



Şanlıurfa'da Safkan Arap Atlarında Döl Verimini Etkileyen Önemli Aerobik Bakteriyel ve Mikotik Etkenlerin Araştırılması*

Osman Yaşar TEL¹, Ömer KORKMAZ², Birten EMRE², Oktay KESKİN¹

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Şanlıurfa-TÜRKİYE

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji AD, Şanlıurfa-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada Safkan Arap atlarında infertiliteye neden olan önemli bakteriyel ve mikotik etkenlerin, Şanlıurfa bölgesindeki epidemiyolojileri araştırıldı. Bu amaçla infertilite problemi olan 50 kısıraktan alınan uterus svapları bakteriyolojik olarak incelendi. Elli kısıraktan alınan uterus svaplarının 6 (%12)'sından üreme olmazken, 44 (%88)'ünden üreme saptandı. Üreyen bakteriyel etkenlerin 20 (%45.4)'i β-hemolitik streptokok, 8 (%18.2)'i *Escherichia coli* (*E. coli*), 5 (%11.4)'i *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), 5 (%11.4)'i *Lactobacillus* spp., 3 (%6.8)'ü *Micrococcus* spp. ve 3 (%3.8)'ü *Acinetobacter* spp. olarak saptandı. Ayrıca mantar yönünden yapılan ekimler sonucunda 4 (%33.3) *Aspergillus fumigatus* ve 8 (%66.7) *Candida albicans* izole edildi. *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*) yönünden yapılan ekimlerde üreme saptanmadı. Sonuç olarak, Şanlıurfa bölgesinde infertilite problemi olan atlardan en sık β-hemolitik streptokoklar izole edildi. İnfertil kısıraklardan, bakteriyel etkenler yanında mantar etkenlerinin de izole edilmesi, tedavi ve koruma programlarında mantar etkenlerinin de göz önünde bulundurulması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: At, bakteri, infertilite, mantar

Evaluation of the Aerobic Bacterial and Fungal Agents Affecting the Fertility of Thoroughbred Arabian Horses in Sanliurfa Province, Turkey

Summary: In this study, the epidemiology some of the important bacterial and fungal agents that cause infertility in purebred arabian horses was investigated in Sanliurfa province. For this purpose, 50 uterus swabs taken from mares with infertility problems were examined bacteriologically. While only 6 (12%) uterus swabs exhibited growth, there was growth in the 44 (88%) swabs. Bacterial agents isolated were identified as 20 β hemolytic streptococci (45.4%), 8 *E. coli* (18.2%), 5 *S. aureus* (11.4%), 5 *Lactobacillus* spp. (11.4%), 3 *Micrococcus* spp. (6.8%) and 3 *Acinetobacter* spp. (6.8%). Cultures prepared for fungal agents resulted in 4 (33,3%) isolates of *Aspergillus fumigatus* and 8 isolates of *Candida albicans* (66,7%). There was no growth for *T. equigenitalis*. In conclusion, β-hemolytic streptococci were isolated the most from mares having infertility problems in Sanliurfa province. Isolation of both the bacterial and the fungal agents from mares with infertility showed that it might be worthwhile consider the to add antifungal agents in the treatment and protection programs of horses with infertility.

Key Words: Bacteria, fungus, horses, infertility

Giriş

Atlarda infertilite, noninfeksiyöz (vulvada dejenerasyon, uterus kistleri, ovaryum tümörleri gibi yapısal bozukluklar ve düzensiz sikluslar, embriyonik ölümler, çift ovulasyon gibi fonksiyonel bozukluklar) ve infeksiyöz (bakteriyel, viral, mikotik) nedenlerden ileri gelebilmektedir. (5, 6, 10, 17, 28, 31). Endometritislerden çeşitli bakteriler izole edilmesine rağmen bunlardan altısı çok önemli kabul edilmektedir. Bu bakteriler oportunistik ya da veneral olarak sınıflandırılmaktadır. *Streptococcus zooepidemicus*, hemolitik *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* önemli oportunistik bakterilerdir. Veneral bakteriler,

sadece çiftleşme yolu ile bulaşır. Aygır ve kısıraklarda sperma ve üreme kanalında bulunan bakteriler çiftleşme ile bulaşarak endometritislere neden olurlar. *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae* (kapsül tip 1, 2, 5) ve *Pseudomonas aeruginosa* önemli veneral bakteriyel etkenlerdir (14).

Kısıraklarda mikotik infeksiyonlar çok sık ve uzun süren antibiyotik kullanımı, uterus manipulasyonları gibi nedenlerden artış göstermiştir. Uterus ve vajinada görülen bozukluklar, pneumovajina, inatçı endometritisler, tekrarlanan uterus içi antibiyotik tedavileri, mikotik endometritislerin oluşması için predispose faktörlerdir. Mantar ve özellikle de mayaların neden olduğu endometritisler yaygın prognozu ve tedaviye direnç göstermesi bakımından önemlidir. Uterustan en yaygın izole edilen mantarlar *Candida* spp., *C. albicans* ve *Aspergillus fumigatus*'tur. Bunlar dışında pek çok maya ve mantar izole edildiği bildirilmiştir (*Cryptococcus neoformans*, *Fusarium*

Geliş Tarihi / Submission Date : 01.11.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 26.03.2014

* Proje: Şanlıurfa Bölgesindeki Safkan Arap Atlarında Döl Verimini Etkileyen Önemli Bakteriyel Etkenlerin Araştırılması. HÜBAK Proje No:1137. Şanlıurfa, 2011.

spp., *Hensenula anomala*, *Hensenula polymorpha*, *Rhodotorula* spp., *Scedosporium apiospermum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon beigeli* ve *Torulopsis candida* (8).

Bu çalışmada, Şanlıurfa yöresindeki atlarda infertiliteye neden olan önemli bakteriyel ve mikotik etkenlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma kapsamında Şanlıurfa'nın farklı bölgelerinden, bir önceki sezonda aşım sonrası yapılan kontrollerde gebe kalmadığı bildirilen veya fertilitate problemi belirlenen 50 baş safkan Arap kısrağından alınan uterus svapları bakteriyolojik ve mikolojik açıdan incelendi. *Taylorella equigenitalis* izolasyonu amacıyla kısraqlarda vulva yıkanmadan önce kliitoristen svap örnekleri alınarak amies transport besiyerine konularak laboratuara ulaştırıldı. Uterusdan alınacak örneklerde ise fekal kontaminasyonu engellemek için dış genital bölge, vulva dudakları ve rima vulva antiseptik emdirilmiş kağıt havlularla birkaç defa temizlenerek dezenfekte edildi. Sonrasında serviks, steril bir vaginal spekulum ile görünür hale getirilerek çift korumalı svaplar (Equivet uterine culture swab; Kruse, Marslev, Denmark) yardımı ile endometriyal örnekler alındı. Örnekler soğuk zincirde en kısa sürede laboratuara ulaştırıldı.

Mikrobiyolojik analiz

Alınan materyallerden, aerobik bakteri izolasyonu için kanlı Columbia agar (Oxoid) ve McConkey agara (Oxoid) ekimler gerçekleştirildi. Besiyerleri 37 °C'de 24-72 saat inkübe edildi. Besi yerinde aerobik olarak inkubasyon sonrasında 1-4 koloniyeye kadarki üremeler önemsiz kabul edildi ve beş veya daha fazla sayıda olan benzer kolonilerin subkültürleri yapılarak standart metodlara göre identifikasyonları yapıldı (19, 28). Mantar etkenlerinin izolasyonu için Sabouraud

Dekstroz Agar (SDA) (Oxoid) kullanıldı. Alınan svaplar SDA'ya ekimleri gerçekleştirilerek 28 °C'de, 7-10 gün süreyle inkubasyona bırakıldı. Inkubasyon sonunda üreyen koloniler makroskopik ve mikroskopik morfolojilerine göre identifiye edildi (19).

Taylorella equigenitalis izolasyonu, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE)'nin bildirdiği yöntemle göre yapıldı. Besiyerlerine ekimler gerçekleştirildikten sonra 37 °C'de, % 5-10 CO₂'li ortamda 6 gün boyunca inkübe edildi. Inkubasyon sonrasında üreyen bakteri kolonileri, makroskopik ve mikroskopik morfolojileri ve biyokimyasal özelliklerine göre identifiye edildi (32).

Bulgular

İnfertilite problemi olan 50 kısrağından alınan uterus svaplarından 6 (% 12)'sında üreme olmazken 44 (% 88)'ünde etken üremiştir. Ayrıca mantar yönünden yapılan ekimler sonucunda 38 (% 76) adet örnekte üreme saptanmazken, 12 adet örnekte (% 24) ise mantar izole edilmiştir. Kısrağılardan alınan svapların kültürü sonucu üreyen bakteri ve mantar sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Bu çalışmada incelenen 50 kısrağından alınan svaplardan *T. equigenitalis* izole edilememiştir.

Tartışma ve Sonuç

İnfertilite problemi bulunan kısrağılardan alınan svaplar ile bakteriyel infeksiyonların varlığının ortaya konulması büyük önem taşımaktadır (30). Kısrağıların genital organlarından sıklıkla izole edilen etkenler arasında, β-hemolitik streptokoklar, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Staphylococcus* spp., *Pasteurella* spp. ve *Corynebacterium* spp. gibi bakteriler bulunmaktadır (11, 12, 16, 30, 33). Bursa yöresinde 55 baş kısrağı klinik olarak muayene edilmiş ve bunlardan 24 tanesinde klinik muayene yanında bakteriyolojik ve sitolojik incelemeler yapılmış, muayenesi yapılan kısrağılarda yaygın bir şekilde genital infeksiyona rastlanılmıştır.

Tablo 1. Uterus svaplarından üreyen bakteriyel ve mantar etkenlerinin izolasyon oranları

Mikroorganizma	Sayı	%
<i>B-hemolitik streptokok</i>	20	45,4
<i>E. coli</i>	w8	18,2
<i>S. aureus</i>	5	11,4
<i>Lactobacillus</i> spp.	5	11,4
<i>Micrococcus</i> spp.	3	6,8
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	6,8
<i>Taylorella equigenitalis</i>	0	0
Toplam	44	100
Mantar		
<i>Candida albicans</i>	8	66,7
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	33,3
Toplam	12	100

Yirmi dört kısrağın 14'ünden (% 58,3); 8 (%40) *E. coli*, 3 (% 15) *Bacillus* spp., 3 (% 15) *Streptococcus* spp., 1 (% 5) *S. aureus*, 1 (% 5) *Neisseria* spp., 1 (% 5) *K. pneumoniae*, 1 (% 5) *Corynebacterium* spp., 1 (% 5) *Proteus vulgaris* ve 1 (% 5) *C. albicans* izole edilmiştir (26). Sharma ve ark. (27), kısraklardan izole ettikleri bakteriler arasında ilk sırayı β -hemolitik streptokokların aldığını, onu *E. coli* ve *S. aureus*'un izlediğini bildirmişlerdir. Merkt ve ark. (21), 1961-1985 yılları arasında Almanya'da gebe kalmayan, toplam 2118 kısraktan aldıkları klitoris ve serviks örneklerinin % 72 sinden β -hemolitik streptokok izole ettiklerini bildirmişlerdir. Amsberg ve ark. (4), 1969-1973 yılları arasında inceledikleri 6028 serviks örneğinden en çok β -hemolitik streptokok ve diğer streptokok türlerini izole etmişlerdir. Burleson ve ark. (9) ile Frontoso ve ark. (13) yaptıkları benzer çalışmalarda, dominant suş olarak β -hemolitik streptokok, ikinci sırada *E. coli* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada da kısraklardan izole edilen bakteriler ve β -hemolitik streptokokların en sık izole edilmesi bakımından diğer araştırmacıların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Goncagül ve Seyrekintaş (15), Almanya'da bulunan ve fertilité sorunu olan Alman sıcakkanlı ırkı kısrakların uterus svab örneklerinin mikrobiyolojik olarak incelenmesi sonucunda, izolasyon oranını % 89,8 olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar izole ettikleri etkenleri ve oranlarını, % 20,8 *E. coli*, % 1,2 hemolitik *E. coli*, % 4,4 koliform bakteriler, % 12,7 β -hemolitik streptokok, % 12,3 γ -hemolitik streptokok, %14,3 α -hemolitik streptokok, % 2,9'u maya ve mantarlar, % 31,4 27 farklı bakteri türü olarak rapor etmişlerdir. Yine Albihn ve ark. (2) yaptığı çalışmada uterus svab örneklerinden en fazla *E.coli*, bunu takiben de β - hemolitik streptokok izole ve identifiye ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da araştırmacıların bildirdiği bakteri profiline benzer türler izole edilmiş olup, ilk iki sırada yer alan bakterilerin izolasyon oranlarındaki farklılığın, değişik çevresel koşullardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Taylorella equigenitalis'in neden olduğu Contagious Equine Metritis (CEM), kısraklarda servisit, vaginitis ve endometritis ile karakterize olup fertilité ile sonuçlanmaktadır. Bu çalışmada, infertil kısrakların genital kanalından *T. equigenitalis* izolasyonu yapılamamıştır. Türkiye'nin farklı bölgelerindeki infertil kısra ve/veya aygırlarda yapılan bakteriyolojik çalışmalarda etken izole edilememiştir (1, 25, 29, 30, 33). Erdeğer ve ark. (12), Gemlik'te yaptıkları çalışmada 114 fertil, 136 infertil olmak üzere toplam 250 adet hayvandan alınan örneklerden kültür yöntemiyle etken izole edememişlerdir. *Taylorella equigenitalis* izolasyonu ile ilgili diğer çalışmalarda, kısraklardan değişik oranlarda etken izolasyonu bildirilmiştir (7, 18, 23). Bu çalışmada *T. equigenitalis* izole edilememesi, etkenin kültüre edilmesinin zor olması, in vitro koşullarda düşük üreme oranına sahip olması ve kolaylıkla flora bakterileri tarafından üremesinin inhibe

edilmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Kısraklarda mikotik infeksiyonlar çok sık ve uzun süren antibiyotik kullanımı, uterus manipulasyonları gibi nedenlerden artış göstermiştir (8, 20). Uterus ve vajinada görülen bozukluklar, pneumovajina, inatçı endometritisler, tekrarlanan uterus içi antibiyotik tedavileri mantar endometritislerinin oluşması için predispose faktörlerdir. Mantar ve özellikle de mayaların neden olduğu endometritisler zayıf prognozu ve tedaviye direnç göstermesi bakımından önemlidir. Uterustan en yaygın izole edilen mantarlar *Candida* spp. ve özellikle de *C. albicans* ve *A. fumigatus*'tur (8). Menhace ve ark. (22) yaptıkları çalışmada safkan infertil atların serviks ve uterusundan 2 *C. albicans*, 1 *A. fumigatus* ve 1 *Rhizopus equi*'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir. Amaral ve ark. (3), uterus kültürlerinden sık olarak *Penicillium* (% 35.4), *Aspergillus* (% 20.3) ve *Candida* (% 13.9) izole etmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen maya ve mantar türleri bakımından diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak Şanlıurfa bölgesinde fertilité problemi bulunan atlardan en sık olarak β -hemolitik streptokoklar izole edilmiştir. İnfertil kısraklardan bakteriyel etkenler yanında mantar etkenlerinin de izole edilmesi, tedavi ve koruma programlarında mantar etkenlerinin de gözönünde bulundurulması gerektiği kanısını ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

1. Ak S, Hasöksüz M, Horoz H, Kiliçarslan MR, Minbay A, İleri İK. İnfertilité problemi olan kısraklarda uterus ve aygırlarda sperma mikroflorasının incelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1995; 25 (2): 149-54.
2. Albihn A, Baverud V, Magnusson U. Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems. Acta Vet Scand 2003; 44 (3-4): 121-9.
3. Amaral MG, Pimentel CA, Meireles M, Fiala SM, Schramm R, Xavier EG. Equine endometritis. Fungi and bacteria. Arch Zootec 2007; 56 (216): 875-84.
4. Amsberg G, Krabisch P. Ergebnisse der Bakteriologischen Zervixtopferuntersuchung von Varmblutstuten in den Jahren 1969-1973. Dtsch Terarztl Wschr 1975; 82 (5): 97-136.
5. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ. Veterinary reproduction and obstetrics .7th edition, W.B., Saunders company limited, London , England,1996.
6. Asbury AC, Lyle SK. Infectious causes of infertility. McKinnon AO, Voss JL. eds. In: Equine Reproduction. London: Lea & Febiger, 1993; pp. 381-91.

7. Bleumink-Pluym NMC, Werdler MEB, Houwers DJ, Parlevliet JM, Colenbrander B, Van Der Zeijst BAM. Development and evaluation of PCR test for detection of *Taylorella equigenitalis*. *J Clin Microbiol* 1994; 32 (4): 893-6.
8. Blue MG. Mycotic endometritis in mares. Review and clinical observations. *NZ Vet J* 1987; 35 (11): 181-3.
9. Burlison MD, LeBlanc MM, Riddle WT, Hendricks KEM. Endometrial microbial isolates are associated with different ultrasonographic and endometrial cytology findings in Thoroughbred mares. *Anim Reprod Sci* 2010; 121 (Suppl): 103.
10. Caudle AB. Bacterial causes of infertility and abortion. Youngquist RS. ed. In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997; pp. 179-85.
11. Dhingra PN, Sandhu KS. Culture and sensitivity of aerobic bacteria isolated from mares suffering from reproductive disorders. *Ind J Anim Sci* 1987; 57 (6): 525-7.
12. Erdeger J, Akan M, Dakman A. Identification and serological grouping of beta-haemolytic streptococci isolated from genital organs of mares. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1999; 46 (1): 69-76.
13. Frontoso R, Carlo E, Pasolini MP, Meulen K, Pagnini U, Iovane G, Martino L. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. *Res Vet Sci* 2008; 84 (1): 1-6.
14. Gary CW. *Fertility and Obstetrics in the Horse*, Third Edition. England: Wiley-Blackwell, 2005.
15. Goncagül G, Seyrekintaş K. Fertilité sorunu olan Alman sıcakkanlı ırkı kısırakların uteruslarından izole edilen bakteri profili ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Etilik Vet Mikrobiyol Derg* 2013; 24 (1): 1-6.
16. Hinrichs K, Cummings MR, Sertich PL, Kenney RM. Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares. *JAVMA* 1988; 193 (1): 72-5.
17. Jasko DJ. Noninfectious causes of infertility in the mare. Youngquist RS. ed. In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997; pp. 172- 6.
18. Keskin O, Öngör H, Çetin H, Çetinkaya B, Rişvanlı A. Şanlıurfa ve çevresindeki safkan Arap kısıraklarda *Taylorella equigenitalis*'in PCR tekniği ile araştırılması. *Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi* 146-7, 4-6 Eylül 2003; Konya-Türkiye.
19. Larone DH. *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*. Fourth Edition. Washington: ASM Press, 2002.
20. LeBlanc MM. The equine endometrium and the pathophysiology of endometritis. *Proc Reprod Pathol* 1997; 78-84.
21. Merkt H, Wockener A, Heilkenbrinker T, Zemhe M, Wittenbrink MM, Bisping W. Mikrobielle untersuchung in der stutengynakologie. *Der praktische Tierarzt* 1987; 3: 5-12.
22. Menchaca ES, Moras EV, Barboni de Stella AM, Palacios Bacque H. Infectious diseases of Thoroughbreds. I. Genital infections causing infertility. *Rev Mil Vet* 1981; 27: 127-128.
23. Parlevliet JM, Bleunink-Pluym NMC, Houwers D, Remnien JLAM, Sluijter FJH, Colenbrander B. Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. *Theriogenology* 1997; 47 (6): 1169-77.
24. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. United Kingdom: Blackwell Publishing Company, 2002.
25. Sevinç A, İstanbulluoğlu E, Yurdaydın N, Çelebi M. Çifteler Arap aygırlarının spermatolojik özellikleri, spermalarındaki bakteriyel flora ve döl verimleri üzerinde araştırmalar. *Doğa Bil Derg* 1984; 8 (3): 288-93.
26. Seyrek-İntaş K, Ülgen M, Mısırlıoğlu D. Bursa yöresinde kısıraklarda klinik bakteriyolojik ve sitolojik muayene ile genital infeksiyonların belirlenmesi. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1997; 44 (1): 31-8.
27. Sharma DR, Kwatra MS, Kumar A. Some of the aerobic bacteria isolated from uteri of brood mares. *J Res Punjab Agric Univ* 1986; 23 (2): 305-8.
28. Sonmez G, Seyrek-İntaş K, Ülgen M. Clinical, microbiological and pathological findings in the genital tract of infertile mares. *Indian Vet J* 2003; 80 (8): 752-7.
29. Tel OY, O Keskin, AK Zonturlu, A Dakman, N Yurdaydın, Şanlıurfa bölgesi'nde atlarda *Taylorella equigenitalis*'in kültür ve PCR yöntemi ile saptanması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16 (4): 605-9.
30. Ülgen M, Seyrek-İntaş K, Kocabiyik L, Uzman M. İnfertilité problemi olan atlarda bakteriyolojik incelemeler. *J Fac Vet Med* 2001; 20 (1-2): 61-5.
31. Vural R, Erdeger J, Bastan A, Çelebi M, İzgür H. Investigation of the aerobic and microaerophilic bacterial flora of the reproductive tract of healthy and subfertile Arabian mares. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1997; 44 (2-3): 225-36.

32. World Organisation for Animal Health (OIE). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees). Sixth Edition. 2008; Vol: 1-2.
33. Yurdaydın N, Erdeğer J, Tekin N, Daşkın A, Keskin O, Klug E. Atlarda infertiliteye neden olan mikrofloranın saptanması. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 1992; 7 (2): 93-107.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç.Dr. Birten EMRE
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji AD
Eyyübiye Kampüsü / Şanlıurfa, Türkiye
Tlf:+90 414318 3859
E-posta: birten@gmail.com
Fax:+90 414 318 392

