

SAĞLIKLI DIŞI KÖPEKLERİN GENİTAL KANALINDAN AEROBİK BAKTERİ İZOLASYONU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR*

Metin ÇAKMAK¹

Yahya KUYUCUOĞLU²

Evaluation of Aerobic Bacteria Isolation from Reproductive Track of Healthy Bitches

Özet: Bu çalışmada, Gemlik Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığında bulunan değişik ırk, yaş ve siklus evresindeki 66 adet sağlıklı damızlık dişi köpeğin vaginasından alınan svablardan aerobik bakteri izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. Örneklerin alınmasından sonra siklus dönemlerinin belirlenmesi için her bir köpeğe vaginal sitoloji uygulandı. Çeşitli ırklardan 66 adet köpeğin 62 (%93,94)'sinden 75 adet etken izole edildi. İzolatların 20'si *E.coli* (%26,67), 20'si *Staphylococcus* spp. (%26,67), 12'si *Salmonella* spp. (%16,0), 5'i *Candida* spp. (%6,67), 5'i *Micrococcus* spp. (%6,67), 4'ü *Streptococcus* spp. (%5,33), 4'ü *Acinetobacter* spp. (%5,33), 3'ü *Neisseria* spp. (%4), 1'i *Bacillus* spp. (%1,33), 1'i *S.aureus* (%1,33) olarak tanımlandı. Sonuç olarak; köpeklerin vaginasından farklı siklus dönemlerinde izole edilen bakterilerin infertiliteye sebep olmadığı, infertil köpeklerde vaginanın mikrobiyolojik muayenesinin yapılmasının yararlı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Dişi köpek, vagina, mikrobiyolojik muayene.

Summary: This study was performed for isolation and identification of the aerobic bacteria from materials which collected from the 66 healthy breeding bitches' vagina in different race, age and estrous cycle at the Military Veterinary School and Training Center Commandership Gemlik/ Turkey. After the samples taken, vaginal cytology is applied to each dog to determine dog's estrous cycle period. Seventy five microorganisms isolated from 62 (%93.94) of 66 bitches in different races. Twenty *E.coli* (26.67%), 20 *Staphylococcus* spp. (26.67%), 12 *Salmonella* spp. (16.0%), 5 *Candida* spp. (6.67%), 5 *Micrococcus* spp. (6.67%), 4 *Streptococcus* spp. (5.33%), 4 *Acinetobacter* spp. (5.33%), 3 *Neisseria* spp. (4.0%), 1 *Bacillus* spp. (1.33%), 1 *S.aureus* (1.33%) were identified. This study confirms that aerobic bacteria isolated from genital tract of healthy bitches at different estrous cycle period do not cause infertility. Therefore microbiological examination of vaginal swaps may be necessary in infertile dogs.

Key Words: Bitch, vagina, microbiological examination.

Giriş

Köpeklerde vaginal doku ve bakteriyel flora oldukça duyarlı bir sistem olup, endojen ve ekzojen pek çok faktörün etkisi altında değişkenlik gösterir (Feldman ve Nelson, 1996). Bu faktörlerden en belirleyici olanı, hormonal etki ve siklik döngünün ilgili evresi olup (Feldman ve Nelson, 1996), bunun dışında hastalıklar, ilaç tedavisi, immün sistem ve mikrobiyel etkileşimlerdir. Ayrıca ırklar arasındaki genetik farklılıklar, oksijen, basınç, pH, nem ve epitel döküntü miktarı da florayı etkileyen diğer vaginal karakterlerdir (Bjurnstrom, 1993).

Dişi köpeklerde vagina uterusu göre daha zengin mikrofloraya sahiptir (Baba ve ark., 1983). Vaginanın idrar ve dışkı ile kontaminasyonu, çiftleşme esnasında penisin tüy, deri ve anüs çevresi ile geçici temas bakterilerin vaginaya taşınmasına sebep olmaktadır (Allen ve Dagnall, 1982). Köpeklerde güç doğum sırasında uterus, serviks ve vaginada oluşan yaralanmalar, puerperal bozukluklar, hormonal tedavi,

hijyenik olmayan bakım şartları, beslenme yetersizlikleri, parazitizm, yaşlılık ve çevresel değişikliklerin uterus ve vaginanın lokal bağışıklık sistemini bozmaktadır (Arbeiter ve Geigenmüller, 1969; Laznicka ve ark., 1995; Feldman and Nelson, 1996).

Yapılan çalışmalarda (Arbeiter ve Geigenmüller, 1969; Hirsh ve Wiger, 1977; Allen ve Dagnall, 1982; Watts ve ark., 1996; Kırşan ve ark., 2000; Günay ve ark., 2004), sağlıklı dişi köpeklerin vaginal florasında *E.coli*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Chlamidia* spp., *Klebsiella* spp., hemolitik *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Mycoplasma* spp. ve *Ureaplasma* spp. *Enterobacter* spp. gibi bakterilerin izole edildiği bildirilmektedir.

Köpeklerde vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanısıra vaginal bakteriyel floranın incelenmesi de önem taşımaktadır. Enfeksiyon durumunda dişi köpeklerde östrus aralıklarının etkilendiği

1. Gemlik Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı, Gemlik, BURSA

2. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kampus, AFYONKARAHİSAR

* Bu çalışma aynı isimli Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

bildirilmektedir (Linde, 1983). Fındık ve ark. (2003), Kangal ırkı dişi köpeklerde; siklusun bütün evrelerinde *E.coli*, östrus ve erken metaöstrusta hemolitik *Streptococcus* spp., diğer evrelerde ise a hemolitik *Streptococcus* spp., ürettiği, östrusun farklı devrelerinde *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Neiseria* spp., geç östrusta *Pasteurella* spp.ve preproöstrusta *Shigella* spp. izole edildiğini bildirilmişlerdir (Fındık ve ark., 2003). Bjurnstrom (1993), siklik döngüyle ilişkili olarak proöstrusta en çok *Pasteurella multocida*, hemolitik *Streptococcus* spp., *E. coli* ve *Mycoplasma* spp., östrusta ise *P. multocida* ve *E. coli* izole edildiğini belirtmişlerdir

Bu çalışmada, değişik ırk, yaş ve siklus evresindeki sağlıklı damızlık dişi köpeklerin genital kanalından aerobik bakteri izolasyonu amaçlandı.

Materyal ve Metot

Hayvan Materyali: Bu çalışmada Gemlik Askeri Veteriner Okulu Köpek Üretim ve Eğitim Komutanlığında bulunan, yaşları 2-10 arasında değişen, 20 (%30,3) Alman Çoban Köpeği, 16 (%24,24) Labrador, 9 (%13,64) Belçika Malinois, 6 (%9,09) Pointer, 4 (%6,06) Kangal, 4 (%6,06) Golden Retriever, 4 (%6,06) Akbaş Çoban Köpeği, 2 (%3,03) Border Collie, 1 (%1,52) Türk Tazısı ırkı olmak üzere klinik olarak herhangi bir problemi bulunmayan, pubertaya erişmiş, düzenli siklus döngüsüne sahip, aynı bakım ve beslenme koşullarına sahip ve sağlıklı toplam 66 adet damızlık dişi köpek kullanıldı.

Mikrobiyolojik Muayene İçin Örnek Alınması: Vaginal svablar, köpeklerin vulva ve çevresi bir pamuk

yardımıyla temizlenip alkol ile dezenfekte edildikten sonra steril bir spekulum vaginaya tatbik edilerek vagina açıldı ve steril bir svap vaginanın anterior kısmında 360 derecelik bir çevirme hareketi yapmak suretiyle alındı (Stockner ve ark., 1979). Alınan örnekler, steril koşullarda, transport medium içerisinde, soğuk zincirde Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi.

Vaginal Sitoloji: Bakteriyolojik inceleme için svabların alınmasından sonra, siklus dönemlerinin belirlenmesi için her bir köpeğe vaginal sitoloji uygulandı. Vaginal preparatlar Papanicolaou (Papanicolaou, 1942) Boyama Tekniğine göre boyandı, x 40 objektif altında ışık mikroskobu kullanılarak, her bir preparatta 100 hücre sayıldı, hücre oranları % olarak değerlendirilerek siklus evreleri belirlendi.

Mikrobiyolojik Muayene: Svap örneklerinden, Kanlı Agar ((%5-7 koyun kanlı, CM271- Oxoid), MacConkey Agar (CM0109- Oxoid), EMB Agar (CM0069-Oxoid) ve *Camphylobacter* Agar'a (CM0689-Oxoid) ekilerek aerobik ve mikroaerofilik şartlarda 37o C de 1-3 gün süreyle inkübe edildi. Besiyerlerinde üreyen kolonilerden bakteri izolasyon ve identifikasyonu klasik yöntemlere göre yapıldı (Holt ve ark., 1994).

Bulgular

Yapılan bu çalışmada, değişik ırklarda 66 adet köpeğe vaginal sitoloji yapıldı ve bu köpeklerden 9'unun (%13,64) proöstrusta, 7'sinin (%10,61) östrusta, 18'inin (%27,27) metöstrusta ve 32'sinin (%48,48)

Tablo 1. Köpek ırklarının Siklus Dönemlerine Göre Dağılımı.

SIRA NO	KÖPEK IRKI	SİKLUŞ DÖNEMLERİ				TOPLAM	%
		Proöstrus	Östrus	Metöstrus	Anöstrus		
1	Alman Çoban	4	3	3	10	20	30,3
2	Labrador	1	3	1	11	16	24,24
3	Belçika Malinois	3	1	5	0	9	13,64
4	Pointer	0	0	3	3	6	9,09
5	Türk Çoban	1	0	1	2	4	6,06
6	Golden Retriever	0	0	1	3	4	6,06
7	Akbaş Çoban	0	0	3	1	4	6,06
8	Border Collie	0	0	1	1	2	3,03
9	Türk Tazısı	0	0	0	1	1	1,52
	TOPLAM	9	7	18	32	66	100
	%	13,64	10,61	27,27	48,48	100	

Tablo 2 . Köpeklerden Siklus Evrelerine Göre İzole Edilen Bakteriler *

ETKENİN ADI	SİKLUŞ DÖNEMLERİ								ETKEN	
	Proöstrus		Östrus		Metöstrus		Anöstrus		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
<i>E.coli</i>	2	22,22	2	25	3	14,29	13	35,13	20	26,67
<i>Staphylococcus spp.</i>	2	22,22	3	37,5	6	28,58	9	24,32	20	26,67
<i>Salmonella spp.</i>	1	11,11	1	12,5	2	9,52	8	21,63	12	16
<i>Micrococcus spp.</i>	1	11,11	0	0	2	9,52	2	5,41	5	6,67
<i>Candida spp.</i>	1	11,11	1	12,5	3	14,29	0	0	5	6,67
<i>Streptococcus spp.</i>	2	22,22	0	0	1	4,76	1	2,7	4	5,33
<i>Acinetobacter spp.</i>	0	0	1	12,5	0	0	3	8,11	4	5,33
<i>Neisseria spp.</i>	0	0	0	0	2	9,52	1	2,7	3	4
<i>S.aureus</i>	0	0	0	0	1	4,76	0	0	1	1,33
<i>Bacillus spp.</i>	0	0	0	0	1	4,76	0	0	1	1,33
TOPLAM	9	100	8	100	21	100	37	100	75	100
İZOLE EDİLEMEYEN	0	0	0	0	1	25	3	75	4	100

* (P>0,05)

ise anöstrus döneminde olduğu tespit edildi. Köpek ırklarının siklus dönemlerine göre dağılımı Tablo 1' de verildi.

Çeşitli ırklardan 66 adet köpeğin 62 (%93,94)'sinden 75 adet etken izole edildi. Bunların 20'si *E. coli* (%26,67), 20'si *Staphylococcus spp.* (%26,67), 12'si *Salmonella spp.* (%16), 5'i *Candida spp.* (%6,67), 5'i *Micrococcus spp.* (%6,67), 4'ü *Streptococcus spp.* (%5,33), 4'ü *Acinetobacter spp.* (%5,33), 3'ü *Neisseria spp.* (%4,0), 1'i *Bacillus spp.* (%1,33), 1'i *S.aureus* (%1,33) olarak tanımlandı. Köpeklerden siklus evrelerine göre izole edilen bakteriler Tablo 2'de verildi.

Tartışma ve Sonuç

Dişi köpeklerde vagina uterusu göre daha zengin mikrofloraya sahiptir (Baba ve ark., 1983). Vajinanın idrar ve dışkı ile kontaminasyonu, çiftleşme esnasında penisin tüy, deri ve anüs çevresi ile geçici teması bakterilerin vaginaya taşınmasına sebep olmaktadır (Allen ve Dagnall, 1982). Yapılan çalışmalarda (Arbeiter ve Geigenmüller, 1969; Hirsh ve Wiger, 1977; Allen ve Dagnall, 1982; Watts ve ark., 1996; Kırşan ve ark., 2000; Günay ve ark., 2004), sağlıklı dişi köpeklerin vaginal florasında *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Chlamidia spp.*, *Klebsiella spp.*, hemolitik *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pasteurella spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Ureaplasma spp.* ve *Enterobacter spp.* gibi bakterilerin izole edildiği bildirilmektedir.

Bjurnstrom (1993), infertil 42 köpeğin

vaginasından hemolitik *Streptococcus spp.*, *Pasteurella multocida*, *E. coli*, *Staphylococcus intermedius*, *Proteus mirabilis* ve a hemolitik *Streptococcus spp.* izole ettiklerini, vaginitisli 78 köpeğin vaginasından ise *E. coli*, hemolitik *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus intermedius*, *Pasteurella multocida*, *Proteus mirabilis* ve *Enterococcus spp.* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada; *E. coli* %26,67, *Staphylococcus spp.* %26,67, *Salmonella spp.* %16, *Candida spp.* %6,67, *Micrococcus spp.* %6,67, *Streptococcus spp.* %5,33, *Acinetobacter spp.* %5,33, *Neisseria spp.* %4, *Bacillus spp.* %1,33, *S.aureus* %1,33 oranlarında izole edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen izolasyon oranları bazı araştırmacıların (Dujkeren, 1992; Bjurnstrom, 1993; Laznicka ve ark., 1995; Watts ve ark., 1996; Fındık ve ark., 2003) bulguları ile farklılık gösterirken, bazı araştırmacıların (Baba ve ark., 1983; Ling ve Ruby, 1978; Fındık ve ark., 2003; Günay ve ark., 2004) bulguları ile uyumlu bulundu.

Köpeklerde vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanısıra vaginal bakteriyel floranın incelenmesi de önem taşımaktadır. Enfeksiyonların dişi köpeklerde östrus aralıklarını da etkilediği bildirilmektedir (Linde, 1983). Dişi köpeklerde östrus siklus safhalarının bakteriyel florayı etkileyebileceği (Allen ve Dagnall, 1982; Baba, 1983; Linde, 1983; Bjurnstrom, 1993; Fındık ve ark., 2003;) ve bakteri sayısının östrus boyunca reproduktif aktivitenin diğer safhalarından önemli ölçüde yüksek olduğu belirtilmiştir (Olson ve Mather, 1978; Baba ve ark., 1983). Allen ve Dagnall (1982) ile Baba ve ark. (1983), proöstrus ve östrusta

bakteri sayısında belirgin bir artış olduğunu ifade etmişlerdir.

Fındık ve ark. (2003), Kangal ırkı dişi köpeklerde, siklusun bütün evrelerinde *E.coli*, östrusun farklı devrelerinde *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Neiseria* spp., geç östrusta *Pasteurella* spp. ve preöstrusta *Shigella* spp. türlerinin izole edildiğini bildirilmiştir. Bjurnstrom (1993), proöstrusta, *Pasteurella multocida*, hemolitik *Streptococcus* spp., *E. coli* ve *Mycoplasma* spp., östrusta ise sıklıkla *P. multocida* ve *E. coli* izole edildiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, proöstrus aşamasında *E.coli*, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. izole edilirken, östrusta *Staphylococcus* spp., *E.coli*, *Salmonella* spp., *Candida* spp. ve *Acinetobacter* spp., metöstrus döneminde *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *E.coli* anöstrus döneminde ise *E.coli*, *Staphylococcus* spp. ve *Salmonella* spp., siklusun değişik evrelerinde ise daha az oranlarda *Micrococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Neisseria* spp., *Bacillus* spp. ve *S. aureus* izole etmişlerdir. Farklı siklus dönemlerinde izole edilen bakteriler araştırmacıların (Bjurnstrom, 1993; Fındık ve ark., 2003) bulgularına benzer bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda (Ling ve ruby, 1978; Doig, 1981; Baba ve ark., 1993; Fındık ve ark., 2003; Günay ve ark., 2004), köpeklerin vaginal svablarında *E.coli* izolasyon oranının % 16-76 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada *E.coli* izolasyon oranı % 26,7 oranında saptandı ve diğer çalışmalarla uyumlu bulundu.

Bazı araştırmacılar (Kırşan ve ark., 2000; Fındık ve ark., 2003) tarafından köpeklerin vaginal svablarında *Staphylococcus* spp. oranının % 17-38 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada izole edilen *Staphylococcus* spp.'nin siklus evrelerine göre saptanma oranı; proöstrusta % 22,2, östrusta % 37,5, metöstrusta % 28,5, anöstrusta % 24,3 iken tüm svablarda ortalama % 26,7 oranında saptandı ve araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulundu.

Yapılan çalışmalarda (Hirsh ve Wiger, 1977; Allen ve Dagnall, 1982; Ling ve Ruby, 1982; Baba ve ark., 1983; Fındık ve ark., 2003;), köpeklerin vaginal svablarında *Streptococcus* spp. oranının % 6-63 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada; *Streptococcus* spp.'nin siklus evrelerine göre saptanma oranı: proöstrusta % 22,2, metöstrusta % 4,7, anöstrusta % 2,7 iken tüm svablarda ortalama % 5,3 oranında izole edildi ve elde edilen bulguların araştırmacıların bulgularından düşük olduğu gözlemlendi.

Osbaldiston (1977), *Candida* spp.'nin dişi köpeklerden nadiren izole edildiğini belirtmiştir. Fındık ve ark. (2003), sadece proöstrusta *Candida* spp. izole edildiğini belirtirken, Günay ve ark. (2004) siklusun

her aşamasında *Candida* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise anöstrus dönemi hariç diğer dönemlerde %6,67 oranında *Candida* spp. izole edilmiştir.

Sonuç olarak; köpeklerin vaginal flora etkenlerinin seksüel siklusun her döneminde florada bulunduğu ve köpeklerin gebe kalmasını olumsuz yönde etkilemediği, infertilite, vaginitis, pyometra ve endometritis gibi reproduktif sistem bozukluklarının teşhisinde klinik bulgularla beraber vaginal floranın mikrobiyolojik muayenesinin de yapılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Allen, W.E., Dagnall, G. J. R. (1982). Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch, . J. Small Anim.Pract., 23, 325-335.
- Arbeiter, K., Geigenmüller, H. (1969). Genitalerkrankungen der hündin-diagnose und therapie, Wiener Tierärztl.Monatschrift, 6, 232-236.
- Baba, E., Hata, H., Fibkata, T., Arakawa, A. (1983) Vaginal and uterine microflora of adult dogs, Am J Vet Res., 44, 606-610.
- Bjurnstrom, L. (1993). Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders, Acta Vet. Scand.; 34, 29-34.
- Davidson, A.P., Feldman, E.C. (1995). Ovarian and Estrous Cycle Abnormalities in the Bitch. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat., (Eds.), Ettinger S.J., Feldman E.C., W.B Saunders Company, London., 1607-1613.
- Dujkeren, E. (1992). Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. Vet. Rec., 17, 367-369.
- Farstad, W. (1982). Bacterial findings in the genital tract of bitches with reproductive disorders. Nordisk Veterinaermedicin, 34 (12), 451-456.
- Feldman, E.C., Nelson, R.W. (1996). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Fındık, M., Maral, N., Keskin, O., Kalender, H., Erdeğer, J., Aslan, S. (2003). Kangal ırkı dişi köpeklerde seksüel siklus evreleri, gebelik ve postpartum dönem ile vaginal flora arasındaki ilişki, Turk J. Vet. Anim. Sci., 27, 761-765 .
- Günay, U., Günay, A., Ülgen, M., Özel, A.E. (2004). Köpeklerde farklı siklus evrelerindeki vaginal bakteriyel floranın incelenmesi, Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med., 23(1-2-3), 15-19.
- Hirsh, D.C., Wiger, N. (1977). The bacterial flora of

the normal canine vagina compared with that of vaginal exudates, J. Small Anim. Pract., 18, 25-30.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. William, S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology , Nineth Ed., Williams and Wilkins, Baltimore, USA.

Kırşan, I., Akan, M., Senünver, A. (2000). Sağlıklı dişi köpeklerin genital kanalında bakteriyel flora üzerine araştırmalar, İ.Ü. Vet.Fak. Derg., 26(1), 235-241

Laznicka, A., Huml, O., Nesnalova, E. (1995). Microflora of genital organs of bitches and its relationship to reproductive disorders, II. Vaginitis. Veterinarstvi 45, 210-212.

Linde, C. (1983). Partial abortion associated with genital *E. coli* infection in a bitch. Vet. Rec., 112, 454-455.

Ling, G.V., Ruby, A.L. (1978). Aerobic bacterial flora of the prepuce, urethra and vagina of adult dogs, Am J Vet Res., 39(4), 695-698.

Olson, P. N., Mather, E. C. (1978). Canine vaginal and uterine bacterial flora. J. Am. Vet. Med. Assoc., 172, 708-712.

Osbaldiston, G.W. (1977). Bacteriological studies of disorders of bitches. J. Urology., 118, 559-563.

Papanicolaou, G N. (1942). A new procedure for staining vaginal smears, Science., 95, 438-439.

Stockner, P.K, Brudvik, A.M., Baker, D. (1979). Canine vaginal flora: a technique for sampling and clinical observation, Canine Practice., 6 (1), 18-19.

Watts, J.R., Wright, P.J., Whithear, K.C. (1996). Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle, J. Small Anim. Pract., 37(2), 54-60