada streptomisin'li ve streptomisin'siz Eugon agar kullanılarak toplam 86 kısırağa ait klitoris ve serviks uteri materyali ile 40 aygırın uretra, fossa glandis ve corpus penis materyallerinden *T.equigenitalis* yönünden ekimler yapılmış, 14. güne kadar besiyerleri kontrol edilmesine rağmen bu etken yönünden herhangi bir üremeye rastlanılmamıştır.

Atlarda infertilite sorunlarına diğer mikroorganizmalar da neden olmaktadır. Blobel ve ark. (6), 95 kısırağın serviks ve klitorislerinden örnek olarak bakteriyolojik incelemeler yapmışlar, 65'inin klitorisleri ve 33'ünün servikslerinden β -hemolitik *Streptococcus*, *Staph.aureus*, *Ps.aeruginosa*, *K.pneumoniae* ve hemolitik *E.coli* olmak üzere patojenik mikroorganizmalar izole etmişlerdir. Ricketts (24), kısırakların servikslerinden *Klebsiella aerogenes* izole etmiş ve bu mikroorganizmanın aygırların uretralarından da izole edildiğini ve kısıraklara bulaştığını, bunun da vajiniis, servisit ve endometritis ile sonuçlandığını bildirmiştir. Makintosh (21), atların genital hastalıklarından yaygın olarak *H.equigenitalis*, *K.pneumoniae*, *Ps.aeruginosa*, *Pseudomonas sp.*, *Str.zoo-epidimicus*, *Streptococcus sp.*, *E.coli*, *Staph.aureus*, *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus sp.*, *Pasteurella sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Moraxella sp.*, *Corynebacterium sp.* izole edilebileceğini bildirmiştir.

Çalışmada incelenen 86 kısırağın klitorislerinden 65 (% 75.6), servikslerinden ise 12 (% 18.46) izolasyon yapılmıştır. Klitorislerinden izole edilen mikroorganizmaların bulgularda da belirtildiği gibi 43'ü (% 44.33) Gram pozitif (*Staph.aureus*, *Str.agalactiae*, *Streptococcus sp.*, *Staph. epidermidis*, *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.*), 54'ü (% 55.67) Gram negatif (*E.coli*, *Acinetobacter sp.*, *K.pneumoniae*, *Pseudomonas sp.*, *Moraxella sp.*)tir. Serviks uterilerinden izole edilen mikroorganizmaların 5'i (% 35.71)

Gram pozitif (*Str.agalactiae*, *Streptococcus* sp., *Staph.epidermidis*, *Bacillus* sp.), 9'u (% 64.29) Gram negatif (*E.coli*, *K.pneumoniae*) olarak bulunmuştur. Çalışmada ayrıca incelenen 40 aygırın uretralarından 63, fossa glandislerinden 49, corpus penislerinden ise 35 izolasyon yapılmıştır. Bu etkenlerin de 113'ü (% 76.87) Gram pozitif (*Streptococcus* sp., *Staph.epidermidis*, *Staph.aureus*, *Corynebacterium* sp., *Bacillus* sp.), 34'ü (% 23.13) Gram negatif (*E.coli*, *Acinetobacter* sp., *K.pneumoniae*, *Moraxella* sp., *Alcaligenes* sp., *Neisseria* sp, *Pseudomonas* sp.) mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. Bu bulgular araştırmacıların sonuçlarına uygunluk sağlamaktadır.

Çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu infertilite sorunları bulunan atlarda, sağaltımda yararlı sonuçlar alabilmek, kullanılacak kemoterapötiklere bağlıdır. İzole edilen etkenlerin invitro koşullarda yapılacak antibiyogram testleriyle duyarlı oldukları antibiyotiklerin belirlenmesi, sağaltımda başarı şansını artırmaktadır. Makintosh (21), atların genital hastalıklarından yaygın olarak izole edilebilecek Gram pozitif mikroorganizmaların antibiyogram testinde penisilin G (2 IU), eritromisin (10 µg), tetrasiklin (10 µg), kloramfenikol (10 µg), streptomisin (10 µg), OR gentamisin (10 µg), sülfametoksazol (25 µg), trimetoprim (1.25 µg); Gram negatif mikroorganizmalarında ise ampisilin (25 µg), kloramfenikol (30 µg), tetrasiklin (50 µg), gentamisin (10 µg), sülfafurazol (500 µg), sülfamethoksazol (25 µg), trimetoprim (1.25 µg) veya benzer antibiyotiklerin kullanılabilmesini, çoğu Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmaların bu antibiyotiklere duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Çalışmada izole edilen etkenler için Oxoid'in multodiskinden yararlanılmış ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi (3), ile yapılan antibiyogram testi sonucunda kısırlardan izole edilen Gram pozitif bakteriler (*Staph.aureus*, *Streptococcus* sp., *Staph.epidermidis*, *Corynebacterium* sp., *Bacillus* sp.) ampisilin (25 µg), kloramfenikol (10 µg), kanamisin (30 µg), neomisin (30 µg), penisilin (6 IU) ve tetrasiklin'e (30 µg) duyarlı bulunmuştur. Gram negatif bakteriler (*Acinetobacter* sp., *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Moraxella* sp., *Pseudomonas* sp.) ise kolistin sülfat (10 µg), tetrasiklin ayrıca *E.coli* ve *Pseudomonas* sp. hariç ampisilin, *Pseudomonas* sp. hariç kloramfenikol, kanamisin, neomisin, streptomisin'e duyarlı bulunmuştur. Aygırlardan izole edilen Gram pozitif bakteriler (*Staph.aureus*) ise ampisilin, kloramfenikol, kolistin sülfat, kanamisin, neomisin, penisilin, streptomisin, tetrasiklin'e; Gram negatif bakteriler (*Acinetobacter* sp., *E.coli*, *Klebsiella* sp., *Arizona* sp.) kloramfenikol, tetrasiklin, ayrıca *arizona* sp. hariç kolistin sülfat, kanamisin, neomisin, streptomisin'e duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar araştırmacının bulguları ile paralellik sağlamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada çeşitli kamu kuruluşlarına ve özel işletmelere ait infertil atlarda *T.equigenitalis* ve diğer mikroorganizmalar yönünden yapılan incelemelerde *T.equigenitalis* izole edilememiştir. Bu etkene

bağlı infeksiyonun Türkiye'de varlığının araştırılması, bu araştırmada olduğu gibi geniş kapsamlı izolasyon çalışmalarının yanısıra özellikle portörlerin saptanmasında serolojik taramaların başlatılıp yaygınlaştırılmasının gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Ö Z E T

Bu araştırmada, infertilite problemleri olan kısrakların klitoris ve serviks uterilerinden, aygırların ise orificium urethra externa, corpus penis ve fossa glandislerinden alınan örneklerin bakteriyolojik yoklamaları yapıldı ve izole edilen etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıkları belirlendi.

Infertilite problemi olan 86 kısrağın 65 (% 75.6)'inin klitorisinden ve 12 (% 13.9)'ünün serviksinden izolasyon yapılabildi. Kısrakların klitoris ve serviks uterilerinden *E.coli*, *Staph.aureus*, *Staph.epidermidis*, *Streptococcus sp.*, *Str.agalactiae*, *Acinetobacter sp.*, *K.pneumoniae*, *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Moraxella sp.* izole ve tanımlendi. İncelenen 40 aygırın urethra, fossa glandis ve corpus penisinden ise *Streptococcus sp.*, *E.coli*, *Acinetobacter sp.*, *Staph.aureus*, *Staph.epidermidis*, *K.pneumoniae*, *Corynebacterium sp.*, *Moraxella sp.*, *Bacillus sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Neisseria sp.*, *Pseudomonas sp.* izole ve tanımlendi. İnfertil kısrağın ve aygırlara ait materyallerin *T.equigenitalis* yönünden yapılan bakteriyolojik yoklamalarında herhangi bir üreme kaydedilemedi.

Çalışmada, antibiyogram testi sonucunda, kısraklardan izole edilen Gram pozitif bakteriler ampisilin, kloramfenikol kanamisin, neomisin, penisilin ve tetrasiklin'e; Gram negatif bakteriler ise kolistin sülfat, tetrasiklin, ampisilin (*E.coli* ve *Pseudomonas sp.* hariç), kloramfenikol, kanamisin, neomisin, streptomisin'e (*Pseudomonas sp.* hariç) duyarlı bulundu. Aygırlardan izole edilen Gram pozitif bakteriler ampisilin, kloramfenikol, kolistin sülfat, kanamisin, neomisin, penisilin, streptomisin, tetrasiklin'e; Gram negatif bakteriler ise kloramfenikol, tetrasiklin ve kolistin sülfat, kanamisin, neomisin, streptomisin'e (*Arizona sp.* hariç) duyarlı bulundu.

S U M M A R Y

Determination of Microflora which Causes Infertility in Horses

In this study, the bacteriological examinations of the samples taken from clitorises and cervix uterines of mares with infertility problems and from orificium urethra externas, corpus penises and fossa glandises of stallions were made and the sensitivity of isolated agents to antibiotics was determined.

Isolation could be made from cervix uteries of 12 (13.9 %) and clitorises of 65 (75.6 %) of 86 mares. From clitorises and cervix uteries of the mares, E.coli, Staph.aureus, Staph.epidermidis, Streptococcus sp., Str. agalactiae, Acinetobacter sp., K.pneumoniae, Bacillus sp., Corynebacterium sp., Pseudomonas sp., Moraxella sp. were isolated and identified. From urethras, fossa glandis and corpus penis of the examined 40 stallions, Streptococcus sp., E.coli, Acinetobacter sp., Staph.aureus, Staph.epidermidis, K.pneumoniae, Corynebacterium sp., Moraxella sp., Bacillus sp., Alcaligenes sp., Neisseria sp., Pseudomonas sp. were isolated and identified. In none of the samples from the infertile mares and the stallions T.equigenitalis was obtained.

As a result of antibiogram test, Gram (+) bacteria isolated from the mares were sensitive to ampicilline, chloramphenicol, kanamycine, neomycine, penicilline, tetracycline and for Gram (-) bacteria were sensitive to colistine sulfate, tetracycline, ampicilline (except for E.coli and Pseudomonas sp.), chloramphenicol, kanamycine, neomycine, streptomycine (except for Pseudomonas sp.).

Gram (+) bacteria isolated from the stallions were sensitive to ampicilline, chloramphenicol, colistine sulfate, kanamycine, neomycine, penicilline, streptomycine, tetracycline and for gram (-) bacteria were sensitive to chloramphenicol, tetracycline, colistine sulfate, kanamycine, neomycine, streptomycine (except for Arizona sp.).

K A Y N A K L A R

- 1 - ALLEN, W.E. (1979) : Aspects of genital infection and swabbing techniques in the mare. Vet. Rec., 104: 228-231.
- 2 - AMTSBERG, G. und KRABISCH, P. (1975) : Ergebnisse der bakteriologischen zervixtopferuntersuchung von Varmblutstuten in den jahren 1969-1973. Dtsch. Tierarztl. Wschr., 82: 97-136.
- 3 - BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J.C, and TURCK, M. (1966) : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496.
- 4 - BLOBEL, H., KITZROW, D. und BLOBEL, K. (1978) : Contagious equine metritis (CEM). Tierarztl. Umschan., 33: 523.
- 5 - BLOBEL, H., WLECKLINSKI, C.G. und BLOBEL, K. (1980) : Zum nachweis β . hamolysierender streptokokken in zervix und klitoristupfe propen von stuten. Tierarztl. Umschan., 35: 826-830.
- 6 - BLOBEL, K., BRÜCKLER, J. und REIMERS, G. (1987) : Ein beitrag zur erfassung bakterieller fortpflanzungsstörungen in der pferdezucht und vorschläge zur behandlung. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 94:160-162.

- 7 - BREWER, R.A. (1983) : Contagious equine metritis: A review. *Vet. Bul.*, 53: 881-891.
- 8 - CROWHURST, R.C. (1977) : Genital infection in mares. *Vet. Rec.*, 100: 476.
- 9 - CROWHURST, R.C., SIMPSON, D.J., GREENWOOD, R.E.S., ELLIS, D.R. and EVANS, W.E. (1979) : An outbreak of contagious equine metritis in 1977 and its effect the following season. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 27: 351-354.
- 10 - ECKSTEIN, K. (1983) : Verbreitung und bedeutung der ansteckenden gebarmutterentzündung der pferde (CEM 77) in Bundesrepublik Deutschlant. Diss.
- 11 - ENGVALL, A., HOLMSTEDT, S. und JOHANSSON, S. (1983) : Utbrott av smittsam metrit hos sto (CEM): Sverige. *Svensk Veterinartidning.*, 35: 107-109.
- 12 - FRANK, C.J., DAVIT, J.S.E. and SMITH, H. (1979) : Code of practice for the control of contagious equine metritis and other equine venereal diseases for the 1980 covering season. *Vet. Rec.* 105: 395-397.
- 13 - HORSE RACE BETTING LEVY BOARD (1984) : A Common code of practice for the control of contagious equine metritis and other equine reproductive diseases for the 1985 covering season in France, Ireland and United Kingdom. *Vet. Rec.*, 115: 307.
- 14 - HUGHES, J.P. (1978) : Contagious equine metritis: A review. *Theriogenol.*, 11: 209-216.
- 15 - KAMADA, M., AKIYAMA, Y., ODA, T. and FUKUZAWA, Y. (1981) : Contagious equine metritis: Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from horses with endometritis in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43: 565-568.
- 16 - KAMADA, M., KUMANOMIDO, T., ANZAI, T., KANEMARU, T., SENBA, H. and OHISHI, H. (1986) : Isolation and drug susceptibility of streptomycin sensitive *Taylorella equigenitalis* from mares with metritis and infertility in Japan. *Bull. Equine Res. Inst.* 23: 55-61.
- 17 - KLUG, E., MERKT, H., KIRPAL, G. und FLUGE, A. (1987) : Mapnahmen zur eindammung eines akuten auftretens der kontagiösen equiner metritis (CEM 77) in Bereich einer Staatlichen Deckstelle. *Dtsch. tierarztl. Wschr.* 87: 153-208.
- 18 - KONEMAN, E.W. (1979) : Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. J.B. Lippincott Company Philadelphia.
- 19 - LAAK, E.A., FENNEMA G. and JAARTSVELD, F.H.L. (1989) : Contagious equine metritis in Nederland. *Tijdschr. Diergenceskd.*, 114: 189-201.
- 20 - LORIN, D., PRILHOFER, K. und ARBEITER, K. (1984) : Nachweis der kontagisen equinen metritis (CEM) in Österreich. *Wien. tierarztl. Wschr.*, 81: 81-85.
- 21 - MACKINTOSH, M.E. (1981) : Bacteriological techniques in the diagnosis of equine genital infections. *Vet. Rec.*, 108: 52-55.
- 22 - MERKT, H., WOCKENER, A., HEILKENBRINKER, T., ZEMHE, M., WITTENBRINK, M.M. und BISPING, W (1987) : Mikrobielle untersuchung in der Stutengynakologie. *Der Praktische Tierarzt.*, 3: 5-12.
- 23 - O'DRISCOLL, J. (1977) : Venereal infection in thoroughbreds with *Bacillus proteus mirabilis*. *Vet. Rec.*, 100: 534.
- 24 - RICKETTS, S.W. (1976) : *Klebsiella aerogenes* in mares. *Vet. Rec.*, 99: 489-490.
- 25 - RICKETTS, S.W., ROSSDALE, P.D., WINGFIELD DIGBY, N.J., FALK, M.M., HOPES, R., HUNT, M.D.N. and PEACE, C.K. (1977) : Genital infection in mares. *Vet. Rec.*, 101: 65.
- 26 - SAHU, S.P. and DARCLIRI, A.H. (1980) : Contagious equine metritis: Isolation and characterization of the etiologic agent. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 1379-1382.

- 27 - SEVINÇ, A., İSTANBULLUOĞLU, E., YURDAYDIN, N. ve ÇELEBI, M. (1984) : Çifteler Arap aygırlarının spermatolojik özellikleri, spermalarındaki bakteriyel flora ve dölvörimleri üzerinde araştırmalar. Doğa Bilim Derg., 8: 288-293.
- 28 - SUGIMOTO, C., ISAYAMA, Y., SAKAZAKI, R. and KURAMOCHI, S. (1983) : Transfer of *Haemophilus equigenitalis* Taylor et al. 1978 to the Genus *Taylorella* gen. nov. as *Taylorella equigenitalis* comb. nov. Curr. Microbiol. 9: 155-162.
- 29 - SUGIMOTO, C., ISAYAMA, Y., KASHIWAZAKI, M., FUJIKURA, T. and MITANI, K. (1980) : Detection of *Haemophilus equigenitalis*, the causal agent of contagious equine metritis, in Japan. Natl.Inst. Anim. Health A (Jpn), 20: 118-119.
- 30 - SWANN, A.I. (1978) : Contagious equine metritis. Auburn Vet., 34:84-86.
- 31 - SWERCZEK, T.W. (1978) : The first occurrence of contagious equine metritis in the United states. JAVMA., 173: 405-407.
- 32 - SWERCZEK, T.W. (1979) : Elimination of CEM organism from mares by excision of clitoral sinuses. Vet. Rec., 105: 131-132.
- 33 - TAINTURIER, D., TESSIER, P.H., SARDJANA, K.W., et FERNEY, J. (1982) : Metrite contagieuse des equides. Revue Med. Vet., 133: 765-770.
- 34 - TAYLOR, J.E.D., ROSENTHAL, R.O., BROWN, D.F.J., LAPAGE, S.P., HILL, L.R. and LEGROS, R.M. (1978) : EQUINE Vet. J., 10: 136-144. In: SUGIMOTO, C., ISAYAMA, Y., SAKAZAKI, R. and KURAMOCHI, S. (1983) : Transfer of *Haemophilus equigenitalis* Taylor et al. 1978 to the Genus *Taylorella* gen. Nov. as *Taylorella equigenitalis* comb. nov. Curr. Microbiol. 9: 155-162.
- 35 - TAYLOR, C.E.D. (1979) : A Recently recognised venereal disease of horses and its causative organism. J. Infect., 1: 81-86.
- 36 - TIMONEY P.J. (1979) : Contagious equine metritis in Ireland. Vet. Rec., 105: 172-173.
- 37 - TIMONEY, P.J. and POWELL, D.G. (1982) : Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. Vet. Rec., 111: 478-482.
- 38 - TIMONEY, P.J. and STRICLAND, K.L. (1982): Contagious equine metritis in the republic of Ireland. Ir. Vet. J. 36: 159-160.
- 39 - VAISSAIRE, J., PLATEQU, E., LAVGIER, C.C. et TAINTURIER, D. (1986) : La metrite contagieuse equine a *Haemophilus equigenitalis*. Bull. Acad. Vet. de France. 59: 375-384.
- 40 - WYFFELS, R., SPINCEMAILLE, J. en De SCHAEPPDRIJVER, L. (1988) : Besmettelijke metritis bij poaiden: Twee uitbraken in België. Vlaams Diergeneesk. Tijdschr., 57: 82-89.