

Diyarbakır ve Çevresindeki Sağlıklı Dişi Sokak Köpeklerinde Siklus Dönemine Göre Vaginal Aerobik Bakteriyel Floranın Saptanması

Nihat ÖZYURTLU*, Simten YEŞİLMEN**, Neval B. ARSERİM KAYA**

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, *Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, **Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada, farklı siklus evresindeki sağlıklı dişi köpeklerde vaginal bakteriyel floranın izolasyon ve identifikasyonu amaçlandı. Çalışma için 46 adet dişi köpek materyal olarak kullanıldı. Dişi köpeklerin vaginasından alınan svab örnekleri Stuart Transport Medium içinde laboratuara ulaştırıldı. Alınan svab örneklerinden %7 koyun kanlı Agar, MacConkey Agar ve Sabouraud Dekstroz Agara ekimler yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri, 37°C de 1-3 gün süreyle inkube edildi. İnkubasyon süresi sonunda identifikasyon için BD Phoenix™ 100 otomatik mikrobiyolojik identifikasyon sistemi kullanıldı. Çalışmadaki 46 köpeğin, 42'sinde 53 adet etken izole edilirken, 4'ünde hiçbir üremenin olmadığı görüldü. Siklusun bütün evrelerinde *E. coli* izole edildi. Proöstrusta *Bacillus cereus* ve *Proteus spp*; östrusta *S.agalactiae* ve *Candida spp.*; metöstrusta *S. agalactiae*, *S.chromogenes*, *S. intermedius*, *S.aureus* ve *Streptococcus grup C/G*; anöstrusta *S. agalactiae*, *S. chromogenes*, *Proteus spp.*, *S. intermedius*, *Candida spp.*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *S.uberis* ve *S. hominis* gibi etkenler tespit edildi.

Sonuç olarak sağlıklı dişi köpeklerin vaginal florasında seksüel siklusun dönemine göre aynı veya farklı etkenlerin üreyebildiği ve vaginal floranın seksüel siklus boyunca çeşitlilik gösterebildiği saptandı.

Anahtar kelimeler: Dişi köpek, identifikasyon, izolasyon, seksüel siklus, vaginal flora

Determination of vaginal aerobic bacterial flora view of sexual cycle in bitch in the province of Diyarbakir

Abstract: In this study, it was aimed to investigate isolation and identification of the bacterial vaginal flora at different sexual cycle period in healthy bitch. Forty-six bitches were used as material. Vaginal swab samples were taken from the vagina of bitches, which were transported in the Stuart transport medium for examination at laboratory. Thereafter, inoculations were made onto 7% sheep blood agar, McConkey agar and Sabouraud dextrose agar; incubated at 37 °C for 1-3 days. At the end of the study, identification test was made on BD Diagnostic Instrument Systems. In this study 53 bacteria were isolated from 42 of 46 dogs however no bacteria were isolated from 4 of 46 dogs. In all stages of to cycle *E.coli* was isolated. *Bacillus cereus* and *Proteus spp.* were isolated in proestrus. In estrus, *S. agalactiae* and *Candida spp.* were isolated; *S. agalactiae*, *S. chromogenes*, *S. intermedius*, *S. aereus* and *Streptococcus. grup C/G* were isolated in metestrus and *S. agalactiae*, *S. chromogenes*, *Proteus spp.*, *S. intermedius*, *Candida spp.*, *S. aereus*, *Enterococcus faecalis*, *S. uberis* and *S. hominis* were isolated in anestrus.

In conclusion, it was determined that different bacteria could grow as well as same bacteria in the vaginal flora of bitches according to stage of sexual cycle and, vaginal flora could show variety throughout sexual cycle.

Key words: Bitch, identification, isolation, sexual cycle, vaginal flora

Giriş

Seksüel olgunluğa ulaşmış sağlıklı köpeklerin vaginasında normal kabul edilen bir bakteriyel flora mevcuttur (1,2,3,4). Bu bakteriyel floradan, farklı türlerde birçok bakteri izole edilmiştir (1,5,6,7). Araştırmacılar (5,6,8), vaginadaki bakteriyel floranın genellikle karışık bir yapıda olduğunu ve değişik mikroorganizmaları içerdiğini belirtmektedirler.

Dişi köpeklerde genital organlarda oluşabilecek bir yangıda vagina hedef doku özelliğindedir (9). Köpeklerin vaginasında genellikle aerobik ve anaerobik bakteriyel flora mevcuttur ve östrus siklusu boyunca hafif değişiklik gösterir (6,8,10,11). Vaginal florada en yaygın olarak *E. coli*, streptokoklar, stafilokoklar ve pastörella türlerinin görüldüğü bildirilmiştir (1,6,8,10). Buna ilaveten reproduktif hastalığı olmayan köpeklerin vaginasında mikoplazma türleri ve bacteroidaceae familyası da izole edilmiştir (5,7).

Dişi köpeklerde vagina epiteli östrojene karşı duyarlı olup östrojenin değişen düzeylerine göre farklı yapısal görünüm sergiler. Siklusun farklı evrelerinde oluşan bu değişimler vaginal sitoloji ile saptanabilmektedir (9). Köpeklerdeki siklik döngünün belirlenmesinde vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanı sıra vaginal bakteriyel florada incelenebilir (8,9).

Değişen östrus siklusunun dönemleri bakteriyel florayı etkileyebilmektedir (1,5,8,9,12). Siklusun proöstrus ve östrus safhası boyunca bakteri sayısının diğer safhalardan daha fazla olduğu bildirilmiştir (5,6,13). Ancak, farklı safhalarda izole edilen bakteri türlerinde belirgin fark bulunmamıştır (6).

Sağlıklı hayvanların vaginasındaki mikroorganizma dağılımı değişkendir ve genellikle fakültatif patojen türlerden oluşmaktadır (3,5). Vaginal flora normalde aerobik ve anaerobik bakterilerin bulunduğu karışık bir flora niteliğindedir (8). Ancak, vaginal floradaki bu normal duruma rağmen anormal durumlarda görülebilecek değişiklikler için vaginadan örnekler alınmalıdır. İnfertilite, genital enfeksiyonlar, neonatal septisemi, pre ve post pubertal vaginitis, zayıf yavru sendromu gibi anormal durumlarda vaginal floranın özelliğinin ortaya konulması için vaginal kültürler alınmaktadır (7,14,15). Bu amaçla köpeklerde genital muayene yapılırken vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanı sıra vaginal bakteriyel floranın incelenmesi de herhangi bir anormalliği ortaya koymak için faydalı olabilmektedir.

Bu çalışmada, sağlıklı dişi köpeklerde vaginadan alınan örneklerin, siklusun farklı evrelerine

göre bakteriyolojik olarak incelenmesi ve siklusun evresine göre vaginal floranın yapısının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak cinsel olgunluğa erişmiş, klinik olarak herhangi bir problemi bulunmayan 46 adet dişi köpek kullanıldı. Çalışmanın materyali, Diyarbakır ve çevresinden toplanıp hayvan barınağında bakılan dişi köpeklerden temin edildi. Bakteriyolojik incelemeler için dişi köpeklerin vulva ve çevresi temizlenip dezenfekte edildikten sonra steril spekulum yardımı ile vaginanın anterior kısmından steril svaplarla örnekler alındı. Svapların alınmasının ardından siklus dönemlerinin belirlenmesi için köpeklerden vaginal sitoloji örneği alındı. Vaginal smearlar Papanicolaou boyama yöntemi (16) ile boyandı ve preparatlardaki vaginal hücrelerin oranları ışık mikroskobu ile değerlendirilerek siklus evreleri belirlendi.

Köpeklerden bakteriyolojik amaçla alınan svaplar Stuart transport medium içinde laboratuara ulaştırıldı. Svab örnekleri Kanlı agar (%7 koyun kanlı), MacConkey agar ve SDA'ya ekildi. Ekim yapılan besi yerleri, 37 °C de 1-3 gün süreyle inkube edildi. İnkubasyon süresi sonunda üreyen kolonilerden identifikasyon için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalındaki BD Phoenix™ 100 otomatik mikrobiyolojik identifikasyon sistemi kullanıldı.

Tablo- 1. Seksüel siklusun dönemine göre izole edilen etkenler ve oranları

İzole edilen etken	Seksüel siklus dönemi					Toplam Etken*
	Proöstrus	Östrus	Metöstrus	Anöstrus		
	(n=4) (n/%)	(n=5) (n/%)	(n=10) (n/%)	(n=27) (n/%)	(n=53) (n/%)	
E. coli	3 (%75)	3 (%60)	2 (%20)	8 (%29,6)	16 (%30,1)	
S. agalactiae	0	1 (%20)	6 (%60)	2 (%7,4)	9 (%16,9)	
S. grup C/G	0	0	1 (%10)	0	1 (%1,8)	
S. uberis	0	0	0	1 (%3,7)	1 (%1,8)	
S. intermedius	0	0	1 (%10)	3 (%11,1)	4 (%7,5)	
S. aureus	0	0	3 (%30)	7 (%25,9)	10 (%18,8)	
S. chromogenes	0	0	1 (%10)	2 (%7,4)	3 (%5,6)	
S. hominis	0	0	0	1 (%3,7)	1 (%1,8)	
Proteus	1 (%25)	0	0	1 (%3,7)	2 (%3,7)	
Candida spp.	0	1 (%20)	0	3 (%11,1)	4 (%7,5)	
Bacillus cereus	1 (%25)	0	0	0	1 (%1,8)	
Enterococcus faecalis	0	0	0	1 (%3,7)	1 (%1,8)	

*Toplam etken sayısı bazı köpeklerde birden fazla etkenin bulunmasından dolayı, toplam köpek sayısından daha fazla miktarda olmuştur

Bulgular

Sunulan çalışmada materyal olarak incelenen 46 adet dişi köpeğin sitolojik incelemesinde 4'ünün proöstrusta, 5'nin östrusta, 10'unun metöstrusta ve 27'sinin de anöstrus döneminde olduğu tespit edildi. Çalışmadaki toplam köpeklerin (n=46), %91,3'ün de (42) 53 adet etken izole edilirken, %8,7'sin da (4) hiçbir üremenin olmadığı görüldü. İzole edilen etkenlerin 16'sı *E.coli* (%30,1), 9'u *S. agalactiae* (%16,9), 3'ü *S. chromogenes* (%5,6), 2'si *Proteus* spp. (%3,7), 4'ü *S. intermedius* (%7,5), 4'ü *Candida* spp. (%7,5), 1'i *Bacillus cereus* (%1,8), 10'u *S. aereus* (%18,8), 1'i *S. Grup C/G* (%1,8), 1'i *Enterococcus faecalis* (%1,8), 1'i *S. uberis* (%1,8), 1'i *S. hominis* (%1,8) olarak tanımlanmıştır. Seksüel siklus dönemlerine göre izole edilen etkenlerin sayısı ve oranları Tablo-1'de sunulmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Değişik araştırmacılar, seksüel olgunluğa erişmiş dişi köpeklerin vaginal florasında farklı türlerde bakterilerin izole edildiğini bildirmiştir (4,5,7,11,17). Birçok çalışmada klinik olarak sağlıklı köpeklerde vaginal floradan genellikle *E.coli*, *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Stafilokoklar*, *Streptokoklar*, *Mycoplasma* spp., ve *Neisseria* spp. gibi etkenler değişik oranlarda izole edilmiştir (1,4,5,6,8,18). Olson ve ark. (3), seksüel olgunluğa ulaşmış sağlıklı köpeklerin vaginal florasında daha çok *E.coli*, *streptokoklar*, *Pasteurella* spp.ve *stafilokoklar* gibi bakterilerin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada *E.coli*, *streptokoklar*, *Pasteurella* spp. ve *stafilokoklar* gibi bakterilerin tüm siklus evrelerindeki toplam oranları sırasıyla 30,1, 20,5 ve 33,7 olarak bulundu.

Sağlıklı köpeklerde yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar (4,5,7,19,20) *E.coli* oranını %16-47 arasında değişen bir oranda bildirirken, Fındık ve ark.'ı (9) tarafından seksüel siklusun dönemine göre %60-100 oranında olarak aktarılmaktadır. Sunulan çalışmada ise *E. coli*'nin siklus evresine göre oranları proöstrusta %75, östrusta %60, metöstrusta %20 ve anöstrusta %29,6 oranında, genel olarak tüm evrelere göre de %30,1 oranında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen *E. coli* sonuçları birçok araştırmacının (4,5,7,19,20) verileri ile benzerlik göstermektedir. Ancak, toplam *E. Coli* oranı Fındık ve ark. (9) bulduğu orandan daha düşük bulunmuştur. Bunun da çevresel farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar (1,5,20) alınan svaplardan %50'den daha fazla oranlarda streptokok izole ederlerken, bazı araştırmacılar da (4,9) bu oranı daha düşük (%29,08-37,9) saptamışlardır. Bu çalışmada izole edilen streptokok türlerinin saptanma oranı Kırşan ve ark. (4) ve Fındık ve ark.'nın (9)

belirlediğinden daha düşük (%20,5) bulunmuştur. Çalışmada izole edilen türlerin detaylı sonuçları tablo 1'de sunulmuştur. Çalışmada bulunan sonuçlar yukarıda belirtildiği gibi bazı araştırmacılar ile bazen benzerlik gösterirken bazıları ile farklılıklar göstermektedir. Bu değişikliklerin çevresel ve tür farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Fındık ve ark., (9) tarafından yapılan çalışmada proöstrus döneminde *Shigella* spp. ve maya izole edilirken, östrusta *Neisseria*, östrus sonunda *pastorella*, östrus bitimini takip eden evrelerde değişik oranlarda *citrobacter*, *flavobacter* ve *proteus* türlerinin belirlendiği bildirilmiştir. Bjurström ve Linde-Forsberg (12) yaptıkları çalışmada en çok *E. coli*, β -hemolitik streptokok ve *P. multocida* izole etmişlerdir. Sunulan çalışmada ise değişik oranlarda olmak üzere (tablo-1) proöstrusta *Bacillus cereus* ve *Proteus* spp.; östrusta *S. agalactiae* ve *Candida* spp.; metöstrusta *S. agalactiae*, *S. chromogenes*, *S. intermedius*, *S. aereus* ve *S. grup C/G*; anöstrusta *S. agalactiae*, *S. chromogenes*, *Proteus*, *S. intermedius*, *Candida* spp., *S. aereus*, *Enterococcus faecalis*, *S. uberis* ve *S. hominis* gibi etkenler tespit edildi. Buna ilaveten siklusun her evresinde *E. coli*'nin olduğu görüldü. Bjurström ve Linde-Forsberg (21) yaptıkları çalışmada floranın seksüel siklus boyunca değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Proöstrus, östrus, metöstrus ve gebelik döneminde *P. multocida* oranının anöstrus ve post-partum döneme göre önemli derecede fazla olduğunu ve proöstrus boyunca da β -hemolitik streptokok oranının daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, sağlıklı dişi köpeklerin vaginasında seksüel siklusun her döneminde belirli bakterilerden oluşan bir floranın bulunduğu belirlenmiştir. Ancak, belirlenen floranın patojen olup olmadığını belirlenmesi ve reproduktif bir hastalığın teşhisi için bakteriyolojik muayene ile diğer klinik muayene yöntemlerinin birlikte yapılmasının uygun olacağı kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Allen WE, Dagnall GJR. (1982). Some observation on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch. *J. Small Anim. Pract.* 23: 325-335.
2. Nelson RW, Feldman EC. (1986). Pyometra in the bitch. In: *Current Therapy in Theriogenology 2*, DA Morrow (ed), pp: 484-489. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
3. Olson PN, Jones RL, Mater EC. (1986): The use and misuse of vaginal cultures in diagnosing reproductive diseases in the bitch. In: *Current Therapy in Theriogenology 2*, DA Morrow (ed), pp: 469-475, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
4. Kırşan İ, Akan M, Şenünver A. (2000). Sağlıklı dişi köpeklerin genital kanalında bakteriyel flora üzerine araştırmalar. *İst. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 26(1): 235-241.
5. Baba E, Hata H, Furkata T, Arakawa A. (1983): Vaginal and uterine mikroflora of adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 44: 606-609.

6. Olson PN, Mather EC. (1978). Canine vaginal and uterine bacteriyal flora. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172: 708-711.
7. Günay Ü, Günay A, Ülgen M, Özel AE. (2004). Köpeklerde farklı siklus evrelerindeki vaginal bakteriyel floranın incelenesi. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg. 23: 15-19.
8. Duijkeren E. (1992). Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. Vet. Rec. 131: 367-369.
9. 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.
10. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1989). Infertility in the bitch and cat. In: Veterinary Reproduction and Obstetrics. 6th edition. pp: 487-505. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 487-505.
11. Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. (2001). Disorders of the Canine Vagina, Vestibule, and Vulva. In: Canine and Feline Theriogenology. pp: 225-242. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
12. Bjurstrom L, Linde-Forsberg C. (1989). The normal aerobic bacterial flora of the genital tract in fertile bitches and stud dogs. J Reprod Fert Suppl. 39: 325-333.
13. Watts JR, Wright PJ, Lee CS. (1998). Endometrial cytology of the normal bitch throughout the reproductive cycle. J Small Anim Pract. 39(1): 2-9.
14. Jonhston SD. (1980). Diagnostic and therapeutic approach to infertility in the bitch. J. Am. Vet. Med. Assoc. 176: 1335-1338.
15. Linde C. (1983). Partial abortion associated with genital Escherichia coli infection in a bitch. Vet. Rec., 112: 454-455.
16. Papanicolaou GN. (1942). A new procedure for staining vaginal smears. Sciece, 95: 438-439.
17. Bjurstrom L. (1993). Aerobik bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. Acta Vet. Scand. 34: 29-34.
18. Hirst DC, Wiger N. (1977). The bacterial flora of the normal canine vagina comparede with that of vaginal exudates. J. Small. Anim. Prac. 18: 25-30.
19. Doig PA, Ruhnke HL, Bosu WTK. (1981). The genital mycoplasma and ureaplasma flora of healthy and diseased dogs. Can. J. Comp. Med.Vet. Sci. 45: 233.
20. Ling GV, Ruby AL. (1978). Aerobic becterial flora of prepuce, urethra and vagina of normal adult dog. Am J Vet Res. 39: 695-698.
21. Bjurstrom L, Linde-Forsberg C. (1992). Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in breeding bitches. Am J Vet Res. 53(5): 665-669.

Yazışma Adresi: Nihat ÖZYURTLU
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 21280 Diyarbakır.