

Kangal Irkı Dişi Köpeklerde Seksüel Siklus Evreleri, Gebelik ve Postpartum Dönem ile Vaginal Flora Arasındaki İlişki*

Murat FINDIK

İntervet Veteriner İlaçları, Levent, İstanbul - TÜRKİYE

Nil MARAL

Pets & Vets Veteriner Kliniği, Ankara - TÜRKİYE

Oktay KESKİN

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa - TÜRKİYE

Hakan KALENDER

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale - TÜRKİYE

Jale ERDEĞER

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Selim ASLAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.05.2002

Özet: Bu çalışma, Kangal ırkı dişi köpeklerde seksüel siklus evreleri, gebelik ve postpartum dönem ile vaginal flora arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Kangal ırkı dişi köpeklere (n= 16) düzenli aralıklarla vaginoskopik, vaginal sitolojik ve ultrasonografik kontroller yapılarak buldukları siklus evreleriyle gebelik durumları saptandı ve vaginal svab örnekleri alınarak bakteriyolojik olarak incelendi.

Alınan svab örneklerinden % 7 koyun kanlı agara ekimleri yapıldı ve 37 °C'de 18-24 saat inkube edilerek oluşan kolonilerin toplam sayıları değerlendirildi. Ayrıca svablardan % 7 koyun kanlı agar, PPLO agar, Columbia agar ve serumlu Brusella agara ekimler yapılarak % 10 CO₂'li ortamda 37 °C'de ve Sabouraud dekstroza agara ekim yapılarak, oda ısısında inkube edildi ve oluşan koloniler tanımlanarak tanımlandı.

Siklusun bütün evrelerinde *Escherichia coli* ve gebelik dışındaki dönemlerde de streptokoklar izole edildi. β-hemolitik streptokokların östrus ve erken metaöstrusta, α-hemolitik streptokokların ise diğer evrelerde ürediği tespit edildi. Stafilokoklar preproöstrus ve östrus evresinde üremezken diğer dönemlerde alınan örneklerden değişik oranlarda izole edildiler. Östrus bitimini takip eden devrelerde ise değişik oranlarda *Citrobacter*, *Flavobacter* ve *Proteus* türleri izole edildi. Östrusun farklı devrelerinde *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Neisseria* türleri, geç östrusta *Pasteurella* spp. ve preproöstrusta *Shigella* spp. ve maya izole edildi.

Çiftleştirilen 13 köpekten alınan örneklerde % 76,9 oranında *E. coli* ürerken, % 15,4 oranında β-hemolitik streptokok, % 15,4 oranında α-hemolitik streptokok, % 38,5 oranında *S. aureus* saptanmıştır. *Pastörella*, *Neisseria*, *S. epidermidis* izolasyon oranları ise benzer olarak % 7,7 olarak belirlendi. Gebe kalmayan köpeklerin tamamında (% 100) *E. coli* ürerken, % 75'inde yalnız *E. coli* ürediği, benzer biçimde gebe kalan köpeklerin 6'sında (% 66,7) *E. coli* ürerken bunlardan alınan örneklerin yarısında (% 50) yalnız *E. coli* ürediği tespit edildi.

Sonuç olarak, florayı oluşturan bazı bakteriyel etkenlerin seksüel siklusun her döneminde florada bulunduğu, bazılarının ise belirli dönemlerde olmadığı, östrus dönemindeki köpeklerde de vaginada bakteri üreyebildiği ve bunun gebe kalmayı etkilemediği görüldü.

Anahtar Sözcükler: Kangal, seksüel siklus, gebelik, postpartum, vaginal flora

The Relationship Between the Stages of the Sexual Cycle, the Pregnancy and Postpartum Periods and Vaginal Flora in Kangal Breed Bitches

Abstract: This study was performed on females of the Kangal Breed (Turkish Anatolian Shepherd Dog) with the aim of determining the relationship between the stages of the sexual cycle and vaginal flora. The stages of the cycle in Kangal bitches (n= 16) were determined by performing vaginoscopic, vaginal cytologic and ultrasonographic checks at regular intervals and examining vaginal swab samples bacteriologically. The swab samples were inoculated onto 7% sheep blood agar and incubated for 18-24 h at 37 °C

* Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından "Yurt İçi Doktora Sonrası Bilim Adamı Yetiştirme Bursu" programı çerçevesinde desteklenmiştir.

and total counts of the resulting colonies were evaluated. In addition, inoculations were made onto 7% sheep blood agar, PPLO agar, Columbia agar and Brucella agar with serum and incubated in a 10% CO₂ environment at 37 °C and onto Sabouraud dextrose agar, and these were incubated at room temperature and the resulting colonies identified.

In all stages of to cycle *E. coli* and also Streptococci, were isolated, except in the pregnancy period. It was determined that β-haemolytic streptococci grew at the estrus and early metestrus stages while α-haemolytic streptococci grew at other stages of the cycle. Staphylococci were not found at the pre-proestrus and estrus stages, whereas they were isolated in various percentages from samples taken at the other stages. At the stages following the end of estrus, Citrobacter, Flavobacter and Proteus spp. were isolated in different percentages. Enterobacter, Acinetobacter and Neisseria spp. were isolated at different stages of estrus, Pasteurella spp. at late estrus and Shigella spp. as well as yeast in the pre-proestrus periods.

While the *E. coli* was grown at a rate of 76.9% from the samples from breeding bitches, the coincidence rates of β-haemolytic streptococci, α-haemolytic streptococci as well as *S. aureus* were determined to be 15.4%, 15.4% and 38.5%, respectively. Pasteurella, Neisseria and *S. epidermidis* levels were the same; 7.7%.

It was observed that, *E. coli* appeared at a level of 100% in all the non-pregnant bitches, and *E. coli* alone was isolated at a level of 75%. Similarly *E. coli* appeared in six of the bitches that became pregnant (66.7%) and *E. coli* was isolated alone from half of these samples (50%).

As a result it was observed that some of the bacterial components comprising the vaginal flora were present at every stage of the sexual cycle, while some were absent at particular stages; bacteria could grow at the estrus stage in the vagina without influencing the outcome of the pregnancy.

Key Words: Kangal, sexual cycle, pregnancy, postpartum, vaginal flora

Giriş

Dişı köpeklerde vagina, reproduktif organlar için hedef doku niteliği taşır. Vagina epiteli östrojen hormonunun mitojenik etkisine karşı duyarlı olup, östrus siklusunun değişik evrelerinde söz konusu hormonun değişen düzeylerine uyumlu olarak farklı yapısal görünüm sergiler. Proöstrus başlangıcında östrojenik uyarım artarken, epitel dokuda proliferasyon şekillenir ve vagina duvarı kalınlaşır. Siklusun farklı evrelerinde oluşagelen bu ve benzeri değişimler vaginal sitoloji ve vaginoskopi yöntemleri ile saptanmaktadır (1,2).

Vagina epitelindeki sitolojik değişimlerin saptanması amacıyla yapılan vaginal smear örneklerinin işlenmesi için birçok boyama yöntemi kullanılmaktadır. Papanicolaou tekniği, hücre çekirdeğinin tam olarak görünebilmesi, çeper ve sitoplazma ayırımının kolaylıkla yapılabilmesi, eritrosit ve epitel hücrelerini şeffaf biçimde boyayabilmesi, asidofil ve bazofilii belirleyip asidofil indeksini saptayabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir (3,4).

Dişı köpeklerdeki siklik döngünün belirlenmesi sırasında, vaginal sitoloji ve vaginoskopinin yanısıra vaginal bakteriyel flora da incelenmelidir. Birçok veteriner hekim ve yetiştirici, infertilite, zayıf yavru sendromu ve vaginitis gibi hastalıkların spesifik mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğunu düşünmektedir (5). Bunların dışında genital bir enfeksiyonun varlığı östrus aralıklarını da etkilemektedir (6).

Köpeklerde vaginal flora kalıcı ve değişken olmak üzere iki ayrı nitelik taşımaktadır. Değişken flora çoğunlukla patojen olan mikroorganizmalar ile çeşitli faktörlerin etkisiyle zaman zaman dominant konuma geçen kalıcı flora üyelerinden oluşmaktadır. Vaginal doku gibi bakteriyel flora da oldukça duyarlı bir sistem olup, endojen ve ekzojen pek çok faktörün etkisi altında değişkenlik kaydeder. Bu faktörlerden en belirleyici olanı, hormonal etki ve siklik döngünün ilgili evresi olup, bunun dışında hastalıklar, ilaç tedavisi, immunolojik koşullar ve mikrobiyel etkileşimlerdir. Ayrıca ırklar arasındaki genetik farklılıklar, oksijen, basınç, pH, nem ve epitel döküntü miktarı da florayı etkileyen diğer vaginal karakterlerdir (7).

Vaginanın mikroorganizma dağılımı, sağlıklı hayvanlarda çok değişkendir ve genel olarak fakültatif patojen türlerden oluşmaktadır (7-10). Normal olarak pek çok aerobik ve anaerobik bakteri yerleşik durumda olup, floraya "karışık" nitelik kazandırmaktadır (5). Fizyolojik floranın aerob nitelikli izolasyonları arasında en sık *E. coli*, streptokoklar ve stafilokoklar ile pastorella türlerine rastlanırken (10,11), Bacteroidaceae familyası ve mikoplazma türleri de sağlıklı hayvanlardan elde edilen mikroorganizmalar arasında bulunmaktadır (8).

Siklik döngüyle ilişkili olarak proöstrusta *Pasteurella multocida*'yı β-hemolitik streptokoklar izlemekte, *E. coli* ve mikoplazmalara rastlanmakta; östrusta sıklıkla *P. multocida* ve *E. coli* belirlenmektedir (7,12). Metaöstrusun ilk yarısında sırasıyla α-hemolitik, β-hemolitik ve non-hemolitik streptokoklar ile *E. coli* en çok

izole edilmekte; *Pseudomonas*, *Pastörella*, *Bacillus subtilis* ile *S. intermedius*'a da rastlanmaktadır (13).

Bu çalışmada ülkemize özgü bir köpek olan Kangal ırkında, seksüel siklus evrelerine özgü örneklemelerle vaginal flora karakteri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmanın hayvan materyalini, Ankara yakınlarındaki özel bir işletmede yetiştirilen 16 adet Kangal ırkı dişi köpek oluşturdu. Materyal olarak kullanılan 16 dişi köpekten, seksüel siklusun değişik evreleri, gebelik ve postpartum dönemde olmak üzere 103 adet vaginal svab alındı ve mikrobiyolojik muayeneleri yapıldı.

İlk olarak vaginal sitoloji ve vaginoskopi yöntemiyle buldukları siklus evresi saptandı. Proöstrus ve östrus evresinde ikişer gün ara ile 3 kez, mid-metaöstrusa dek 15 gün ara ile 2 kez, metaöstrus sonu-anöstrus belirlendikten sonra aylık aralıklarla örneklemeler yapıldı. Pre-proöstrus döneminde 10, proöstrus döneminde 7, östrus döneminde 17, metaöstrus döneminde 31, anöstrusta 18 adet örneklemeler yapıldı. Asidofil indeksi % 90-100 arasına, keratinizasyon indeksi % 80'in üzerine ulaşarak optimal östrus bulgusu veren 13 köpek çiftleştirildi ve gebelik yönünden, 25-30. günler arasında ultrasonografi ile kontrol edildi. Bunlardan 9 tanesi gebe kaldı, gebelik dönemine ait 14 ve postpartum döneme ait 6 vaginal svab örneği elde edildi.

Vaginal svab örnekleri, rima vulva kuru olarak temizlendikten sonra kullanılan steril vaginoskopların yardımı ile, anterior vaginadan alındı. Daha sonra rima vulva antiseptik solüsyonla temizlenerek yine vaginoskop aracılığı ile, vaginal mukoza-dorsal median kıvrım ve kanalın muayenesi yapıldıktan sonra smear örnekleri alındı. Papanicolaou yöntemine göre boyanarak her bir preparatta 100 hücre sayıldı ve hücre oranları tayini yapılarak siklik evre belirlendi.

Svab örnekleri, % 7 koyun kanlı agara ekilerek 37 °C'de 18-24 saat aerobik şartlarda inkube edildi. Oluşan kolonilerin toplam sayıları değerlendirilerek identifikasyonları yapıldı. Ayrıca svablardan % 7 koyun kanlı agar, PPLO agar, Columbia agar ve Serumlu Brusella agara ekimler yapılarak % 10 CO₂'li ortamda 37 °C'de, SDA agara ekim yapılarak oda ısısında inkube edildi ve oluşan koloniler identifiye edildi. Üreyen bakterilerin mikroskopik morfoloji, Gram boyanma ve biyokimyasal özellikleri belirlenerek rutin yöntemlerle identifikasyonları yapıldı (14,15).

Bulgular

Söz konusu dönemlere ilişkin olarak alınan 103 adet vaginal svabtan üreyen bakteri türleri ve izolasyon sıklığı yüzdeleri tablo 1'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Pre-proöstrus dönemine ait 10 adet örneğin % 30'unda; proöstrus dönemine ait 7 adet örneğin % 57,1'inde; erken östrus dönemine ait 6 adet örneğin % 50'sinde; optimal östrus dönemine ait 6 adet örneğin % 66,7'sinde; geç östrus dönemine ait 5 adet örneğin % 20'sinde; erken metaöstrus dönemine ait 7 adet örneğin % 28,6'sında; mid-metaöstrus dönemine ait 15 adet örneğin % 33,3'ünde; geç metaöstrus-anöstrus geçişinde alınan 9 adet örneğin % 33,3'ünde saf kültür halinde *E. coli* izole edildi.

Postpartum döneme ait 6 adet örnekten % 16,7 oranında saf kültür *E. coli* izole edilirken, aynı oranda saf *S. aureus* ürediği gözlemlendi.

Anöstrusa ait 18 adet örnekten % 11,1 saf kültür *E. coli*, % 11,1 saf kültür *Acinetobacter* spp. ve % 5,5 saf kültür *S. epidermidis* izole edildi.

Gebe kalan köpeklerden alınan 14 adet örneğin % 21,4'ünde saf kültür *E. coli* ve % 7,1'inde saf kültür α -hemolitik streptokok izole edilirken; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., α ve β -hemolitik streptokoklar, miks kültürleri oluşturan diğer bakteri türleri oldu. Gebe kalmayan köpeklerden alınan 4 adet örneğin 3'ünde (% 75) saf kültür halinde *E. coli*, geri kalan 1 örnekte ise miks kültür halinde *E. coli*, *S. aureus* ve *Enterobacter* spp. üredi.

Alınan tüm örneklerde, elde edilen koloni sayısının 100'den fazla olduğu belirlendi.

Tartışma

Sunulan çalışmada seksüel siklusun her evresinde, gebelik ve postpartum dönemde ortalama % 72,8 oranında saptanarak en sık izole edilen bakteri türü *E. coli* oldu. Bunu % 27,2'lik saptanma oranı ile *S. epidermidis* ve % 23,3 oranı ile α -hemolitik streptokoklar izledi. Duijkeren (5), sağlıklı köpeklerin vaginasından çoğunlukla aerobik mikroorganizmalar, *E. coli*, streptokok ve stafilocok türlerinin izole edildiğini bildirmektedir.

Sağlıklı köpeklerden alınan vaginal svablarda *E. coli* rastlantısı kimi araştırmacılar tarafından % 19-47 arasında değişen bir oranda bildirilirken (8,16,17), Osbaldiston (18) tarafından % 76 olarak aktarılmaktadır. Çalışmada

Tablo 1. Kangal ırkı 16 adet dişi köpekten değişik siklus evrelerinde alınan vaginal svab örneklerinin mikrobiyolojik muayene sonuçları.

| Siklus dönemi (Svab sayısı) | Streptococcus spp. | | | | | | | | | | | | | | Corynebacterium spp. | Klebsiella spp. | Shigella | Maya |
|--------------------------------|--------------------|----------------------|---------------------|---------------|-----------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|-----------|----------------------|-----------------|------------|-------------|
| | <i>E. coli</i> | α - hemolitik | β - hemolitik | non hemolitik | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>Citrobacter</i> spp. | <i>Flavobacter</i> spp. | <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Acinetobacter</i> spp. | <i>Proteus</i> spp. | <i>Neisseria</i> spp. | <i>Pasteurella</i> spp. | | | | | |
| Preproöstrus (n=10) | %60 (6) | %40 (4) | - | %20 (2) | %20 (2) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | %10 (1) | % 10 (1) |
| Proöstrus (n=7) | %71,4 (5) | %14,3 (1) | - | %28,6 (2) | - | %14,3 (1) | - | - | %14,3 (1) | %14,3 (1) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Erken östrus (n=6) | %100 (6) | %16,7 (1) | %16,7 (1) | - | %16,7 (1) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Östrus (n=6) | %100 (6) | - | %16,7 (1) | - | - | - | - | - | - | - | %16,7 (1) | - | - | - | - | - | - | - |
| Geç östrus (n=5) | %80 (4) | %20 (1) | %20 (1) | - | %40 (2) | %20 (1) | - | - | - | - | - | %20 (1) | - | - | - | - | - | - |
| Erken metaöstrus (n=7) | %85,7 (6) | %14,3 (1) | %14,3 (1) | - | %42,9 (3) | - | %14,3 (1) | %14,3 (1) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Mid metaöstrus (n=15) | %73,3 (11) | %6,7 (1) | %6,7 (1) | %6,7 (1) | %40 (6) | %20 (3) | - | %6,7 (1) | %6,7 (1) | - | %6,7 (1) | - | %6,7 (1) | - | - | - | - | - |
| Gebelik (n=14) | %71,4 (10) | %35,7 (5) | %21,4 (3) | - | %21,4 (3) | %35,7 (5) | %14,3 (2) | - | - | %7,1 (1) | - | - | - | - | - | %7,1 (1) | - | - |
| Geçmetaös.→ Anöstrus (n=9) | %66,7 (6) | %33,3 (3) | %11,1 (1) | - | %33,3 (3) | %11,1 (1) | - | - | %11,1 (1) | %11,1 (1) | %11,1 (1) | - | - | - | - | - | - | - |
| Anöstrus (n=18) | %66,7 (12) | %22,2 (4) | - | %5,6 (1) | %38,9 (7) | %27,8 (5) | %22,2 (4) | - | %5,6 (1) | %11,1 (2) | %11,1 (2) | - | - | - | - | - | - | - |
| Postpartum (n=6) | %50 (3) | %50 (3) | - | - | %16,7 (1) | %50 (3) | - | - | - | - | %16,7 (1) | - | - | - | - | - | - | - |
| TOPLAM (n= 103) | %72,8 (75) | %23,3 (24) | %8,7 (9) | %5,8 (6) | %27,2 (28) | %18,4 (19) | %6,8 (7) | %1,9 (2) | %3,9 (4) | %4,9 (5) | %3,9 (4) | %1,9 (2) | %1 (1) | %1 (1) | %1 (1) | %1 (1) | %1 (1) | %1 (1) |

erken östrus ve östrus evrelerinde alınan svabların tamamından (% 100) *E. coli* izole edildi. Çiftleştirilen 13 köpekten alınan örneklerden 10'unda (% 76,9) *E. coli* saptandı. Çiftleştirilen köpeklerden, β -hemolitik streptokoklar % 15,4, α -hemolitik streptokoklar % 15,4, *S. aureus* % 38,5, *Pasteurella* spp., *Neisseria* spp. ve *S. epidermidis* ise % 7,7 oranlarında izole edildi. Gebe kalmayan köpeklerin tamamında (% 100) *E. coli* ürerken, % 75'inde *E. coli*'nin saf kültür halinde ürettiği dikkat çekmektedir. Benzer biçimde gebe kalan köpeklerin 6'sında (% 66,7) *E. coli* ürerken bunlardan alınan örneklerin yarısında (% 50) saf kültür halinde *E. coli* ürettiği göze çarpmaktadır.

Björström ve Linde-Forsberg (19), yaptıkları 18 aylık bir çalışma ile incelendikleri 900 örnekte en çok *E. coli*, β -

hemolitik streptokok ve *P. multocida* izole edildiğini, öte yandan aynı bakterilerin reproduktif sorunlu hayvanlarda da bulunduğunu belirlemişler ve normal reproduktif fonksiyona sahip köpekler için, vaginal bakteriyel incelemenin düşük diagnostik değer taşıdığı sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir.

İncelenen 103 vaginal svabtan 24'ünde α -hemolitik, 9'unda β -hemolitik ve 6'sında non-hemolitik nitelikte olmak üzere 39 adet örnekte streptokok türleri izole edildi ve saptanma oranı % 37,9 olarak belirlendi. α -hemolitik Streptokoklar östrus evresi hariç tüm siklus evrelerinde izole edilirken, en yüksek saptanma oranı % 50 ile postpartum ve % 35,7 ile gebe köpeklerde elde edildi. β -hemolitik streptokoklara gebe köpeklerde % 21,4 oranında, erken östrustan geç metaöstrusa dek olan

dönemlerde ise % 6,7-16,7 oranında rastlandığı belirlendi.

Allen ve Dagnall (10), Baba ve ark. (8), Ling ve Ruby (17) gibi araştırmacılar streptokok izolasyon oranını % 52-63 arasında bildirirken, Hirsch ve Wiger (11), Osbaldiston (18) ile Platt ve Simpson (20) gibi araştırmacılara göre bu oran % 6-28 arasında bulunmaktadır.

Çeşitli araştırmacıların (8,16,17), reproduktif sorunu olmayan köpeklere ait vaginal svablardan % 30-88 oranında mikoplazma türleri ürettiğine ilişkin bildirimlerine karşın, sözkonusu çalışmada hiçbir svab örneğinde mikoplazma türü üremedi.

Preproöstrus döneminde *Shigella* spp. ve maya izole edilirken, östrusta *Neisseria*, östrus sonunda pastörella, östrus bitimini takip eden evrelerde değişik oranlarda *Citrobacter*, *Flavobacter* ve *Proteus* türleri belirlendi. Yine

siklusun farklı evrelerinde enterobacter ve acinetobacter türlerine rastlandı.

Sonuç olarak florayı oluşturan bazı etkenlerin, seksüel siklusun her döneminde florada bulunduğu, bazılarının ise belirli dönemlerde olmadığı; östrus evresindeki köpeklerde vaginada bakteri üreyebildiği ve bunun gebelik sonucunu etkilemediği görüldü.

Bu bulgulardan hareketle, bakteriyolojik muayene sonucu izole eden etkenlerin patojen olarak kabul edilebilmesi için bakteriyolojik bulgunun yanısıra, klinik semptomların varlığı, etkenlerin biyokimyasal aktivitelerine göre sınıflandırılabilmesi, aynı etkenlerin birkaç kez saf kültür halinde izole edilebilmesi gibi bazı değerlendirmelerin yapılması gerektiği (21) görüşü doğruluk kazanmaktadır.

Kaynaklar

1. Batamuzi, E.K., Kessy, B.M.: Role of exfoliative cytology in the diagnosis of canine transmissible venereal tumour. *J. Small Anim. Pract.* 1993; 34: 399-401.
2. Christiansen, I.J.: Cytological examination of the vaginal smear. In: "Reproduction in the Dog and Cat" Bailliere Tindall, London, p.: 20-28, 1984.
3. Aslan, S., Erünal, N., Kılıçoğlu, Ç., Fındık, M., Baştan, A., Kaymaz, M., Topaçoğlu, S.: Einsatz der Papanicolaou Farbmethode zur Vaginalzytologischen Untersuchung bei der Hündin. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1995; 42: 431-439.
4. Papanicolaou, G.N.: A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 1942; 95: 438-439.
5. Duijkeren, E.: Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. *Vet. Rec.* 1992; 131: 367-369.
6. Linde, C.: Partial abortion associated with genital *Escherichia coli* infection in a bitch. *Vet. Rec.* 1983; 112: 454-455.
7. Bjurström, L., Linde-Forsberg, C.: Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in breeding bitches. *Am. J. Vet. Res.* 1992; 53: 665-669.
8. Baba, E., Hata, H., Fukata, T., Arawaka, A.: Vaginal and uterine microflora of adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1983; 44: 606-609.
9. Olson, P.N., Mather, E.C.: Canine vaginal and uterine bacterial flora. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1978; 172: 708-711.
10. Allen, W.E., Dagnall, G.J.R.: Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch. *J. Small Anim. Pract.* 1982; 23: 325-335.
11. Hirsh, D.C., Wiger, N.: The bacterial flora of the normal canine vagina compared with that of vaginal exudates. *J. Small Anim. Pract.* 1977; 18: 25-30.
12. Bjurström, L.: Aerobic Bacteria Occuring in the Vagina of Bitches with Reproductive Disorders. *Acta Vet. Scand.* 1993; 34: 29-34.
13. Siesenop, U., Günzel-Apel, A.R., Hackbarth, H.: Die mikrobielle Vaginalflora bei Hündinnen einer Beaglegruppe, von und im Verlauf des ersten Sexualzyklus. *Kleintierpraxis*, 1995; 41: 449-455.
14. Holt, J.G. (Ed), Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Bergey, D.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1994; Williams & Wilkins; 9th edition, Lippincott.
15. Quinn P.J., Carter M.I., Markey B.K., Carter G.R. : *Clinical Veterinary Microbiology*, 1994; Wolf Publishing, Spain.
16. Doig, P.A., Ruhnke, H.L., Bosu, W.T.K.: The genital mycoplasma and ureaplasma flora of healthy and diseased dogs. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1981; 45: 233.
17. Ling, G.V., Ruby, A.L.: Aerobic bacterial flora of the prepuce, urethra, and vagina of normal adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1978; 39: 695-698.
18. Osbaldiston, G.W.: Vaginitis in a bitch associated with *Haemophilus* sp. *Am. J. Vet. Res.* 1971; 12: 2067-2069.
19. Bjurström, 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.
20. Platt, A.M., Simpson, R.B.: Bacterial flora of the canine vagina. *Southwest. Vet.* 1974; 76: 76.
21. Günzel-Apel, A.R., Lübke, A., Rodhe, J.: Vergleichende Untersuchung der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Sexualzyklus und Puerperium von Beaglehündinnen. *Tierärztl. Prax.* 1999; 27: 112-119.