

Şanlıurfa Bölgesi'nde Atlarda *Taylorella equigenitalis*'in Kültür ve PCR Yöntemi ile Saptanması ^[1]

Osman Yaşar TEL *  Oktay KESKİN * Abuzer K. ZONTURLU **
Asiye DAKMAN *** Nafiz YURDAYDIN****

[1] Bu çalışma HÜBAK 785 nolu proje ile desteklenmiştir

* Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-63100 Şanlıurfa - TÜRKİYE

** Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, TR-63100 Şanlıurfa - TÜRKİYE

*** Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü, TR-06100 Ankara - TÜRKİYE

**** Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, TR-63100 Şanlıurfa - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-1245

Özet

Bu çalışmada Şanlıurfa bölgesi'nde bulunan 180 kısra ve 20 aygır olmak üzere toplam 200 adet safkan Arap atından alınan 780 adet svab örneği incelendi. Alınan örnekler kültür, direkt-PCR ve kültür-PCR yöntemleriyle değerlendirildi. Svab örneklerinin bakteriyolojik muayeneleri sonucunda *Taylorella equigenitalis* izole edilemedi. Moleküler inceleme sonucunda, direkt-PCR ile 5 (%2.7) kısra ve 8 (%4.4) kısra pozitiflik saptandı. Direkt PCR ve kültür PCR ile 5 kısra pozitif bulunurken, 3 kısra sadece kültür-PCR ile pozitif olarak saptandı. Sağlıklı kısralar ve aygırlarda pozitiflik belirlenmedi. Sonuç olarak, Şanlıurfa yöresinde *T. equigenitalis*'in sorun olduğu ve PCR metodunun kültür yöntemine göre daha üstün ve rutin teşhiste uygulanabilir bir test olduğu kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: *Taylorella equigenitalis*, PCR, Kısra, İnfertilite

Detection of *Taylorella equigenitalis* in Horses by Means of Bacteriological Culture and PCR in Sanliurfa Region, Turkey

Summary

In this study; swab samples (n: 780) of mares (n: 80) and stallions (n: 20) were analyzed in total of 200 throughbred Arabian Horses from Sanliurfa Region. The samples were analysed by culture, direct PCR and culture-PCR methods. *Taylorella equigenitalis* was notisolated after bacteriological examination of swab samples. Following molecular analyses; 5 (2.7% of mares) and 8 (4.4% mares) positive samples were found by direct PCR and culture-PCR, respectively. While five mares were positive by direct PCR and culture-PCR, three mares were only positive by culture-PCR. No *T. equigenitalis* detection was found in health mares and stallions. As a result; *T. equigenitalis* is a problem in Sanliurfa region. PCR method is more sensitive than culture and it can be used for routine diagnosis.

Keywords: *Taylorella equigenitalis*, PCR, Mare, Infertility

GİRİŞ

Taylorella equigenitalis'in neden olduğu Atların Bulaşıcı Metritisi (CEM) kısra ve aygırlarda servisit, vajinit, endometrit ve infertilite ile karakterize, çok bulaşıcı veneral bir hastalıktır ¹⁻⁴. Hastalık ilk kez 1977 yılında İngiltere ⁵ ve İrlanda'da ⁶ safkan atlarda saptanmıştır.

Daha sonra safkan yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede salgınlar halinde ortaya çıkmıştır ⁷⁻⁹. Türkiye'de ise ilk kez 1998 yılında Özgür ve ark. ⁷ tarafından iki kısradan *T. equigenitalis* izole edilerek hastalığın varlığı saptanmıştır. Etken sadece tek tırnaklıları infekte etmektedir. Yapılan



İletişim (Correspondence)



+90 414 3183918



oyasar@harran.edu.tr

çalışmalarda CEM eşeklerde hastalık oluştururken sığır, domuz, koyun ve kedilerde oluşturmadığı bildirilmiştir¹⁰⁻¹². CEM kısıraklarda kısa süreli infertilite oluşturmasının yanında kısarak ve aygırların asemptomatik taşıyıcı olmalarından dolayı uluslararası önemini sürdürmektedir¹³⁻¹⁵.

Hastalığın kesin tanısı etken izolasyonu ile yapılmaktadır. Ancak *T. equigenitalis*, yavaş üreyen bir bakteri olmasından dolayı kültür yoluyla tanısı uzun zaman almaktadır^{4,14}. Son yıllarda geliştirilen polimeraz zincir reaksiyonu'nun (PCR) etkenin saptanmasında daha hızlı ve daha duyarlı bir metod olduğu bildirilmiştir¹⁶⁻²⁰. Bu metodun Gram negatif yada Gram pozitif bakterilerle yoğun bir şekilde kontamine materyallerin incelenmesinde kullanımının özellikle yararlı olacağı bildirilmiştir^{14,20,21}. PCR işlemi direk olarak svaptan yapılabildiği gibi standart kültür işlemi ile birlikte de yapılabilir. Direkt-PCR ve kültür-PCR metodunun birlikte uygulanmasının etkenin saptanmasında hızlı, spesifik ve duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir^{18,22}.

Bu çalışmada, Şanlıurfa yöresinde bulunan damızlık safkan Arap aygır ve kısıraklarda *T. equigenitalis* varlığının belirlenmesi ve kültür, kültür-PCR ya da direkt PCR tekniklerinin kullanılabilirliğinin saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Klinik Örnekler

Şanlıurfa merkez ve yakın çevresinde bulunan işletmelerde bulunan 4-25 yaş arası, en az 1 kez doğum yapmış 180 adet safkan Arap kısarak (klitoral fossa ile sağ, sol ve medial klitoral sinüslardan olmak üzere 4 adet svab) ve 20 adet aygır (Penis kılıfı, uretral sinus, fossa glandis olmak üzere 3 adet svab) olmak üzere toplam 200 adet safkan Arap atından alınan 780 adet svab örneği incelendi. Çalışmada, 1-5 yıldır gebe kalmayan, endometritis, erken embriyonik ölüm veya abort semptomlarından en az birini gösteren 150 kısarak ile sağlıklı 20 aygır ve 30 kısarak değerlendirildi. Alınan svablar Amies charcoal transport medium içerisinde ve +4°C'de Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilerek en kısa sürede ekimleri gerçekleştirildi.

İzolasyon

Alınan örneklerden izolasyon OIE (World Organisation for Animal Health)'nin bildirdiği yöntemle yapıldı¹⁰. Kısarak ve aygırlara ait her bir ürogenital svap örneğinin 1/3'lük kısmı ilk olarak MECA-CTA (Modifiye Eugon Cholate agar-Clindamycin + Trimethoprim + Amphoteresinli) ikinci 1/3'lük kısmı MECA-A (Modifiye Eugon Cholate agar-Amphoteresinli)

ve son 1/3'lük kısmı MECA-AS (Modifiye Eugon Cholate agar-Amphoteresin + Streptomisinli) besi yerlerine ekimleri yapıldı. Her ekimde kontrol amaçlı olarak standart *T. equigenitalis* K188 suşu da besi yerlerine ekilerek 37°C'de %5-10 CO₂ ortamda 4-7 gün inkubasyona bırakıldı.

İdentifikasyon

İnkubasyon süresi sonunda S-tipli, sarımsı-gri, çapları 2-3 mm'den küçük koloniler şüpheli olarak kabul edildi. Şüpheli kolonilerin Gram boyama ve biyokimyasal testleri (oksidaz katalaz, fosfataz, indol, üreaz, nitrat vb) standart yöntemlere göre yapılarak incelendi^{23,24}.

Moleküler Yöntem

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen svap örneklerinden direkt PCR ve üreyen kolonilerden kültür-PCR yapıldı.

Direkt PCR

Direkt-PCR Duquesne ve ark.²¹ tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Bu amaçla, +4°C'de saklanan svab örnekleri 200 µL steril distile su ile süspanse edildi. DNA ekstraksiyonu ticari DNA ekstraksiyon kiti (Fermentas) kullanılarak gerçekleştirildi.

Her bir örnek için PCR reaksiyon karışımı; 3 µL MgCl₂, 1 µL dNTP karışımı, 1 µL Te1 (pozisyon 70-90), CAG CAT AAG GAG AGC TTG CTT TTC T), 1 µL Te2 (Pozisyon 462-483), GTC CAT GGT ATT AAC ACA AAC, 5 µL PCR buffer, 0.25 µL Taq DNA polimeraz, ve final konsantrasyonu 50 µL olacak şekilde steril distile sudan hazırlandı. Karışıma 4 µL template DNA eklendi. PCR inkubasyon sıcaklık ve süreleri sırasıyla, 94°C'de 3 dakikalık ilk denaturasyon, 94°C'de 30 saniye denaturasyon, 50°C'de 45 saniye primer bağlanması, 72°C'de 1 dakikalık ekstensiyonu içeren 30 siklustan oluştu. PCR sonucunda amplifiye edilen örnekler, %2'lik jelde elektroforeze tabi tutuldu ve sonuçlar UV Transilluminatörde değerlendirildi.

Kültür PCR

Bu amaçla inkubasyon sonucunda üreyen kolonilerden bir öze dolusu alınarak PBS ile süspanse edildi ve 10 dak. 3.000xg'de santrifüj edilerek oluşan pelet 100 µL distile su ile süspanse edildi. Süspanسیون 100°C'de 15 dak. tutularak DNA Bleumink-Pluym ve ark.'nın¹⁸ bildirdiği yöntemle ekstrakte edildi. Örnekler, 12.000xg'de 1 dak. santrifüj edilerek elde edilen supernatant 10 µL template DNA olarak kullanıldı. PCR karışımı ve inkubasyon sıcaklık süreleri direkt yöntemde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi ve sonuçlar %2'lik jelde elektroforezetabi tutularak değerlendirildi.

BULGULAR

Klasik Yöntem

Alınan svab örneklerinin bakteriyolojik muayeneleri sonucunda *T. equigenitalis* izole edilmedi.

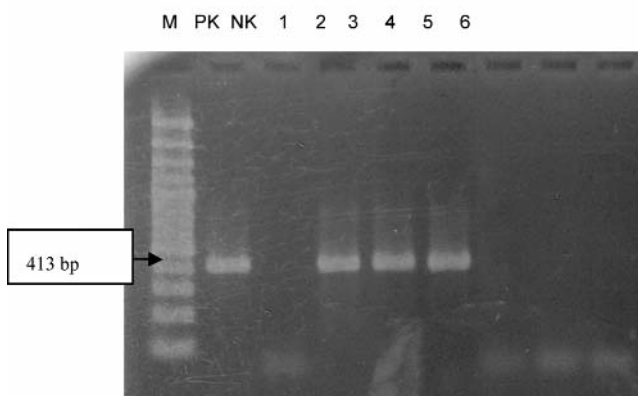
Moleküler Yöntem

Yüzseksen kısıraktan alınan 720 svap ve 20 aygırdan alınan 60 svap direkt ve kültür PCR ile incelendi. Bu incelemeler sonucunda, 5 (%2.7) kısıraktan alınan svapların yapılan direkt-PCR sonucunda 413 bp bantlar saptandı. Kültür sonucunda üreyen şüpheli kolonilerin yapılan kültür-PCR sonucunda 8 (%4.4) hayvanda *T. equigenitalis* spesifik bantlar saptandı (Şekil 1). 5 kısrağın hem direkt PCR hem de kültür PCR pozitif bulunurken, 3 kısrağın sadece kültür-PCR pozitif bulundu. Sağlıklı kısrağlar ve aygırlarda pozitiflik saptanmadı (Tablo 1).

Tablo 1. At genital svaplarından *T. equigenitalis*'in kültür ve PCR ile saptanması

Table 1. Detection of *T. equigenitalis* in genital swabs from horses by culture and PCR

Hayvan	Hayvan (svap) Sayısı	Kültür	PCR	
			Direkt PCR	Kültür PCR
Kısrağ	180 (720)	-	5 (%2.7)	8 (%4.4)
Aygır	20 (60)	-	-	-
Toplam	200 (780)	-	5 (%2.5)	8 (%4.0)



Şekil 1. PCR sonucu elde edilen bantlar

M- Moleküler ağırlık marker (Gene Ruler TM 100 bp DNA Ladder Plus, Fermantas, Litvanya), **PK-** Pozitif kontrol, **NK-** Negatif kontrol, **1, 2, 3-** *T. equigenitalis* pozitif örnekler, **4, 5, 6-** *T. equigenitalis* negatif örnekler

Fig 1. Detection of 413 bp DNA fragments by PCR

M- Gene ruler DNA ladder (Fermantas, Litvanya), **PK-** Positive **NK-** Negative, **1, 2, 3-** *T. equigenitalis* pozitif samples, **4, 5, 6-** *T. equigenitalis* negatif samples

TARTIŞMA ve SONUÇ

CEM, safkan at yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara neden olan önemli bir enfeksiyondur. Hastalığın dünya üzerinde yayılışını en aza indirmek için enfeksiyon kontrol programlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle CEM'in epidemiyolojik durumunu belirlemek için çeşitli teşhis yöntemleri kullanılmaktadır.^{10,14,25} *T. equigenitalis*'in teşhisi amacıyla kullanılan kültür, altın standart yöntem olarak bildirilmiştir.^{10,23} Etkenin yavaş üremesi ve genital floradaki kontaminant bakteriler tarafından baskılanması, atipik koloni morfolojisi gösteren *T. equigenitalis* suşlarının bulunması, kültür yöntemi için dezavantajlar olarak belirtilmiştir. Bu nedenle etkeni taşıyan ancak kültür yöntemiyle tespit edilemeyen hayvanlar pratikte önemli sorunlar oluşturmaktadır.^{16,18,19} Bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak için son yıllarda pek çok araştırmacı kültür metoduna göre daha hızlı, daha güvenilir, spesifikite ve sensitivitesi daha yüksek farklı PCR teknikleri geliştirmişler ve kültür metodu ile karşılaştırarak PCR tekniğinin daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.^{14,18,21,22} Yurdaydın ve ark.²⁶, Sevinç ve ark.²⁷, Özgür ve ark.²⁸, Ak ve ark.²⁹, Ulgen ve ark.³⁰, Türkiye'nin farklı bölgelerindeki infertil kısrağ ve/veya aygırlarda yapmış oldukları bakteriyolojik çalışmalarda etkeni izole edememişlerdir. Erdeğer ve ark.³¹ Gemlik'te yaptıkları çalışmada 114 fertil, 136 infertil olmak üzere toplam 250 adet hayvandan alınan örneklerden kültür yöntemiyle etken izole edememişler ancak değişen oranlarda seropozitiflik saptamışlardır. Bu çalışmada kültür yöntemiyle etken izole edilememiştir. Bu sonuç araştırmacıların bulgularına benzerdir.²⁶⁻³¹

Bleumink-Pluym ve ark.¹⁸ yaptıkları çalışmada, 191 svab örneğinden kültür ile 3 (%1.5), direkt PCR ile 26 (%13), kültür-PCR ile 68 (%35) pozitif sonuç elde etmişler ve kültür-PCR tekniğinin, klasik kültür yöntemine göre daha üstün olduğunu saptamışlardır. Hollanda'da yapılan bir çalışmada klinik belirti görülmeyen 107 kısıraktan alınan svab örneklerinin hiç birisinden etken izole edemeyen, kültür-PCR tekniği ile 49 örnekte pozitiflik belirlenmiştir.⁴ CEM'in hızlı tanısı için yapılan bir çalışmada 1865 safkan kısrağ ve 38 safkan aygırdan alınan 3123 genital svab örneğinden kültür yöntemiyle 2 adet, PCR tekniği ile 12 adet pozitif sonuç bildirilmiştir.¹⁶ Anzai ve ark.¹⁷ Japonya'da 1998-2001 yılları arasında 4026 safkan damızlık kısrağ ve aygırdan 7534 svab örneğini kültür, direkt-PCR ya da kültür-PCR ile değerlendirmişlerdir. Çalışmanın başlangıcında kültür yöntemiyle sadece 2 kısıraktan etken izole edilirken, direkt ve/veya kültür-PCR ile 10 kısrağ taşıyıcı olarak saptanmıştır ve *T. equigenitalis*'in teşhisinin, izolasyon yerine çok daha duyarlı bir test olan PCR temeline dayandırılmasını önermişlerdir. Zdovc ve ark.³² Slovenya'da 245 aygırdan aldıkları 980 genital svab örneğini kültür ve PCR teknikleri incelemişler ve PCR ile

bakteriyel izolasyon tekniğine göre daha yüksek oranda pozitiflik bulmuşlardır. Keskin ve ark.³³ Şanlıurfa bölgesinde klinik muayenede herhangi bir patolojik bulguya rastlanmayan ancak 1-3 yıldır gebe kalmayan 49 safkan Arap kısırağın 9 (%18)'unda PCR tekniği ile pozitiflik saptamışlardır. Bu çalışmada incelenen svab örneklerinden kültür yöntemi ile *T. equigenitalis* izole edilmezken, direkt-PCR ile 5 (%2.7), kültür-PCR ile 8 (%4.4) kısıratta *T. equigenitalis* saptandı. 5 kısırak her iki PCR tekniği ile de pozitif bulunurken, 3 kısırak sadece kültür-PCR ile pozitif bulundu. Bu çalışmada kültür-PCR tekniği ile diğer yöntemlere göre daha yüksek oranda pozitiflik saptandı. Bu sonuç diğer araştırmacıların bildirimleriyle uyumludur^{4,17,18}. Çalışmada PCR ile saptanan pozitiflik oranları Anzai ve ark.'nın¹⁶ oranlarına benzer iken diğer araştırmacıların bulgularından daha düşük bulundu. Araştırmacıların bildirdiği yüksek oranların, bölgesel farklılıklardan ve *T. asinigenitalis*'in tespitinden önce yapılan PCR tekniklerinde genus spesifik primerlerin kullanılması nedeniyle elde edilen pozitif sonuçların bir kısmının *T. asinigenitalis* varlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedirler. Bu çalışmada kültür-PCR tekniğine göre, direkt-PCR tekniği ile daha düşük pozitiflik saptanmıştır. Bunun, örnekte bulunabilecek PCR inhibitörlerinin varlığı ve svap ile alınan mikroorganizma sayısının çok düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Araştırmada bulunan pozitiflik oranı, Keskin ve ark.'nın³³ aynı bölgede yaptıkları çalışmanın bulgularından daha düşüktür. Bunun araştırmacıların değerlendirdiği hayvan sayısı ve materyallerin aynı işletmeden alınması nedeniyle oluşabileceği kanısına varıldı. Ayrıca, PCR ile negatif bulunan ancak şüpheli görülen kısıraklarda, enfeksiyon süresince klitoral fossadaki etken sayısı dalgalanma gösterebileceği için her bir aşım sezonunda 3 farklı zamanda örnek alınması ve kontaminasyona bağlı olarak PCR amplifikasyonlarında oluşabilecek baskılanmanın önlenmesi için örnek alımlarında svapların aşırı smegma ve kirlenmelerden korunmasına dikkat edilmelidir.

Sonuç olarak, Şanlıurfa yöresinde *T. equigenitalis*'in sorun olduğu ve PCR metodunun kültür yöntemine göre daha üstün ve rutin teşhiste uygulanabilir bir test olduğu saptandı. Hastalığın tanısı için direkt PCR tekniğinin de kullanılabilirliği, ancak daha duyarlı olan kültür-PCR tekniğinin kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Eaglesome MD, Garcia MM:** Contagious equine metritis: A review. *Can Vet J*, 20, 201-206, 1979.
- Hughes JP:** Contagious equine metritis: A review. *Theriogenology*, 11 (3): 209-216, 1978.
- Özğür YN, Eguchi M, Anzai T, İkiz S, Ilgaz A:** İnfertil ya da endometritli kısıraklarda rutin contagious equine metritis (CEM) taramalarında pasif hemaglutinasyon (PHA) testi ve ELISA'nın karşılaştırılması ve değerlendirilmesi. *Türk J Vet Anim Sci*, 25, 989-994, 2001.
- Parlevliet JM, Bleumink-Pluym NMC, Houwers DJ, Remmen JLAM, Slujiter FJH, Colenbrander B:** Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. *Theriogenology*, 47, 1169-1177, 1997.
- Crowhurst RC:** Genital infection in mares. *Vet Rec*, 100, 476, 1977.
- Timoney PJ, Ward J, Kelly P:** A contagious genital infection of mares. *Vet Rec*, 101, 103, 1977
- Ozğür NY, İkiz S, Yılmaz H, Akay O, Ilgaz A, Kilicarslan R, Çarioglu B:** Contagious equine metritis in Turkey: First isolation of *Taylorella equigenitalis* from mares. *Vet Rec*, 149, 120-122, 2001.
- Swerczek TW:** The first occurrence of contagious equine metritis in the United States. *J Am Vet Med Assoc*, 173, 405-407, 1978.
- Timoney PJ, Strickland KL:** CEM in the Republic of Ireland. *Vet Rec*, 111, 400-401, 1982.
- World Organisation for Animal Health (OIE):** Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees) 6th ed. Vol. 1&2. Paris, 2008.
- Timoney PJ, Shin SJ, Lein DH, Jacobson RH:** Transmissibility of the contagious, equine metritis organism for the cat. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 7, 131-140, 1984.
- Timoney PJ, O'Reilly PJ, McArdle JF, Ward J, Harrington AM:** Contagious equine metritis: Experimental infection in the donkey. *Vet Microbiol*, 10, 259-268, 1985.
- Aydın N, Paracıkoglu J:** Veteriner Mikrobiyoloji. İlke-Emek Matbaacılık ve Yayınlar, Ankara, 2006.
- Matsuda M, Moore JE:** Recent advances in molecular epidemiology and detection of *Taylorella equigenitalis* associated with contagious equine metritis (CEM). *Vet Microbiol*, 97, 111-122, 2003.
- Samper JC, Tibary A:** Disease transmission in horses. *Theriogenology*, 66, 551-559, 2006.
- Anzai T, Eguchi M, Sekizaki T, Kamada M, Yamamoto K, Okuda T:** Development of a PCR test for rapid diagnosis of contagious equine metritis. *J Vet Med Sci*, 61, 1287-1292, 1999.
- Anzai T, Wada R, Okuda T, Aoki T:** Evaluation of field application of PCR in the eradication of contagious equine metritis from Japan. *J Vet Med Sci*, 64, 999-1002, 2002.
- 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*, 32, 893-896, 1994.
- Buckley TC, Milar BC, Egan CL, Gibson P, Cosgrove H, Stanbridge S, Matsuda M, Moore JE:** A two-step species-specific 16S rRNA PCR assay for the detection of *Taylorella equigenitalis* in horses. *Irish Vet J*, 58, 146-149, 2005.
- Chanter N, Vigano F, Collin NC, Mumford JA:** Use of a PCR assay for *Taylorella equigenitalis* applied to samples from United Kingdom. *Vet Rec*, 143, 225-227, 1998.
- Duquesne F, Pronost S, Laugier C, Petry S:** Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine

metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction. *Res Vet Sci*, 82 (1): 47-49, 2007.

22. Premanandh J, George LV, Wernery U, Sasse J: Evaluation of newly developed real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* and discrimination from *T. asigenitalis*. *Vet Microbiol*, 95, 229-237, 2003.

23. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR: Clinical Veterinary Microbiology. Harcourt Publishers Limited, Spain, 1999.

24. Koneman EW: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Sixth ed. Philadelphia, 2006.

25. Katz JB, Evans LE, Hutto DL, Schoreder-Tucker LC, Carew AM, Donahue JM, Hirsh DC: Clinical, bacteriologic, serologic, and pathologic features of infections with atypical *Taylorella equigenitalis* in mares. *JAVMA*, 216, 1945-1948, 2000.

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

27. Sevinç A, İstanbulluoğlu E, Yurdaydın N, Çelebi M: Çifteler Arap aygırlarının spermatolojik özellikleri, spermalarındaki bakteriyel flora ve dölverimleri üzerinde araştırmalar. *Doğa*

Bil Derg, 8, 288-293, 1984.

28. Özgür NY, Ilgaz A, Yılmaz H, Kılıçarslan R: İnfertilite sorunu olan kısırakların vajinal akıntılarının mikrobiyolojik incelemesi. *İstanbul Univ Vet Fak Derg*, 20 (2-3): 341-345, 1994.

29. Ak S, Hasöksüz M, Horoz H, Kılıçarslan MR, Minbay A, İleri İK: İnfertilite problemi olan kısıraklarda uterus ve aygırlarda sperma mikroflorasının incelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 25, 149-154, 1995.

30. Ülgen M, Seyrek-İntaş K, Kocabıyık L, Uzman M: İnfertilite problemi olan atlarda bakteriyolojik incelemeler. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 20, 61-65, 2001.

31. Erdeğer J, Akan M, Altay G, Demirel M: Atlarda infertiliteye neden olan *Taylorella equigenitalis*'in bakteriyolojik ve serolojik tanısı. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 49, 39-44, 2002.

32. Zdovc I, Oceppek M, Gruntar I, Pate M, Klobuar I, Krt B: Prevalence of *Taylorella equigenitalis* infection in stallions in slovenia: Bacteriology compared with PCR examination. *Equine Vet J*, 37, 217-221, 2005.

33. 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*, pp. 146-147, Konya, 2003.