Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.
44: 225-236, 1997

NORMAL VE İNFERTİLİTE SORUNLU SAFKAN ARAP KISRAKLARDA GENİTAL ORGANLARIN AEROBİK VE MİKROAEROFİLİK BAKTERİYEL FLORALARININ İNCELENMESİ

The investigation of aerobic and microaerophilic bacterial flora of the reproductive tract in normal and subfertile Arabian mares

Rıfat Vural[1] *Jale Erdeğer*[2] *Ayhan Baştan*[1]
Mustafa Çelebi[3] *Hakkı İzgür*[4]

Summary: *The objective of this study reported here was to determine the aerobic and microaerophilic bacterial flora frequently isolated from the endometrium and clitoral sinuses of normal and subfertile pure breed Arabian mares in two throughbred stud.*

Totally fourty six mares in stud A and B were classified as normal and subfertile. Twenty mares in stud A were divided into two groups as normal (n=12) and subfertile (n=8) mares and also in the same manner, twenty six mares in stud B were assigned to two groups according to their fertility status as normal (n=16) and subfertile (n=10). Samples for microbiologic culture were taken from clitoral sinuses and endometrium of each mares in vernal period, by using guarded swabs. Material for clitoral culture was collected from each of three sinus. All swab samples taken from mares were transported to the laboratory for aerobic and microaerophilic culture.

Non-specific pathogen organisms (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Proteus spp., β-haemolytic streptococcus) in clitoral samples of subfertile mares in stud A and B were isolated at same rate (50 percent). Escherichia coli in stud A and β-haemolytic streptococcus and α-heamolytic streptococcus-β-haemolytic strepto - coccus- Escherichia coli mix culture in stud B were found as the most common non-specific organisims in subfertile mares. Non-patogenic organisims, , especially ,α-heamolytic streptococcus, were the dominant bacteria isolated in normal mares in both stud. Two of the 46 endometrial swabs examined were culture positive. Escherichia coli was isolated from this two samples. Taylorella equigenitalis was not isolated from any of the swabs taken. There was not found the relationship between the age of animals and bacterial flora isolated and the correlation the microorganisms isolated and their the distribution to clitoral sinuses.

[1] Doç. Dr. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A.B.D., ANKARA.
2. Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D., ANKARA.
3. Dr. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, ANKARA.
4. Prof. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A.B.D., ANKARA.

As a result; this study findings showed that swab samples taken from clitoral sinuses could be used as a part of veterinary surgeon's diagnostic armoury to determine subfertile mares regarding infectious causes in vernal period.

***Key Words** : Aerobic-microaerophilic bacteria, Swab, Clitoris, Endometrium, Mare*

***Özet** : Bu çalışmada, Saf Kan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan iki işletmede fertil ve fertilite düşüklüğü sorunu bulunan kısrakların uterus ve klitoral sinuslarından alınan swab örneklerinden izole edilen etkenler karşılaştırıldı.*

İşletme A ve İşletme B'e ait toplam 46 adet kısrak fertilite sorunu bulunup bulun mamasına göre kendi işletmelerinde alt gruplara ayrıldı. İşletme A (n=20), fertilite düşüklüğü bulunan kısraklar (n= 8) ve fertilite düşüklüğü bulunmayan kısraklar (n= 12); İşletme B (n= 26) , fertilite düşüklüğü sorunu bulunan kısraklar(n=10) ve fertilite düşüklüğü sorunu bulunmayan kısraklar (n= 16) olarak gruplandırıldı. Çiftleşme mevsimine geçiş döneminde herbir kısrağın klitorisinin 3 ayrı sinusundan ve korumalı swablar yardımı ile uterustan örnekler alındı. Swab örnekleri, aerobik ve mikroaerofilik etkenler yönünden değerlendirmesi amacı ile bakteriyoloji laboratuvarına gönderildi.

İşletme A ve B'de fertilite düşüklüğü sorunu bulunan kısraklardan alınan klitoris örneklerinde aynı oranda (%50), nospesifik patojen mikroorganizma elde edildi (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Proteus spp., β-haemolytic streptococcus). Sorunlu kısraklarda, işletme A'da baskın nonspesifik mikroorganizma, Escherichia coli, olarak belirlenirken; işletme B'de β-hemolitik streptococcus spp. ve α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus-Escherichia coli miks kültürü baskın olarak gözlendi. Her iki işletmede fertilite düşüklüğü sorunu bulunmayan kısraklarda patojenik olmayan α-hemolitik streptococcus'un saf kültürleri baskın mikroorganizma olarak belirlendi. Yalnız işletme B'de 2 kısrakta uterusta Escherichia coli izole edilirken; gerek İşletme A gerekse İşletme B' de Taylorella equigenitalis izole edilemedi. Izole edilen etkenlerin klitoral sinuslara dağılımı ile kısrağın yaşı arasında belirgin bir farklılık gözlenemedi.

Sonuç olarak; bu çalışma bulguları, çiftleşme mevsimi öncesi, enfeksiyonlara bağlı fertilite düşüklüğü sorunu bulunan kısrakların belirlenmesinde diğer klinik muayene yöntemleri ile birlikte klitoral sinuslardan alınan swab örneklerinin de kullanılabileceğini gösterdi.

***Anahtar Kelimeler** : Aerobik - mikroaerofilik bakteri, Swab, Klitoris, Uterus, Kısrak*

Giriş

Kısraklarda, genital organların değişik kesimlerinden bakteriyolojik muayene amacı ile swab örneklerinin alınması; enfekte bir kısraktan enfeksiyon etkenlerinin aygırlara veya başka bir kısrağa taşınmasını önlemek; gebelik sonrası şekillenecek embriyonik ölümlere veya abortlara bağlı infertilite sorunlarını en aza indirmek ve enfekte kısrakların çiftleşme mevsimi içinde belirlenerek tedavi edilmesinde önemli tanı araçlarından birisidir (6).

Ricketts (5), kısrakların genital organlarından izole edilen aerobik ve mikroaerofilik etkenleri üç grup altında toplamıştır. Bunlardan birincisi; genellikle aygırların prepüsyumunda yer alan; klitoris, vestibulum, vagina ve uterusa çiftleşme yolu ile geçen venereal mikroorganizmalardır (*Taylorella equigenitalis, Klebsiella pneumonia, Pseudomonas*

aeruginosa). Bu mikroorganizmalar uterusta akut endometritise neden olurlar. İkinci grup altında yer alan nonspesifik mikroorganizmalar (β-hemolitik streptococcus, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, Proteus spp., Enterobacter spp.) genellikle kısrağın klitoral fossa, vestibulum ve vaginasında bulunur ve uterusa anatomik yapı bozukluklarında, genital organ muayenelerinde ve çiftleşme anında geçerler. Bu mikroorganizmalar, uterusun lokal immun yetmezliğinde akut endometritislere neden olurlar. Nonspesifik mikroorganizmalar, aygır vasıtası ile bir kısraktan diğer bir kısrağa bulaşmazlar. Üçüncü grubu oluşturan patojenik olmayan bulaşıcı mikroorganizmalar (Nonhemolitik streptococcus spp., α-hemolitik streptococcus, *Streptococcus faecalis*, coliforms, *Staphylococcus albus*, Corynebacterium spp. Anthracoides ve Neisseria spp.), klitoral fossa, vestibulum, vagina ve servikste bulunur. Akut endometritis oluşturma yetenekleri oldukca düşüktür. Yüzey mikroflora özelliklerinden dolayı, akut endometritis olgularında venereal ve nonspesifik mikroorganizmalarla birlikte miks enfeksiyonlar oluştururlar.

Uterusa geçen venereal ve nonspesifik mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturma yetenekleri, kısrağın genetik dirençliliğine, yaşına, uterusun hormonal yapısına, uterus sekresyonundaki, lokal immun mekanizmalara (polimorf nükleer lökosit PMV, lenfosit düzeyleri vb.), genital organların anatomik yapı bozukluklarına, uterusun kontraksiyon gücüne ve lenf sisteminin drenajına bağlıdır. Bu mikroorganizmalar uterus dokusunda akut endometritis olgularından başlayarak zamanında tedavi edilmediğinde endometriozise kadar ilerleyen patolojik olgulara ve infertilite sorunlarına neden olabilirler (1, 5, 9, 11). Uterustan sıklıkla izole edilen mikroorganizma, *Streptococcus equi spp. Zooepidemicus (S. Zooepidemicus)* (9). Uterusa gelen patojen mikroorganizmalar, yapılarındaki piluslar (*E.coli, K. pneumonia, T.equigenitalis* vb) ve "nonfimbrial adhesin" (*S. zooepidemicus, Streptococcus pyogenes* vb.) vasıtası ile endometriumun epitel hücre resptörlerine ve fibronektine bağlanırlar. Bakterilerin bir kısmı ise özellikle sekresyon ortamında "biofilm" formu oluşturarak (bir çok Gram pozitif ve Gram negatif bakteri) uterus epitelinde çoğalma imkanı bulur. Biofilm oluşturan mikroorganizmalar uterusun savunma sistemine, dezenfektanlara dirençlidirler (11). Uterus ortamında bulunan bu mikroorganizmalar polisakkarit ihtiva eden kapsül, yüzeylerindeki M-likeprotein; yardımı ile (*S. zooepidemicus*) veya hücre içi yerleşerek (*S. aureus* , *T. equigenitalis*) lokal immun sistemden kendilerini koruyabilirler (8, 11). Uterus epiteline bağlanan Gram negatif bakteriler, salgıladıkları liposakkarit yapısındaki endotoksin, S. *zooepidemicus* ve *S. aureus* salgıladıkları ekzotoksin vasıtası ile endometriumun yangısını, dolayısı ile bölgeye PMN hücumunu uyarır. Gram negatif ve pozitif bakteriler, sekresyon ve kist odaklarının bulunduğu ve kontraksiyonların ve lenf drenajının yetersiz olduğu bir uterus ortamında kolaylıkla bakteriyel kolonizasyonlarını ve dejenerasyonlarını gerçekleştirirler (11).

Bulaşıcı metritis, atlarda *T. equigenitalis* tarafından şekillendirilen venereal bir hastalık olup kısraklarda epidemik fertilite düşüklüklerine neden olur. Bir çok kısrakta hastalık çiftleşmeyi izleyen 2-7 gün içinde müköz vulva akıntısı ve kısa sikluslarla karakterize bir klinik bulgu vermesine rağmen bir çok olguda kısraklarda klitoral fossada ve aygır prepüsyumunda yerleşerek enfeksiyon

belirtisi göstermeden kronik bir seyir izler (10).

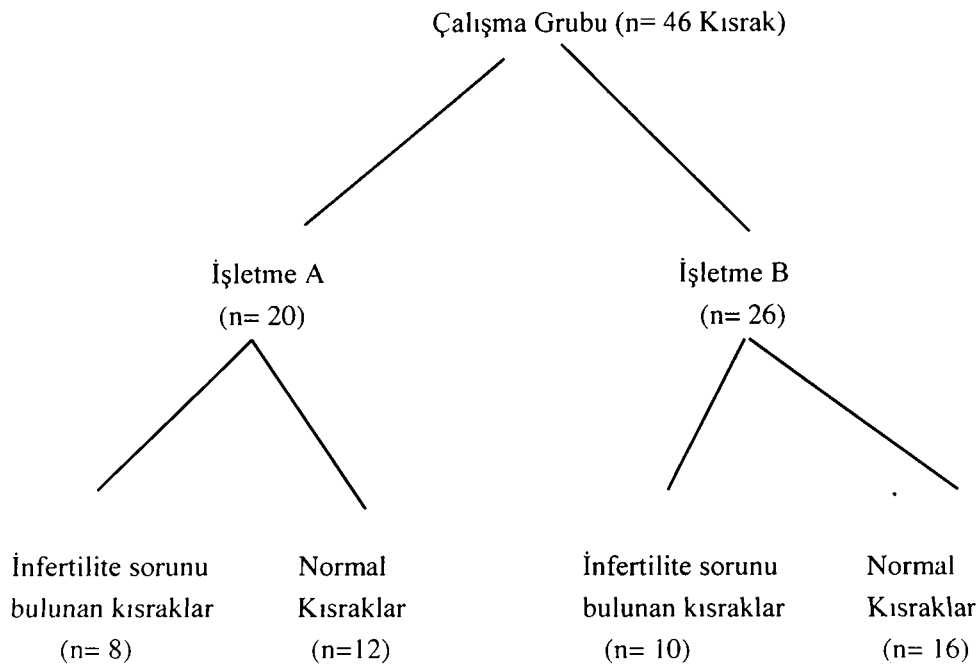
Bu çalışmada, Saf Kan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan iki işletmede çiftleşme öncesi fertil ve infertil kısraklardan alınan klitoris ve uterus örneklerinden izole edilen aerobik ve mikroaerofilik etkenlerin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma Saf Kan Arap Kısrağı yetiştiriciliği yapılan 2 işletmede 1997 yılı çiftleşme mevsimi başında toplam 46 kısrak üzerinde gerçekleştirildi. Kısraklar iyi bakım ve beslenme koşullarında, iklim durumuna göre kapalı padok, açık padok ve merada tutulmaktaydı.

Çalışma grubunu oluşturan hayvanların yaşları 5-23 yaş arasında değişmekle birlikte ortalama 11.8 yaş olarak belirlendi. Çalışmaya alınan kısraklardan iki tanesinde üretim yaşından itibaren canlı tay alınamazken; diğer 44 adet kısrakdan 1-16 adet arasında değişen canlı tay elde edilmiştir.

Çalışmaya alınan 46 kısrağın klitoral fossa ve uterusunun bakteriyolojik muayene bulguları işletme bazında değerlendirildi (İşletme A, n = 20 ve İşletme B, n= 26). Her bir işletmede ise kısraklar , infertilite sorunu bulunan ve bulunmayan kısraklar olarak iki alt gruba ayrıldı (Şema 1). İnfertilite sorunu bulunan kısraklarda yapılan kayıt incelemelerinde, çiftleşme sezonu içinde düzenli talep göstermelerine rağmen infertilite nedeninin açıklığa kavuşturulamadığı gözlenmiştir.



Şekil 1. Çalışmanın uygulama şeması

Çiftleşme sezonu başında bulunan 46 adet kısraktan genital organların bakteriyolojik muayenesi amacı ile özel hazırlanmış steril ve korumalı swablar, spekulum yardımı ile serviksi geçerek uterusa yerleştirildi. Uterusta yaklaşık 2-3 dakika tutulan swablar kısraktan dikkatlice uzaklaştırıldı. Uterustan swab örneği alımını takiben sağ, sol ve merkezi klitoral sinuslardan da steril swab örnekleri alındı. Vipak Transport Swab Sistem ile Amies Transport Medium'a alınan gerek uterus gerekse klitoral örnekler, +4°C'de Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. Laboratuvara ulaştırılan bu örneklerden aerobik ve mikroaerofilik bakterilerin varlığı belirlenmeye çalışıldı.

Araştırmada, besi yeri olarak mikroaerofilik bir bakteri olan, *T.equigenitalis* izolasyonu için %10 defibrine at kanı ile hazırlanmış Eugon Çukulata Agar (ECA)'dan yaralanıldı. Bu besiyeri streptomisin'li (200 µg/ml) ve streptomisin'siz olarak iki seri hazırlandı. Aerobik bakterilerin izolasyonunda %5-7 defibrine koyun kanı ile hazırlanan zenginleştirilmiş Kanlı Agar ve ayrıca MacConkey Agar (Difco) kullanıldı. Sıvı besiyeri olarak da Brain Heart Broth (Difco) ve Nutrient Broth (Difco) dan yararlanıldı.

Laboratuvara gönderilen swablardan ECA'a ve aynı materyalden Kanlı Agar ve MacConkey Agar'lara ekimler yapıldı. Ekimleri yapılan streptomisin'li ve streptomisin'siz ECA'lar nemli, %5-10 CO_2'li atmosferde (Gas Pak System), 37°C'de, 3-14 gün süreyle inkübe edildi. 72 saat inkübasyondan sonra üreyen koloniler Taylorella yönünden ele alınarak 14'üncü güne kadar hergün incelendi. Kanlı Agar ve MacConkey Agar'a ekilen materyaller ise 37°C'de aerobik olarak inkübe edildi ve 3 gün süreyle üreme olup olmadığı kontrol edildi (3, 7).

ECA'da üreyen şüpheli Taylorella kolonileri, ayrıca Kanlı Agar ve MacConkey Agar'da üreyen etkenleri identifiye etmek için klasik biyokimyasal testlerden yararlanıldı (4).

Bulgular

İşletme A'da bulunan 20 adet kısrağın klitorislerinin 3 farklı bölgesinden alınan 60 adet örneğin 11'inden α-hemolitik streptococcus (%18.3), 10'undan *E. coli* (%16.6) ve 7'inden β-hemolitik streptococcus (%11.6) izole edilmiştir (tablo 1).

Bu işletmede, tablo 1'de görüldüğü gibi, infertilite sorunu bulunan 8 adet kısraktan alınan 24 adet klitoris örneğinden, 10'unda non spesifik patojen mikroorganizmalar, saf olarak izole edilirken (%41.7), 2 örnekten patojen olmayan bulaşıcı mikroorganizmalarla birlikte miks kültürler izole edilmiştir (%8.3). Bu grupta, 5 örnekten etken izole edilememiştir (%20.8). İntertilite sorunu olan kısraklardan baskın mikroorganizma olarak nonspesifik bir patogen olan *E. coli* (%25) izole edilmiştir (tablo 1).

Tablo 1. İşletme A'da klitorisden izole edilen aerobik bakteriler ve bunların infertilite sorunu bulunan ve bulunmayan kısraklara göre dağılımları
Table 1. Aerobic bacteries isolated from clitoral sinuses - uterus and the distribution of these organisims in normal and subfertile mares in Stud A.

Etken	Klitoris*	Uterus	Sorunlu kısraklar (n=8)	Sorunsuz kısraklar (n=12)
Non-spesifik patojenler				
β-hemolitik streptococcus	7 (%11.6)	-	3 (%12.5)	4 (%11.1)
S. aureus	3 (%5)	-	1 (%4.2)	2 (%5.5)
E. coli	10 (%16.6)	-	6 (%25)	4 (%11.1)
Proteus spp.	2 (%3.3)	-	-	2 (%5.5)
Toplam	22 (%36.5)		10 (%41.7)	12 (%33.2)
Mix kültürler				
S. aureus- α-hemolitik streptococcus	2 (%3.3)	-	2 (%8.3)	-
α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus	6 (%10)	-	-	6 (%16.6)
Toplam	(%1813.3)		2 (%8.3)	6 (%16.6)
Non-patojenler				
α-hemolitik streptococcus	11 (%18.3)	-	3 (%12.5)	8 (%22.2)
Nonhemolitik streptococcus	3 (%5)	-	3 (%12.5)	-
Bacillus spp.	1 (%1.6)	-	1 (% 4.2)	-
α-hemolitik streptococcus- Acinetobacter spp.	1 (%1.6)	-	-	1 (%2.7)
Toplam	16 (%26.5)		7 (%29.2)	9 (%24.9)
Üreme negatif	14 (%23.3)	20 (%100)	5 (%20.8)	9 (%25)
Genel Toplam	60	20	24	36

* Örnekler toplam 20 adet kısrağın sağ, sol ve orta klitoral sinuslardan alınmıştır

** Noktadan sonraki rakamlar tek haneli olarak alınmıştır.

İşletme A'da infertilite sorunu bulunmayan 12 kısrağın 36 klitoris örneğinden 12 adetinde nospesifik mikroorganizmalar saf olarak izole edilirken (%33.2), 6 örnekte non patogenik mikroorganizmalarla miks kültür oluşturmuşlardır (%16.6). İnfertilite sorunu bulunmayan kısraklarda, 9 örnekten etken izole edilememiştir (%25). Bu grupta baskın mikroorganizma, %22.2 oranı ile α-hemolitik streptococcus olarak belirlenmiştir (tablo1).

İşletme B'de 26 kısraktan alınan 78 klitoris örneğinin 17'sinde (%21.8) α-hemolitik streptococcus ve 10 adedinde (%12.8) β-hemolitik streptococcus baskın mikroorganizma olarak gözlenmiştir (tablo 2).

İşletme B'de infertilite sorunu bulunan 10 kısrakdan alınan 30 klitoris örneğinde nonspesifik mikroorganizmalar saf olarak 7 örnekten (% 22.9) ve miks kültür olarak 8 örnekten (% 26.5) izole edildi. Saf kültürlerde baskın mikroorganizma olarak β-hemolitik streptococcus belirlenirken; miks kültürlerde α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus-*E. coli* kombinasyonu belirlendi. Bu grupta 6 örnekte etken izole edilemedi. Klitorislerinden miks kültür izole edilen (α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus-*E.coli*) iki kısrağın uteruslarından *E. coli* izole edildi (tablo 2). İşletme B'de infertilite sorunu bulunmayan 16 kısrağın klitoral fossalarından alınan 48 örne-

ğin özellikle 13'ünde (%27.1), diğer izole edilen mikroorganizmalara göre belirgin bir farkla α-hemolitik streptococcus izole edilmiştir. Ayrıca bu grupta 15 örnekten (%31.2), etken izole edilememiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İşletme B'de klitorisden izole edilen aerobik bakteriler ve bunların infertilite sorunu bulunan ve bulunmayan kısraklara göre dağılımı
Table 2. Aerobic bacteries isolated from clitoral sinuses - uterus and the distribution of these organisims in normal and subfertile mares in Stud B.

Etken	Klitoris*	Uterus	Sorunlu Kısraklar (n=10)	Sorunsuz kısraklar (n= 16)
Non-spesifik Patojenler				
β-hemolitik streptococcus	10 (%12.8)	-	5 (%16.6)	5 (%10.4)
E. coli	3 (%3.8)	2 (%7.7)	1 (%3.3)	2 (%4.2)
S. aureus	3 (%3.8)	-	1 (%3.3)	2 (%4.2)
Toplam	16 (%20.4)	2 (%7.7)	7 (%22.9)	9 (%18.8)
Mix Kültürler				
β-hemolitik streptococcus- *E. coli*	2 (%2.5)	-	1 (%3.3)	1 (%2.1)
S. aureus- α-hemolitik streptococcus	2 (%2.5)	-	1 (%3.3)	1 (%2.1)
α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus	2 (%2.5)	-	-	2 (%4.2)
α-hemolitik streptococcus- *E. coli*	1 (%1.3)	-	1 (%3.3)	-
α-hemolitik streptococcus - β-hemolitik streptococcus- *E. coli*	5 (%6.4)	-	5** (%16.6)	-
Toplam	12(%15.2)		8 (%26.5)	4 (%8.4)
Non-patojenler				
α-hemolitik streptococcus	17 (%21.8)	-	4 (%13.3)	13 (%27.1)
Nonhemolitik streptococcus	2 (%2.5)	-		2 (%4.2)
Bacillus spp.	5 (%6.4)	-	3 (%10)	2 (%4.2)
Acinetobacter spp.	2 (%2.5)	-	-	2 (%4.2)
α-hemolitik streptococcus- Acinetobacter spp.	1 (%1.3)	-	-	1 (%2.1)
Neisseria spp.	1 (%1.3)	-	1 (%3.3)	-
Corynebacter spp. α-hemolitik streptococcus	1 (%1.3)	-	1 (%3.3)	-
Toplam	29 (%37.1)		9 (%30)	20 (%41.6)
Üreme negatif	21 (%26.9)	24 (%92.3)	6 (%20)	15 (%31.2)
Genel Toplam	78	26	30	48

* Örnekler toplam 26 adet kısrağın sağ, sol ve orta klitoral sinuslardan alınmıştır
** Bu gruptaki iki kısrağın uterusundan aynı zamanda *E. coli* izole edildi.
*** Noktadan sonraki rakamlar tek haneli olarak alınmıştır.

Gerek İşletme A gerekse İşletme B'de infertilite sorunu bulunan her bir kısrağın klitorisinden izole edilen mikroorganizmalar, klitoral sinuslar arasında genellikle simetrik

bir dağılım gösterirken; izole edilen etken ve yaş arasında bir paralellik gözlenmedi (tablo 3). Her iki işletmede infertilite sorunu bulunan kısraklarda örneklerin alındığı çiftleşme sezonu içinde gebelik elde edilemedi.

Tablo . 3. İşletme A ve B'de infertilite sorunu bulunan kısraklardan izole edilen etkenlerin klitoral sinus ve yaşa göre dağılımı.

Table 3. The distribution of aerobic microorganisms isolated from subfertile mares according to clitoral sinuses and mare's age in stud A and stud B

İZOLE EDİLEN ETKEN	İŞLETME A				İŞLETME B			
	Ortal. Yaş	Sağ Kli.Si	Sol Kli.Si	Orta Kli.Si	Ortal. Yaş	Sağ Kli.Si	Sol Kli.Si	Orta Kli.Si
β-hemolitik streptococcus	13	1	1	1	11.3	1	2	2
E. coli	11	2	2	2	8	-	-	1
S. aureus	19	-	1	-	17	-	1	-
Proteus spp.								
β-hemolitik streptococcus-*E. coli*					8	1	-	-
S. aureus-α-hemolitik streptococcus	12	1	-	1	17	-	1	-
α-hemolitik streptococcus β-hemolitik streptococcus								
α-hemolitik streptococcus-*E. coli*					16	-	1	-
α-hemolitik streptococcus β-hemolitik streptococcus-*E. coli*					13	3	-	2
α-hemolitik streptococcus	10.5	1	1	1	12	1	2	1
Nonhemolitik streptococcus	12	1	1	1				
Bacillus spp.	12	1	-	-	13	1	2	-
Acinetobacter spp.								
Neisseria spp.					17	1	-	-
α-hemolitik streptococcus-Acinetobacter spp.								
Corynebacter spp. α-hemolitik streptococcus					10	-	-	1
Üreme negatif	11.2	1	2	2	15	2	1	3
Toplam		8	8	8		10	10	10

Ortal.Yaş : etkenin izole edildiği kısrakların ortalama yaşı

Sağ Kli.Si. : Sağ klitoral sinus

Sol Kli. Si. : Sol klitoral sinus

Orta Kli Si. : Orta klitoral sinus

İnfertilite sorunu bulunmayan, İşletme A'da 12 adet ve İşletme B'de 16 adet kısrağın herbirinin klitoral sinusları arasındaki mikroorganizma dağılımları bir örneklilik gösterirken bu grupta her iki işletmede de yaş ile izole edilen mikroorganizma arasında bir ilişki gözlenememiştir (Tablo 4).

Çalışmaya alınan kısraklarda *T. equigenitalis* izole edilememiştir.

Tablo .4. İşletme A ve B'de infertilite sorunu bulunmayan kısraklardan izole edilen etkenlerin klitoral sinus ve yaşa göre dağılımı.

Table 4. The distribution of aerobic microorganisms isolated from normal mares according to clitoral sinuses and mare's age in stud A and stud B.

İZOLE EDİLEN ETKEN	İŞLETME A				İŞLETME B			
	Ortal. Yaş	Sağ Kli.Si	Sol Kli.Si	Orta Kli.Si	Ortal Yaş	Sağ Kli.Si	Sol Kli.Si	Orta Kli.Si
β-hemolitik streptococcus	10	2	2	-	10	1	1	3
E. coli	12.5	1	1	2	13.5	-	1	1
S. aureus	10	1	-	1	11.6	1	1	-
Proteus spp.	11	1	1	-				
β-hemolitik streptococcus-*E. coli*					14	1	-	-
S. aureus-α-hemolitik streptococcus					9	1	-	-
α-hemolitik streptococcus β-hemolitik streptococcus	13	2	2	2	9	1	1	-
α-hemolitik streptococcus-*E. coli*								
α-hemolitik streptococcus β-hemolitik streptococcus-*E. coli*								
α-hemolitik streptococcus	15	4	2	2	11.6	5	2	6
Nonhemolitik streptococcus					9.5	-	2	-
Bacillus spp.					14.6	1	-	1
Acinetobacter spp.					10.5	-	2	-
Neisseria spp.								
α-hemolitik streptococcus-Acinetobacter spp.	23	-	1	-	11	-	1	-
Corynebacter spp. α-hemolitik streptococcus								
Üreme negatif	13.5	1	3	5	11.6	5	5	5
Toplam		12	12	12		16	16	16

Ortal.Yaş : etkenin izole edildiği kısrakların ortalama yaşı

Sağ Kli.Si. : Sağ klitoral sinus

Sol Kli. Si. : Sol klitoral sinus

Orta Kli Si. : Orta klitoral sinus

Tartışma ve Sonuç

Safkan Damızlık kısrak yetiştiriciliği yapılan işletmelerde enfeksiyon etkenlerine bağlı fertilite düşüklüğü sorunları önemli yer tutmaktadır. Bunlar arasında venereal ve nonspesifik patogen mikroorganizmalar; seksüel siklusun belli dönemlerinde (özellikle çiftleşme mevsimi öncesi, östrus ve tay kızgınlığında), kısrağın klitoral fossa, vestibulum, uterus ve aygırların prepüsyumundan alınacak swab örnekleri ile kolaylıkla tanınabilmektedir (5,9,10).

Yurtaydın ve ark(12), Safkan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan bir işletme de infertilite sorunu bulunan 86 adet kısrağın 65'inin (%75.6) klitorisinden ve 12'sinin (%13.9) serviksinden etken izole etmiştir.Bu çalışmada klitorisden izole edilen etkenleri, *E. coli, S. aureus, S. epidermis, K. pneumonia,* Bacillus spp. , Corynebacterium spp. , Acinetobacter spp. , Streptococcus spp., Pseudomonas spp. ve Morexalla spp., olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar, bu çalışmada ayrıca, 12 adet kısrağın uterusundan *E. coli* (8 adet kısrak), *S. agalactia* (1 adet kısrak) ve streptococcus spp. (2 adet kısrak) izole etmişlerdir.

Ricketts (5), 1973-1979 yılları arasında safkan kısraklardan toplanan 11.922 adet servikal swab örneğini değerlendirmiştir. Bu örneklerin %54'ünde üreme olmazken, %29'unda saf, %17'inde ise miks etkenlerin ürediğini açıklamıştır. Ayrıca bu çalışmada izole edilen etkenlerin %15'i *E. coli*, %14'ü β-hemolitik streptococcus, %13'ü *S. albus,* %7 Non-hemolitik streptococcus, %6 *S. aureus* , %3 α-hemolitik streptococcus, %3 coliform, %2 Corynebacter spp. olarak belirlemiştir. Scott ve ark .(6), mezbaha koşullarında 100 adet kısrağın genital organlarının 4 ayrı bölgesinden (posterior vagina, eksternal os uteri, serviks kanalı ve korpus uteri) almış oldukları swab örneklerini aerobik bakteriler yönünden değerlendirmeye almışlardır. Bu örneklerden sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar, sırasıyla, β-hemolitik streptococcus, Coliform, Pseudomonad ve koagulaz - negatif Staphylococcus'lar olarak belirlenmiştir. Araştırıcılar, vaginadan uterusa doğru gidildikçe izole edilen etken sayısının azaldığını saptamışlar ve bunu genital organların bu bölgesindeki lokal savunma sistemlerinin gücüne bağlamışlardır.

Hinrichs ve ark.(2), fertilite düşüklüğü bulunan kısrakların uterusundan almış oldukları swab örneklerinin %31'inde, vaginal örneklerin %42'inde nonpatojenik bakterilere rastlarken; bu kısrakların vestibulum örneklerinin %44'ünde ve klitoral fossalarından almış oldukları örneklerin %94'ünde *S. zooepidemicus* ve *E. coli* nin baskın olduğu patojen mikroorganizmaların izole edildiğini açıklamışlardır. Araştırıcılar sonuç olarak; etkenlerin uterusa ulaşmasında ve patojenitelerinin artmasında, kısrağın genital organlarının hormonal dengesizliklerinin, anatomik yapı bozukluklarının , lokal immun yanıtın ve uterus dokusunun kontraksiyon gücünün azalmasının ve lenf sistemlerinin fonksiyonel olmamasının öneminin büyük olduğunu vurgulamışlardır.

Sunulan çalışmada, gerek İşletme A gerekse İşletme B'de venereal mikroorganizma izole edilemedi. Çalışmada izole edilen etkenler, Hinrichs ve ark. (2) , Ricketts (5), Scott ve ark. (6) ve Yurtaydın ve ark.(12)'nın klitoral fossalarından izole edilen etkenlerle paralellik göstermiştir. Benzer bakım ve çiftleştirme koşullarına sahip İşletme A ve İşletme B'de infertilite sorunu bulunan kısrakların klitorislerinden alınan örneklerde non spesifik

patojen mikroorganizmaların yaklaşık oranlarda baskın olduğu gözlendi (İşletme A-%50; İşletme B-%49.9). İşletme A'da infertilite sorunu bulunan kısraklarda baskın nonspesifik patogen mikroorganizma , *E. coli* olarak belirlenirken; İşletme B'de β-hemolitik streptococcus spp. ve α-hemolitik streptococcus - β-hemoli-tik streptococcus-*E. coli* miks kültürü baskın olarak bulundu. Her iki işletme de infertilite sorunu bulunmayan kısraklarda yaklaşık oranlarda patogenik olmayan, α-hemolitik streptococcus'un saf kültürleri baskın mikroorganizma olarak saptandı. (İşletme A- %22.2, İşletme B- %27.1).

Bulgularda da belirtildiği gibi her iki işletmede infertilite sorunu bulunan kısraklarda uterusta belirgin oranda patojen etken izole edilemese de; aşım mevsimi öncesi klitorislerinden alınan swab örneklerinde nonspesifik patojen mikroorganizmalar yönünden yüksek bir izolasyon oranının bulunduğu gözlendi. Her ne kadar çalışmada çiftleşme sonrası etken izolasyonuna gidilmese de klitoral fossada bulunan etkenlerin uterusa araştırıcıların belirttiği gibi (1,5,9,10), özellikle çiftleşme sonrası ulaşarak akut yangılar oluşturduğu düşünülmektedir. Bu bulgular, infertilite sorunu bulunan ve enfeksiyonlara duyarlı kısrakların aşım mevsimi öncesinde belirlenmesinde klitoral fossalardan alınacak swab örneklerinin bir kriter olarak alınabileceğini göstermiştir. Scott ve ark.(6), her ne kadar genç hayvanların klitoral fossalarından izole edilen baskın mikroorganizmaların β-hemolitik streptococcus ve Pseudomonad'lar olduğunu açıklasa da çalışmada yaş ve izole edilen etken arasında bir ilişki gözlenemedi. Bunu sunulan çalışmada kullanılan hayvan materyalinin azlığına ve farklı çevre koşullarına bağlayabiliriz. Çalışmada izole edilen etkenler klitoral sinuslar arasında genellikle bir örnek dağılım göstermiş ve izole edilen etken sayısı yönü ile sinuslar arasında belirgin bir farklılık gözlenememiştir.

Sonuç olarak; Saf Kan Arap Kısrağı yetiştiriciliği yapılan bu iki işletmede; çalışma bulguları gözönüne alındığında, fertilite düşüklüğü sorunu bulunan kısraklarda, klitoral fossa ve uterusdan, çiftleşme mevsimine geçiş döneminde, çiftleştirilmenin gerçekleştirileceği östrus başında ve ovulasyonu izleyen 72 saat sonra serviksden swab örneklerinin alınarak değerlendirilmesi, gebe kısraklarda doğumdan önce ve doğum sonrası tay-kızgınlığında serviks, klitoral fossa ve uterustan swab örneklerinin alınması ile enfeksiyona bağlı infertilite sorunlarında azalma olacağı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Allen, W.R.** (1993) *Equine endometritis : John P. Hughes International Workshop.* Equine Vet. J., **25**(3), 184-194.
2. **Hinrichs, K., Cummings, M.R., Sertich, P., Kenney, R.M.** (1989) *Bacteria recovered from the reproductive tracts of normal mares.* Proc. 35th Am. Conv. Am.Ass.Equine Pract. , 11-16
3. **Kamada, M., Akiyama, Y., Oda, T., Fukuzawa, Y.** (1981) *Contagious equine metritis: Isolation of Haemophilus equigenitalis from horses with endometritis in Japan.* Jpn. Vet. Sci., **43**, 565-568.
4. **Koneman, E. W., Janda, W. M. Schereckenberger, P. C., Wim, W.L.** (1992) *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Fourth Edition J.B. Lippincolt Company, Philadelphia.
5. **Ricketts, S. W.** (1981). *Bacteriological examinations of the mare's cervix: Techniques and interpretation of results.* Vet.Rec., 108, 46-51.

6. **Scott, P. , Daley, P., Baird, G.G., Sturgess, S. and Frost, A.J.** (1971) *The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of the mare.* Vet Rec, **88**, 58-61.

7. **Sugimoto, C., Isayama, Y., Kashıwazaki, M., Fujikura, T., Mıtani, K.** (1980) *Detection of Haemophilus equigenitalis the causal agent of contagious equine metritis, in Japan.* Natl.Inst.Anim.Health A (Jpn), **20**, 118-119.

8. **Troedsson, M. H. T.** (1997) *Therapeutic considerations for mating-induced endometritis.* Pferdeheilkunde, **5**, 516-520

9. **Watson, E.D.** (1988) *Uterine defence mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: A review.* Equine Vet. J., **20**(6), 397-400.

10. **Watson, E. D.** (1997) Swabbing protocols in screening for contagious equine metritis. Vet Rec, **140**, 268-271.

11. **Wittenbrink, M. M., Hölzle, L. and Baumeister, A. K.** (1997) *Mechanisms of bacterial pathogenesis in equine endometritis.* Pferdeheilkunde, **5**, 450-452.

12. **Yurdaydın, N., Erdeğer, J., Tekin ,N., Daşkın, A., Keskin, O., Klug, E.** (1992) *Atlarda infertiliteye neden olan mikrofloranın saptanması.* Etlik Vet Mikrob Derg. 2 (7), 93-107.