

## Köpeklerde Farklı Siklus Evrelerindeki Vajinal Bakteriyel Floranın İncelenmesi

Ülgen GÜNAY\* AYTEKİN GÜNAY\*\* MİHRİBAN ÜLGEN\*\*\* A. EBRU ÖZEL\*\*\*\*

Geliş Tarihi: 06.02.2004

Kabul Tarihi: 19.03.2004

**Özet:** Bu çalışmada köpeklerde farklı siklus evrelerindeki bakteriyel vajinal floranın incelenmesi amaçlandı. Çalışmada değişik ırklardan 53 adet dişi köpek materyal olarak kullanıldı. Bakteriyolojik incelemeler için dişi köpeklerin vaginasından alınan svablar Stuart transport medium içinde laboratuara ulaştırıldı ve rutin metotlarla incelendi. Svabların alınmasının ardından siklus dönemlerinin belirlenmesi için her bir köpeğe vajinal sitoloji uygulandı. Çeşitli ırklardan 53 adet köpeğin 48 (%90.5)'inden 56 adet etken izole edildi. Bunların 9'u E.coli (%16), 9'u Candida spp. (%16), 6'sı Citrobacter diversus (%10.7), 5'i Citrobacter freundii (%8.9), 4'ü Klebsiella oxytoca (%7.1), 4'ü Klebsiella pneumoniae (%7.1), 3'ü S. aureus (%5.3), 3'ü S. intermedius (%5.3), 3'ü Bacillus spp. (%5.3), 2'si S. saprophyticus (%3.5), 2'si Streptococcus agalactiae (%3.5), 2'si Micrococcus spp. (%3.5), 2'si Citrobacter amalonaticus (%3.5) ve 2'si Enterobacter agglomerans (%3.5) olarak izole ve tanımlandı. Sonuçta farklı siklus evrelerinde farklı etkenlerin yanı sıra aynı etkenlerin de üreyebildiği ve vajinal floranın karışık karakterde olduğu saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Dişi köpek, seksüel siklus, vajinal bakteriyel flora.

### Investigation of the Vaginal Bacterial Flora at Different Stage of Sexual Cycle in the Bitch

**Summary:** In this study, it was aimed to investigate the bacterial vaginal flora and different sexual cycle. Fifty three bitches from different breeds were used as material. Vaginal swab samples were taken from the vagina of bitches, which were transported in the Stuart transport medium for bacteriological examinations, and swab samples were examined by routine methods. Thereafter, vaginal cytology was applied on every bitch for distinguishing the cycle's periods. Fifty six microorganisms were isolated from 48 of 53 bitches from different breeds (90.5%). Nine E.coli (16%), 9 Candida spp. (16%), 6 Citrobacter diversus (10.7%), 5 Citrobacter freundii (8.9%), 4 Klebsiella oxytoca (7.1%), 4 Klebsiella pneumoniae (7.1%), 3 S. aureus (5.3%), 3 S. intermedius (5.3%), 3 Bacillus spp. (5.3%), 2 S. saprophyticus (3.5%), 2 Streptococcus agalactiae (3.5%), 2 Micrococcus spp (3.5%), 2 Citrobacter amalonaticus (3.5%) and 2 Enterobacter agglomerans (3.5%) of 56 bacteria were identified. As a result, it was determined that different bacteria could grow as well as same bacteria at different stage of sexual cycles and vaginal flora was determined mixed character.

**Key Words:** Bitch, sexual cycle, vaginal bacterial flora.

\* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

\*\* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. İbrahim Orhan Meslek Yüksekokulu, Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Programı, Bursa-Türkiye.

\*\*\* Prof. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

\*\*\*\* Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

## Giriş

Sağlıklı dişi köpeklerin vaginasından çok farklı türde bakteri izole edilmiştir<sup>1,2,20,21,25</sup>. Araştırmacılar<sup>2,6,10,20</sup>, bakteriyel popülasyonun genellikle karışık olduğunu ve aerob ile anaerob mikroorganizmaları içerdiğini bildirmişlerdir.

Dişi köpeklerin vaginal florasında *E. coli*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Pasteurella* türlerinin yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir<sup>1,13,20,22</sup>. Ayrıca reproduktif hastalığı olmayan köpeklerin %30-88'inin vaginasından *Mycoplasma* türleri de elde edilmiştir<sup>2,7,9,15,18</sup>.

Vaginal kültürler genellikle infertilite, neonatal septisemi, pre ve postpubertal vaginitis ile bağlantılı olan vaginal floranın özelliğinin ortaya konması için alınmaktadır<sup>4,11,14,16,19,22</sup>. Köpeklerde vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanı sıra vaginal bakteriyel floranın incelenmesi de önem taşımaktadır. Çünkü herhangi bir enfeksiyonun bulunmasının dişi köpeklerde östrus aralıklarını da etkilediği bildirilmektedir<sup>17</sup>.

Dişi köpeklerde östrus siklus safhalarının bakteriyel floranı etkileyebildiği<sup>1,2,6,10,12,17</sup> ve bakteri sayısının östrus boyunca reproduktif aktivitenin diğer safhalarından önemli ölçüde yüksek olduğu<sup>2,20</sup> belirtilmiştir. Seksüel siklusun farklı safhalarında izole edilen bakteri türlerinde belirgin bir farklılık bulunmamıştır<sup>20</sup>. Ancak Allen ve Dagnall<sup>1</sup> ile Baba ve ark.<sup>2</sup>, proöstrus ve östrusta bakteri sayısında bir artış olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada dişi köpeklerde farklı siklus evrelerindeki vaginal bakteriyel floranın incelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak özel bir köpek eğitim ve üretim çiftliğinde bulunan 10 Labrador, 8 Kangal, 8 Alman Çoban köpeği, 6 Golden Retriever, 3 Doberman, 2 Akbaş, 2 sokak köpeği, 2 Terrier, 2 Pitbul, 2 Kafkas çoban köpeği, 1 Husky, 1 Danua, 1 Alaska malamudu, 1 İspanyol cooker, 1 American cooker, 1 Belçika kurdu, 1 Rotweiler, 1 Dalmaçyalı ırkından olmak üzere klinik olarak herhangi bir problemi bulunmayan, puberteye erişmiş ve sağlıklı toplam 53 köpek kullanıldı.

Bakteriyolojik incelemeler için dişi köpeklerin vaginasından steril svablar yardımıyla örnekler alındı. Svabların alınmasının ardından siklus dönemlerinin belirlenmesi için her bir köpeğe vaginal sitoloji uygulandı. Vaginal smearlar Giemsa Wright boyama tekniğine<sup>8,26</sup> göre boyandı ve her bir preparatta 100 hücre sayılarak hücre oranları % olarak değerlendirilerek siklus evreleri belirlendi. Bütün smearlar X 40 objektif altında ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi.

Her bir köpektan bakteriyolojik inceleme amaçlı alınan svablar Stuart transport medium içinde laboratuara ulaştırıldı. Örnekler Kanlı Agar (%7 Koyun kanlı-Blood Agar Base No:2-CM271 - Oxoid), Eosin Metilen Blue Agar (Lab61 - LabM), Supplement (Mycoplasma Selective Supplement- G SR059C - Oxoid) ilave edilmiş Mycoplasma Agar (CM401 - Oxoid) ve Mycoplasma Broth (CM403-Oxoid) besiyerlerine eklendi. Mycoplasma besiyerleri %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de nemli ortamda 1-5 gün, diğer petrilere ise aerobik koşullarda 37°C'de 1-3 gün inkube edildi. İnkubasyon süresi sonunda üreyen koloniler rutin metotlarla identifiye edildi<sup>3,23</sup>.

## Bulgular

Sunulan çalışmada materyal olarak kullanılan çeşitli ırklardan 53 adet köpeğe yapılan sitolojik incelemeler sonucunda 53 köpektan 8'inin proöstrusta, 13'ünün östrusta ve 32'sinin anöstrus döneminde olduğu tespit edildi. Yapılan bakteriyolojik incelemelerde 53 adet köpeğin 48 (%90.5)'inden 56 adet etken izole edildi. Bu etkenlerin 9'u *E.coli* (%16), 9'u *Candida* spp. (%16), 6'sı *Citrobacter diversus* (%10.7), 5'i *Citrobacter freundii* (%8.9), 4'ü *Klebsiella oxytoca* (%7.1), 4'ü *Klebsiella pneumoniae* (%7.1), 3'ü *S. aureus* (%5.3), 3'ü *S. intermedius* (%5.3), 3'ü *Bacillus* spp. (%5.3), 2'si *S. sapropticus* (%3.5), 2'si *Streptococcus agalactiae* (%3.5), 2'si *Micrococcus* spp. (%3.5), 2'si *Citrobacter amalonaticus* (%3.5) ve 2'si *Enterobacter agglomerans* (%3.5) olarak identifiye edildi. Siklus evrelerine göre izole edilen etkenler, sayı ve oranları Tablo I'de sunulmuştur.

**Tablo I. Siklus Evrelerine Göre İzole Edilen Etkenler, Sayı ve Oranları**

Etkenin ismi	Siklus evreleri						Etken	
	Proöstrus (n=8)		Östrus (n=13)		Anöstrus (n=32)		Sayı	Toplam (%)
	Etkenin sayısı	Etkenin oranı (%)	Etkenin sayısı	Etkenin oranı (%)	Etkenin sayısı	Etkenin oranı (%)		
<i>E. coli</i>	1	12.5	2	15.3	6	18.75	9	16.0
<i>Candida spp</i>	2	25.0	2	15.3	5	15.6	9	16.0
<i>Citrobacter diversus</i>	0	0	0	0	6	18.75	6	10.7
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	5	15.6	5	8.9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	12.5	1	7.6	2	6.25	4	7.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	12.5	2	15.3	1	3.1	4	7.1
<i>S. aureus</i>	0	0	1	7.6	2	6.25	3	5.3
<i>S. intermedius</i>	0	0	0	0	3	9.3	3	5.3
<i>Bacillus spp</i>	1	12.5	2	15.3	0	0	3	5.3
<i>S. saprophyticus</i>	0	0	1	7.6	1	3.1	2	3.5
<i>Strep. agalactiae</i>	1	12.5	0	0	1	3.1	2	3.5
<i>Micrococcus spp</i>	0	0	0	0	2	6.25	2	3.5
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0	0	0	0	2	6.25	2	3.5
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	12.5	0	0	1	3.1	2	3.5

## Tartışma ve Sonuç

Köpeklerde vaginal floranın farklı türde bakteri içerdiği bildirilmiştir<sup>2,6,10,20</sup>. Köpeklerin vaginal florasından genellikle izole edilen bakteriler *E.coli*<sup>2,5,9,12,13,27</sup>, *Pasteurella spp.*<sup>5,2,12,19,24,27</sup>, *Proteus spp.*<sup>12,20,24,27</sup>, *Bacillus spp.*<sup>13,20</sup>, *Citrobacter spp.*<sup>12</sup>, *Haemophilus spp.*<sup>20,27</sup>, *Enterobacter spp.*<sup>12,13</sup>, *Corynebacterium spp.*<sup>13,20,24</sup>, *Lactobacillus spp.*<sup>20</sup>, *Pseudomonas spp.*<sup>13,20</sup>, *Micrococcus spp.*<sup>20</sup>, *Klebsiella spp.*<sup>20,24</sup>, *Staphylococcus spp.*<sup>1,12,13,24</sup>, non-hemolitik *Streptococcus*<sup>12,20</sup>,  $\alpha$  hemolitik *Streptococcus*<sup>2,12,20,27</sup>,  $\beta$  hemolitik *Streptococcus*<sup>1,2,5,12,13</sup>, *Klebsiella spp.*<sup>12,20</sup>, *Flavobacterium sp.*<sup>12,13,20</sup>, *Acinetobacter spp.*<sup>12,20</sup>, *Neisseria spp.*<sup>12,20</sup>, *Pseudomonas spp.*<sup>13,24</sup>, *Mycoplasma spp.*<sup>2,7,15,18</sup>, *Candida spp.*<sup>12</sup> türleridir. Sunulan çalışmada da *E.coli*, *Candida spp.*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Streptococcus agalactiae*, *Micrococcus spp.* ve *Enterobacter agglomerans* etkenleri izole edilmiştir. Ancak bu mikroorganizmaların izolasyon oranları çeşitli araştırmacıların<sup>2,9,13,18,21,22</sup> bulguları ile farklılık göstermektedir.

Bazı araştırmacılar<sup>2,9,18</sup>, tarafından köpeklerin vaginal svaplarında *E.coli* oranının %19-47 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada ise *E.coli*'nin siklus evrelerine göre saptanma oranı proöstrusta %12.5, östrusta %15.3 ve anöstrusta %18.75 iken, tüm svaplarda ortalama %16 oranında olduğu belirlenmiştir. Bu oranlar diğer literatürlere<sup>2,9,18</sup> göre biraz daha düşük bulunmuştur.

Björstom ve Linde-Forsberg<sup>5</sup> inceledikleri 900 vaginal svap örneğinde en fazla oranda *E. coli*,  $\beta$ - hemolitik *Streptococcus* ve *P. multocida* izole ettiklerini ve bu bakterilerin reproduktif hastalığı bulunan dişi köpeklerde de bulunduğunu bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar<sup>1,2,18</sup> köpeklerin vaginal svaplarından izole edilen *Streptococcus* oranını % 52-63, bazı araştırmacılar da<sup>13,21,22</sup> bu oranı % 6-28 arasında saptadıklarını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da *E.coli* %16'lık bir oranla en fazla üreyen bakteridir. *Streptococcus* oranları araştırmacıların<sup>1,2,13,18,21,22</sup> belirttikleri değerlerden çok daha düşük bulunmuş ve *P.multocida* ise izole edilememiştir.

Yapılan bir çalışmada<sup>21</sup>, *Candida* türlerinin insan vaginasında yaygın olarak bulunduğu ancak dişi köpeklerde nadiren izole edildiği belirtilmiştir. Diğer taraftan Fındık ve ark.<sup>12</sup> *Candida spp*'nin dişi köpeklerde sadece proöstrusta ürettiğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ise *Candida spp*, *E.coli* hariç diğer mikroorganizmalara göre yüksek bir oranda ve siklusun her döneminde izole edilmiştir.

Araştırmacılar reproduktif hastalığı olmayan köpeklerin %30-88'inin vaginasından *Mycoplasma* türleri izole ettiklerini belirtmişlerdir<sup>2,7,15,18</sup>. Fındık ve ark.<sup>12</sup> Kangal ırkı dişi köpeklerin vaginal florasını farklı siklus evrelerinde ve gebelikte incelemişler, fakat hiçbir svap örneğinde *Mycoplasma* üremediğini belirtmişlerdir. Watts ve ark.<sup>27</sup> da siklusun farklı evrelerinde aldıkları svaplarda *Mycoplasma*'ya rastlamamışlardır. Sunulan çalışmada da siklus evrelerinin hiçbir

risinde Fındık ve ark.<sup>12</sup> ile Watss ve ark.<sup>27</sup>'nin bildirdiği gibi Mycoplasma izole edilememiştir.

Dujkeren<sup>10</sup>, vaginal kültürlerin, reproduktif sistemin infeksiyöz hastalıkların teşhisinde yardımcı olduğunu, izole edilen bakteri sayısının hormonal faktörlerden veya örnek toplama tekniğinden etkilenebildiğini belirtmiştir. Bu çalışmadaki bazı bakterilerin diğer literatürlere göre<sup>2,5,9,13,18,21,22</sup> farklı oranlarda izole edilmiş olması Dujkeren<sup>10</sup>'in belirttiği nedenlere bağlanabilir.

Vaginal kültürlerin genellikle infertilite, neonetal septisemi, pre ve postpubertal vaginitis ile bağlantılı olan vaginal floranın özelliğinin ortaya konmasında<sup>3,11,14,16,19,22</sup> yararlı olduğu dikkate alındığında, yapılan araştırmada bazı etkenlerin siklusun her döneminde ürettiği, bazı etkenlerin siklusun bazı evrelerinde üreme gösterdiği, bazılarının ise belli dönemlerde üremediği ve vaginanın karışık floraya sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

## Kaynaklar

1. ALLEN WE, DAGNALL GJR. Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch. *J. Small Anim. Pract.* 1982; 23: 325-335.
2. BABA E, HATA H, FURKATA T, ARAKAWA A. Vaginal and uterine microflora of adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1983; 44: 606-610.
3. BISPING W., AMTSBERG G. *Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals*, Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg, 1988.
4. BJURNSTROM L, LINDE-FORSBERG C. Long-term study of aerobic bacteria in the genital tract of stud dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1992; 53: 670-673.
5. BJURNSTROM L, LINDE-FORSBERG C. The normal aerobic bacterial flora of the genital tract in fertile bitches and stud dogs. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1989; 39: 325-333.
6. BJURNSTROM L. Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. *Acta Vet. Scand.* 1993; 34: 29-34.
7. BRUCHIM A, LUTSKY I. Isolation of mycoplasmas from the canine genital tract: a survey of 108 healthy dogs. *Res. Vet. Sci.* 1978; 25: 243-245.
8. DİNÇ, DA. Koyunlarda İnfertilite In: ALAÇAM, ed. *Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite*. Birinci baskı. Dizevi, Konya, 315-339, 1994.
9. DOIG PA, RUHNKE HL, BOSU WTK. The genital mycoplasma and ureaplasma flora of healthy and diseased dogs. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1981; 45: 233.
10. DUJKEREN E. Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. *Vet. Rec.* 1992; 17: 367-369.
11. FARSTAD W. Bacterial findings in the genital tract of bitches with reproductive disorders. *Nordisk Veterinaermedicin.* 1982; 34 (12): 451-456.
12. FİNDİK M, MARAL N, KESKİN O, KALENDER H, ERDEĞER J, ASLAN S. Kangal ırkı köpeklerde seksüel siklus evreleri, gebelik ve postpartum dönem ile vaginal flora arasındaki ilişki. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2003; 27: 761-765.
13. HIRST DC, WIGER N. The bacterial flora of the normal canine vagina compared with that of vaginal exudates. *J. Small Anim. Pract.* 1977; 18: 25-30.
14. JOHNSTON SD. Diagnostic and therapeutic approach to infertility in the bitch. *JAVMA.* 1980; 176: 1335-1338.
15. KOSHIMIZU K, OGATA M. Characterization and differentiation of Mycoplasmas of canine origin. *Jap. J. Vet. Sci.* 1974; 36: 391-406.
16. LEIN DH. Examination of the bitch for breeding soundness. In: KIRK RW, ed. *Current Veterinary Therapy VIII*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 909-911, 1983.
17. LINDE C. Partial abortion associated with genital *Ascherichia coli* infection in a bitch. *Vet. Rec.* 1983; 112: 454-455.
18. LING GV, RUBY AL. Aerobic bacterial flora of prepuce, urethra and vagina of normal adult dog. *Am. J. Vet. Res.* 1978; 39: 695-698.
19. OLSON PN, JONES RL, MATHER EC. The use and misuse of vaginal cultures in diagnosing reproductive diseases in the bitch. In: MORROW DA, ed. *Current Therapy in Theriogenology*, 2<sup>nd</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 469-475, 1986.
20. OLSON PN, MATHER EC. Canine vaginal and uterine bacterial flora. *JAVMA.* 1978; 172: 708-712.
21. OSBALDISTON GW. Bacteriological studies of reproductive disorders of bitches. *J. Am. Anim. Assos. Hosp. Assos.* 1978; 14 (3): 363-367.
22. PLATT AM, SIMPSON RB. Bacterial flora of the canine vagina. *Southwest. Vet.* 1974; 7676.
23. QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY BK, CARTER GR. *Clinical Veterinary Microbiology*, Mosby, Edinburgh, 2000.
24. STOCKNER PK, BRUDVIK AM, BAKER D. Canine vaginal flora: a technique for sampling and clinical observation. *Canine Practice.* 1979; 6 (1): 18-19.

25. STROM B, LINDE-FORSBERG C. Effects of ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole on the vaginal bacterial flora of bitches. *Am. J. Vet. Res.* 1993; 54 (6): 891-896.
26. TEKİN N, İZGÜR H, ÖZYURT M. Köpeklerde vaginal smear yöntemiyle kızgınlık siklusu evrelerinin tanısı üzerinde çalışmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1986; 33 (2): 198-209.
27. WATTS JR, WRIGHT PJ, WHITHEAR KC. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *The Journal of Small Anim. Prac.* 1996; 37 (2): 54-60.