

Mikroflora fizjologiczna oraz w stanach zapalnych dróg rodnych u suk. Możliwość wykorzystania probiotyków

Natalia Witka¹, Marlena Szydło², Magdalena Strus³, Edyta Golińska³, Joanna Lenarczyk⁴, Natalia Sowińska⁵

z Przychodni Weterynaryjnej „Felis” w Brzeszczach¹, Lecznicy Weterynaryjnej Amavet w Krakowie², Katedry Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie³, Lecznicy Weterynaryjnej Multiwet w Krakowie⁴ oraz Ośrodka Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR w Krakowie⁵

Stany zapalne dróg rodnych suk, których etiopatogeneza nie jest w pełni wyjaśniona, są dużym problemem w praktyce weterynaryjnej. Powikłania stanów zapalnych dróg rodnych – od zaburzeń płodności, przez poronienia (1, 2), wczesną resorpcję zarodków i ich obumieralność (1) do zespołu *endometritis-pyometra* (3, 4) – skłaniają do przeanalizowania zależności między florą bakteryjną dróg rodnych, fazą cyklu rujowego a stanem zdrowia suk. Ponadto stany zapalne dróg rodnych suk przyczyniają się do nawracających problemów z układem moczowym (5). Zebranie wiedzy z tego zakresu stanowi punkt wyjścia do odnalezienia drogi do skutecznej profilaktyki tych chorób. Innym ważnym aspektem w mikrobiologii układu rozrodczego małych zwierząt jest możliwość potencjalnego występowania bakterii probiotycznych, takich jak bakterie kwasu mlekowego

z rodzaju *Lactobacillus*, np. *L. plantarum* czy *L. murinus* (6). Obecność tych mikroorganizmów jest istotna ze względu na ich silne działanie antibakteryjne i antygrzybicze.

Mikroflora pochwy u suk

Pochwa mięsożernych, w tym suk, jest szczególnie długa. Część doczaszkowa sięga odcinka otrzewnowego jamy miednicy. Pochwa dzieli się na pochwę właściwą, położoną doczaszkowo oraz przedsionek pochwy. Granicę wyznacza ujście zewnętrzne cewki moczowej. W ścianie pochwy wyróżnia się – rozpoczynając od zewnątrz – błonę surowiczą, błonę mięśniową i błonę śluzową (7). Błonę śluzową okrywa nabłonek wielowarstwowy płaski, który ulega cyklicznym zmianom w zależności od stopnia estrogenizacji. Stopień

estrogenizacji jest zależny od stężenia estrogenów we krwi obwodowej, które ulega zmianom w przebiegu cyklu jajnikowego. Wraz ze wzrostem estrogenizacji dochodzi do nasilenia proliferacji i zwiększenia grubości nabłonka oraz keratynizacji jego powierzchniowych warstw. Jednocześnie dochodzi do obrzęku błony śluzowej oraz zmiany barwy od różowej przez czerwoną do bladej. Następnie obserwuje się surowiczo-krwisty wypływ, po czym, kiedy wpływ estrogenów ulega obniżeniu, obrzęk ustępuje, dochodzi do złuszczenia nabłonka i ponownie staje się on cienki, zaróżowiony i bez obrzęku (1, 8, 9, 10).

Skład jakościowy fizjologicznej mikroflory pochwy

Fizjologiczną mikroflorę pochwy tworzą zarówno bakterie saprofityczne, jak i warunkowo chorobotwórcze, w większości należące do bakterii tlenowych (90,5%; 5). U zdrowych suk występuje również niewielki odsetek bakterii beztlenowych (11). Główny skład mikroflory fizjologicznej stanowią bakterie z rodzaju β -hemolizujących *Streptococcus* spp. (*S. canis*), *Staphylococcus* spp. (*S. intermedius*, *S. aureus*) oraz *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pasteurella multocida*, a także rodzajów *Proteus* spp., *Bacillus* spp. i *Corynebacterium* spp. Ponadto obserwuje się obecność bakterii z gatunku *Klebsiella pneumoniae* oraz *Actinomyces* spp., niehemolizujących *Streptococcus* i *Neisseria* spp. (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17). Udział bakterii z rodzaju *Lactobacillus* spp., *Mycoplasma* spp. oraz *Ureaplasma* jest kontrowersyjny.

W piśmiennictwie obserwuje się rozbieżność co do procentowego udziału poszczególnych bakterii, jednak dla *Streptococcus* β -hemolizujących wyniki autorów są zbliżone, odsetek ich występowania wynosi ok. 20% (tab. 1; 12, 13, 15, 17). Z próbek do badań mikrobiologicznych od suk izoluje się mieszane populacje bakteryjne (95%), zawierające od 1 do 4 szczepów, średnio 2 (13, 17, 18, 19, 20).

Skład jakościowy mikroflory pochwy a faza cyklu rujowego

Wyniki badań dotyczących zależności składu gatunkowego mikroflory pochwy od fazy cyklu rujowego nie są jednoznaczne. Bjurström (21) wykazał, że istotnie częściej izolowano *Pasteurella multocida* oraz β -hemolizujące paciorkowce w fazie *proestrus* w stosunku do pozostałych faz cyklu rujowego. Zjawisko to autorzy tłumaczyli stopniowym wzrostem stężenia estrogenów w czasie fazy przedrujowej – w przypadku 17- β -estradiolu od poziomu podstawowego wynoszącego ok. 5–15 pg/ml do wartości 50–100 pg/ml pod koniec fazy przedrujowej (1, 9). Estrogeny stymulują wzrost zawartości glikogenu w komórkach nabłonkowych układu rozrodczego. Takie warunki sprzyjają rozwojowi i namnażaniu bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. W związku z tym wzrost stężenia estrogenów pod koniec fazy *proestrus* może sprzyjać rozwojowi szczepów z rodzaju *Lactobacillus*, które poprzez działanie antagonistyczne w fazie rujowej prowadzą do zmniejszenia populacji wielu szczepów bakterii, w tym m.in. *Pasteurella*

Physiological and inflammatory microflora of genital tract in bitches. Potential use of probiotics

Witka N.¹, Szydło M.², Strus M.³, Golińska E.³, Lenarczyk J.⁴, Sowińska N.⁵, Veterinary Surgery "Felis" in Brzeszcze¹, Veterinary Surgery Amavet in Kraków², Department of Microbiology, Medical College of Jagiellonian University³, Veterinary Surgery Muiltwet in Kraków⁴, Center of Experimental and Innovative Medicine, University Centre of Veterinary Medicine, Jagiellonian University-Agricultural University in Cracow⁵

Inflammatory diseases of reproductive system tract in bitches are a common problem in veterinary practice. The inflammation can lead to the serious health problems among which the most important are fertility disorders, embryos resorption and mortality, endometritis-pyometra syndrome and also disorders of urinary system. Research to determine the correlation between health status of females, phase of the cycle, age and bacterial flora of genital tract has been ongoing for years, but the results obtained by individual authors are often contradictory. An important aspect is the presence of probiotic bacteria in the female genital tract and the possible use of them in the prevention of inflammatory disorders. The aim of this paper was to gather the knowledge in this field and to present outcomes of current research projects.

Keywords: genital tract, microflora, inflammation, probiotics, bitch.

multocida. Jednakże w badaniach prowadzonych przez Maksimović i wsp. (15) oraz Baba i wsp. (22) nie wykazano istotnej różnicy w gatunkach bakterii izolowanych w przebiegu poszczególnych faz cyklu rujowego suk. Podobne wyniki uzyskano w badaniach własnych (16).

W badaniach Maksimović i wsp. (15) wykazano korelację pomiędzy liczbą izolowanych kultur mikroorganizmów a fazą cyklu jajnikowego. W fazie *proestrus* oraz *anestrus* przewagę stanowiły monokolonie, natomiast podczas fazy *oestrus* i *dioestrus* dominowały kolonie mieszane. Ponadto Groppetti i wsp. (12) oraz Kustritz (11) w badaniach prowadzonych jedynie w czasie trwania fazy *proestrus* potwierdzają przewagę izolatów tworzących czyste kultury (76,5%) nad koloniami mieszanymi (23,5%) w trakcie tej fazy. Wyniki te sugerują, że w przypadku izolacji czystej kultury bakteryjnej, niekoniecznie jej obecność jest tożsama z aktualnym procesem zapalnym, tak jak sugerują to Zduńczyk i wsp. (23), tj. częściej obserwowano obecność czystych kultur bakteryjnych w grupie z toczącym się procesem zapalnym pochwy, czy John i wsp. (14), donosząc że wzrost jednakowych kolonii jest bardziej sugestywny dla szczepów patogennych. Przy interpretacji badań mikrobiologicznych należy zatem wziąć pod uwagę fazę cyklu rujowego.

Skład ilościowy mikroflory pochwy

Szczegółowe badania nad liczebnością bakterii wykazały, że u 44,1% badanych suk pozyskano poniżej 10² jednostek tworzących kolonie (jtk) /próbkę, od 47,1% suk – 10²-10⁴ jtk/próbkę, a u 8,8% powyżej 10⁴ jtk/próbkę. W przypadku gdy liczebność przekraczała 10⁴ jtk/próbkę izolowano szczepy *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* oraz *E. coli* i β -hemolizacyjne *Streptococcus* (12).

Liczebność bakterii ulega wahaniom w czasie trwania cyklu rujowego. Zaobserwowano jej wzrost w czasie trwania rui (*proestrus* i *estrus*) w stosunku do faz *diestrus* i *anestrus* (17, 24). Laurusevicius i wsp. (20) wykazali wzrost liczebności bakterii w trzech fazach, *proestrus*, *estrus* i *anestrus*, odpowiednio u 28,6, 12,2 i 24,5%, w stosunku do zaledwie 2% w czasie *diestrus*.

Badania Kustritz i wsp. (11) dodatkowo wykazały różnicę pomiędzy liczebnością bakterii w zależności od części pochwy, z której pochodził materiał do badań. W przypadku części doogonowej w *anoestrus* izolowano 2,2 izolaty/sukę, *proestrus* 2,3 izolaty/sukę, natomiast w części doczaszkowej w fazie *anoestrus* 0,7 izolaty/sukę, a *proestrus* 1,0 izolaty/sukę. Wyniki badań Lauruseviciusa i wsp. (20) wykazały, że w części doczaszkowej komponent bakterii tlenowych obserwowano u 60% przypadków, natomiast w części doogonowej odsetek ten sięgał 90%. Przyczyną tych różnic jest fakt kolonizacji pochwy drogą wstępującą z odbytu. Ponadto w badaniach Kustritz i wsp. (11) izolowano więcej szczepów od suk z zakażeniami dróg rodnych.

Brak zgodności autorów dotyczy także liczebności bakterii. W pracy Olson i wsp. (25) oraz w badaniach własnych (16) nie obserwowano różnic w liczebności bakterii w przebiegu cyklu rujowego u suk. Badania Baba i wsp. (22) wykazały różnicę w liczebności dla 38% z 78 przebadanych suk, u których statystycznie istotnie ($p < 0,05$) wyższy wynik otrzymano dla fazy *estrus*. U pozostałych 62% suk nie wykazano różnicy w liczbie bakterii.

Różnica w wynikach może przypuszczać, że wyniki zmienności indywidualnej wśród suk. Warto zauważyć, że w przypadku suki, której pulą wyjściową jest 10^2 jtk/próbkę, osiągając wartość 10^4 jtk/próbkę mimo zasadniczego wzrostu liczebności, pozostanie ona nieuchwytna statystycznie, gdyż wartość ta jest fizjologiczna dla innej suki. Warto zatem, jeśli jest taka możliwość, rozważać aspekt zmienności liczebności populacji, mając do dyspozycji kilka wyników od konkretnej suki – zarówno zdrowej, jak i w czasie wystąpienia objawów klinicznych zapalenia pochwy.

Skład mikroflory pochwy a dojrzałość płciowa

Rodzaj izolowanych szczepów może różnić się w zależności od wieku suki (3). Wykazano istotny wzrost występowania szczepów koagulazo-dodatnich u suk niedojrzałych płciowo w stosunku do zwierząt po osiągnięciu dojrzałości płciowej (3, 25).

Obecność *Lactobacillus* spp. w mikroflorze pochwy

Liczne prace dotyczące mikroflory pochwy nie wymieniają szczepów z rodzaju *Lactobacillus*. Doig i wsp. (2) oraz Hutchins i wsp. (13) wprost informują o braku tej populacji w mikrobiocie, co koreluje z wynikami badań własnych (16) oraz brakiem wyszczególnienia tych szczepów w innych badaniach. Jednak w 2008 r. pojawiły się pierwsze doniesienia o izolacji szczepów z rodzaju *Lactobacillus* spp. z pochwy suk w badaniach

Delucchi i wsp. (26). Badania były poświęcone bakteriom kwasu mlekowego (LAB – lactic acid bacteria), do których zaliczane są gatunki z rodzaju *Lactobacillus* spp. oraz *Enterococcus* spp. Uzyskano wzrost LAB w 41 na 42 próbki, a *Lactobacillus* spp. izolowano w 59% przypadków. Wyizolowane gatunki to *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus plantarum* oraz *Enterococcus canintestini*. Wykazano obecność LAB wyłącznie z *Lactobacillus* i *Enterococcus* w pochwie zdrowych, niekrytych suk (26, 27).

Obecność tych szczepów w środowisku pochwy suk nie jest oczywista ze względu na panujące w niej wysokie pH – średnio 6,5–7,5 (26, 16). Dla porównania pH pochwy u kobiet wynosi 4,5 bądź mniej (26). Bakterie mlekowe rosną w zakresie pH od 4,5 do 7,0 (28), z czego *L. plantarum* rośnie w pH w zakresie od 4,0 do 8,0, a optimum wzrostu przypada na pH 6,0 (29).

Jednocześnie autorzy są zgodni co do występowania bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp., co potwierdzają wcześniej przytoczone dane. Najczęściej izolowanym szczepem był *E. canintestini* (26, 18, 13).

Obecność *Mycoplasma* spp. i *Ureaplasma* spp. w mikroflorze pochwy suk

Groppetti i wsp. (12) oraz Watts i wsp. (24) nie wykazali obecności *Mycoplasma* w mikroflorze pochwy. Natomiast Doig i wsp. (2) wyizolowali *Mycoplasma* od 88% wszystkich badanych suk, a z grupy suk ocenionych jako klinicznie zdrowe w ponad 60% przypadków. Najczęściej izolowanymi gatunkami były, w kolejności: *M. spumans*, *M. maculosum*, *M. edwardsii*, *M. cynos* oraz *M. molare*. 48% wszystkich suk, od których izolowano próbki reprezentowały mieszane kultury, a w grupie klinicznie zdrowych 50% reprezentowało jeden gatunek, a pozostałe dwa gatunki *Mycoplasma*. Nie wykazano związku pomiędzy obecnością *Mycoplasma* a występowaniem problemów z płodnością, ropnym wypływem z pochwy czy zapaleniem pochwy. Co ciekawe, istotną statystycznie korelację między zaburzeniami płodności a obecnością mykoplazm wykazano u samców, u których pozyskano 84% pozytywnych próbek z napletka i 74% – z nasienia.

W badaniach Doig i wsp. (2) wyizolowano również drobnoustroje z gatunku *Ureaplasma* w 51% przypadków. Zaobserwowano ich częstszy udział przy problemach z płodnością – 58%, w tym przy ropnym wypływie – 75%, zapaleniu pochwy – 50%, dla suk klinicznie zdrowych odsetek wynosił 37%. *Ureaplasma* zawsze otrzymywano przy koegzystencji *Mycoplasma*. Przy interpretacji tych wyników należy uwzględnić specyficzną metodykę badań – wymazówkę wprowadzano bez waginokopu przez wargi sromowe do pochwy, co nie pozwala na dokładne rozróżnienie mikroflory pochwy właściwej od tej z przedsionka pochwy.

Mikroflora w stanach zapalnych pochwy u suk

W praktyce lekarsko-weterynaryjnej u suk stosunkowo często obserwuje się stany zapalne pochwy. Występują dwie formy *vaginitis*: młodzieńcze zapalenie

pochwy oraz zapalenie pochwy po osiągnięciu dojrzałości płciowej (30). Większość przypadków, ponad 70%, dotyczy suk niedojrzałych płciowo (17).

Gatunki bakterii chorobotwórczych izolowane od suk z zapaleniem pochwy nie różnią się istotnie składem jakościowym od występujących u suk zdrowych (11, 31, 32). Stwierdza się głównie: *E. coli*, *Streptococcus* spp. (*S. canis*, *S. intermedius*), *Staphylococcus intermedius*, *Pasteurella multocida*, *Proteus mirabilis* (11, 17). Te same patogeny najczęściej izolowano od suk z ropomaciczem (31).

Wielu autorów donosi, że w czasie trwania stanu zapalnego pochwy dochodzi do przerostu ilościowego fizjologicznej mikroflory (6, 11, 17, 31), czego nie udało się wykazać w badaniach własnych (16). Niektóre z patogenów, jak *E. coli* czy *Streptococcus* spp., mogą powodować poronienie czy komplikacje poporodowe (20). Proliferacja dotyczy głównie drobnoustrojów będących fizjologicznym komponentem flory jelitowej (6). Dane te sugerują istotną rolę sprawnego układu immunologicznego organizmu gospodarza oraz czynników pośrednich oddziałujących na organizm, jak stres, w zapobieganiu nadmiernemu namnożeniu się koegzystujących w pochwie bakterii (6).

Niemniej jednak obecność niektórych specyficznych patogenów może skutkować problemami z płodnością, w tym bezpłodnością czy chorobami na tle infekcyjnym (12), wczesną śmiercią zarodkową, resorpcją zarodków, poronieniami (33). Do bakterii wywołujących utratę ciąży u suk należą: *Brucella canis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Streptococcus* spp. (grupa G – *S. canis*), *Pasteurella multocida*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira* spp. (33, 34, 35, 36). Suki zakażone *B. canis* wydalają ten patogen m.in. w proestralnej wydzielinie z pochwy bądź z upławami (33). Upławy wywołane poronieniem mogą utrzymywać się przez długi czas i mają szarozieloną bądź brązową barwę (34). Z wymazów z pochwy można wyizolować także *C. jejuni* (5). Zakażenie *C. jejuni* przebiega z obfitym, bezwonny krwotocznym wypływem. Suki mogą chorować również bez objawów klinicznych choroby. Ten patogen występuje fizjologicznie w mikroflorze jelit, jednak nie definiuje się go jako składowej mikrobioty pochwy. Jego obecność sugeruje zakażenie dróg rodnych drogą wstępującą. Izolacja z wymazu z pochwy *C. jejuni* po poronieniu jest jedną z metod pozwalającą postawić pewną diagnozę (33, 37). β -hemolityczne *Streptococcus*, *Pasteurella multocida*, *E. coli* występują u suk zdrowych, ale mogą również wywoływać oportunistyczne zakażenia prowadzące do zaburzeń płodności, poronień czy wczesnej śmierci neonatalnej (11, 12, 13, 15, 17, 21, 33, 35, 38). Sama ich izolacja nie rozstrzyga przyczyny zaburzeń, a jest jednym z komponentów, który musi zostać poddany dalszej interpretacji wspólnie z pozostałymi informacjami na temat danego przypadku.

Reasumując, mikroflora pochwy suk zdrowych, jak i w stanach zapalnych, obejmuje najczęściej tę samą populację mikroorganizmów. Tylko niektóre patogeny można bezpośrednio uznać za patologiczne. Istotnym czynnikiem jest ilościowy przyrost jednej z populacji i zachwianie równowagi pomiędzy poszczególnymi składowymi mikrośrodowiska

pochwy. Ze względu na zmienność osobniczą w składzie jakościowym i ilościowym najtrafniejsze wnioski można wyciągnąć na podstawie analizy zmiany charakteru mikrobiologicznego u tej samej suki, w zależności od statusu zdrowotnego. Kolejnymi czynnikami kształtującymi środowisko pochwy są wiek suki (przed osiągnięciem dojrzałości płciowej lub po jej osiągnięciu) oraz faza cyklu rujowego. W badaniu suki kluczowe jest holistyczne zebranie wszystkich informacji z wywiadu, badania klinicznego oraz badań dodatkowych celem trafnej i pełnej interpretacji zgromadzonych danych. Przekłada się to bezpośrednio na rzetelną diagnozę, co jest punktem wyjścia dla celowanego leczenia czy profilaktyki oraz wpływa na bezpieczeństwo i zdrowie suki.

Mikroflora macicy u suk

Macica suk składa się z krótkiej szyjki i trzonu, od którego rozbieżnie odchodzą dwa, osiagające jajniki rogi. Kanał szyjki macicy otwiera się w kierunku doogonowym przez ujście maciczne zewnętrzne. Najbardziej doogonowa część szyjki, tzw. część pochwowa szyjki macicy wkracza do światła pochwy (39). Ma ona rurowaty kształt, a z ujścia macicy odchodzą bruzdki, nadające tej części wygląd rozety. Ujście szyjki macicy u suk jest stosunkowo wąskie, a jego średnica zależy od fazy cyklu rujowego – największa w ruifazie akceptacji płciowej i silnej estrogenizacji. Blok progesteronowy w trakcie ciąży powoduje, że ujście to jest zamknięte. Z powodu trudności kateteryzacji szyjki macicy, uwarunkowanych jej budową, rzadko wykonuje się badanie bakteriologiczne wymazu z macicy i w praktyce klinicznej, w celu zdiagnozowania chorób układu rozrodczego, lekarze najczęściej opierają się na badaniu bakteriologicznym wymazu z pochwy. Innym sposobem uzyskania próbek jest wprowadzenie endoskopu do macicy i uzyskanie wypłuczyn lub pobranie materiału w trakcie operacji cesarskiego cięcia (11).

Mikroflora macicy a faza cyklu rujowego

Przez wiele lat uważano, że w macicy zdrowej suki nie ma bakterii, jednak wyniki prowadzonych ostatnio badań wykazują ich obecność (17). Zwłaszcza w fazie *proestrus* i *oestrus* obecność bakterii w macicy jest częstym zjawiskiem. Wynika to z faktu, że w okresie przedrujowym wzrasta stężenie estrogenów, a ich działanie powoduje rozwarście szyjki macicy i migrację bakterii ze światła pochwy do macicy. W *dioestrus* u zdrowych suk zazwyczaj nie obserwuje się bakterii w macicy (17, 38). Istnieje jednak w tej kwestii pewna rozbieżność, ponieważ Maksimović i wsp. (15) podają, że najwięcej bakterii wyizolowano w *dioestrus*. W tej fazie występują warunki do rozwoju ropomacicza, a to sugeruje, że odporność macicy na działanie chorobotwórcze bakterii jest obniżona (15). Z kolei w trakcie trwania *proestrus* i *estrus* obserwuje się w endometrium wyższe stężenie laktoferyny – czynnika przeciwbakteryjnego. Bakterie beztlenowe oraz *Mycoplasma* spp. nie są zaliczane do fizjologicznej flory macicy suk (2, 40).

Korelacja pomiędzy mikrobiotą macicy i pochwy

Günzel-Apel i wsp. (38) podają, że zarówno w pochwie i macicy mikrobiota zdrowych suk jest podobna. Różni się ona jednak liczbą izolatów – mniejszą z macicy niż z pochwy (38). Jednak Maksimović i wsp. (15) oraz Watts i wsp. (24) wykazali w swych badaniach różnice w składzie jakościowym izolatów uzyskanych z macicy i pochwy. W badaniach Maksimović i wsp. (15) próbki z macicy zostały poddane inkubacji z dodatkiem bulionu zawierającego składniki odżywcze, które przyczyniły się do wzrostu i możliwości wyizolowania bakterii z macicy. Ponadto wykazano, że obecność bakterii w pochwie w liczbie potencjalnie wywołującej objawy chorobowe (tj. powyżej 10^4 jtk/próbkę) w fazie *proestrus* nie musi prowadzić do zaburzeń okresu ciąży i porodu. Wykazano również, że nie ma ścisłej zależności pomiędzy wystąpieniem flory bakteryjnej czystej lub mieszanej a zaawansowaniem procesu chorobowego (15).

Mikroflora fizjologiczna macicy oraz bakterie potencjalnie patogenne

Najczęściej izolowanymi bakteriami z jamy macicy są alfa- i β -hemolizujące bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Pasteurella multocida*, *E. coli* (β -hemolizujące), koagulozozujące *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus pseudointermedius*, *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Haemophilus* spp., *Corynebacterium* spp., *Streptococcus canis*, *Alcaligenes faecalis*, *Haemophilus* spp., *Bacteroides* spp. i *Proteus mirabilis*. Występują znaczące różnice w liczebności *S. pseudointermedius* i koagulozozujących *Staphylococcus* u suk udomowionych i dziko żyjących, co może być uwarunkowane ich odmiennym statusem immunologicznym (15). Badania Groppetti i wsp. (12) wykazały wieloantybiotykooporność (oporność na więcej niż cztery antybiotyki) takich bakterii, jak: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* β -hemolizujące, *Pasteurella multocida* oraz *Streptococcus* spp., co może sugerować ich większy potencjał chorobotwórczy. Wyizolowane bakterie atypowe z gatunku *Mycoplasma canis* mogą prowadzić do rozwoju ropnego *endometritis* w wyniku zakażenia drogą wewnątrzmaciczną (40). Jeśli chodzi o bakterie z rodzaju *Ureaplasma*, to ich obecność może być wykazana przy współwystępowaniu *Mycoplasma* (2). Suki z wynikiem dodatnim względem *Ureaplasma* nieco częściej wykazują tendencję do posiadania mieszanej flory *Mycoplasma* (*M. canis* – najczęściej izolowana, *M. maculosum*, *M. spumans*, *M. edwardii*, *M. cynos*, *M. molare*). Jednak samo ich wystąpienie nie świadczy jeszcze o zakażeniu, gdyż bakterie te izolowano zarówno z wymazów uzyskanych od suk zdrowych, jak chorych z ropnym wypływem z dróg rodnych i bezpłodnych. Zwłaszcza jeśli chodzi o *Ureaplasma*, nie wykazano w żadnych badaniach ich potencjału patogenicznego. Nie wyklucza to jednak ich roli jako czynnika sprzyjającego bezpłodności (2). Możliwą chorobotwórczość sugerują badania na krowach, w których potwierdzono udział *Ureaplasma* jako jednej z przyczyn bezpłodności (41, 42),

a eksperymentalnie wykazano, że wywołuje ona również zapalenie sromu i *endometritis* u tego gatunku (43).

Stany chorobowe macicy – wpływ czynników bakteryjnych i hormonalnych

Etiopatogeneza stanów chorobowych macicy nie jest do końca znana, ale uważa się, że na ich powstawanie mają wpływ zarówno czynniki zakaźne, jak hormonalne (17). Pojawienie się w preparacie cytologicznym wymazu z pochwy komórek błony śluzowej macicy świadczy o lokalizacji stanu chorobowego w macicy. Jedną z najpoważniejszych jednostek chorobowych, stanowiących zagrożenie życia zwierzęcia, jest zespół rozrost torbielowaty błony śluzowej macicy – ropomacicze. Jest to schorzenie stosunkowo często występujące u niesterylizowanych suk (>50%) przed 10. rokiem życia (23). Jednak diagnozowano również przypadki wystąpienia tej jednostki chorobowej w przedziale wiekowym od 4 miesiąca do 18 roku życia, ze średnią wieku 6–8 lat (23, 44, 45). Choroba zazwyczaj diagnozowana jest w fazie *dioestrus*. Charakteryzuje się ona bakteryjnym zakażeniem macicy połączonym z nagromadzeniem się w niej ropy, czasem wypływem ropnym (jeśli szyjka macicy jest otwarta) oraz objawami ogólnoustrojowymi, jak: odwodnienie, poli-dypsja, poliuria, apatia, tkliwość w obrębie brzucha, spadek masy ciała, wymioty, biegunka, gorączka lub hipotermia, przyspieszona akcja serca i oddechu (46). Częstym i poważnym powikłaniem ropomacicza jest endotoksemia lub sepsa. Choroba wymaga natychmiastowej interwencji, a najskuteczniejszą metodą leczenia jest owariohisterektomia (47, 48). Zwiększone ryzyko rozwoju ropomacicza może mieć związek z podawaniem preparatów hormonalnych zawierających estrogeny i progesterageny (45). W ogólnym pojęciu zaburzenie to i jego następstwa wynikają z interakcji pomiędzy zachwianiem równowagi hormonalnej i składem jakościowym oraz ilościowym mikrobioty dróg rodnych. Nadmierna lub długotrwała stymulacja estrogenowa lub progesteronowa, naturalna albo farmakologiczna, indukuje zmiany w endometrium (49).

Wyróżnia się cztery jednostki chorobowe, w których przebiegu dochodzi do zmian hiperplastycznych. Są to: wspomniany już zespół rozrost torbielowaty – ropomacicze, rozrost endometrium związany z ciążą urojoną, hiperplazja indukowana estrogenami i polipy endometrium (50). Inne stany patologiczne, takie jak śluzomacicze (*mucometra*), są uważane za czynniki predysponujące do wystąpienia ropomacicza. Ponadto u suk występuje wyjątkowo wysokie progesterono-zależne wytwarzanie IGF-1 (insulinopodobnego czynnika wzrostu-1), który ma silny wpływ mitogeny na macicę (44). Ważnym czynnikiem są również bakterie stanowiące często fizjologiczną mikroflorę pochwy, głównie jej sklepienia, które w trakcie fazy progesteronowej zasiedlają macicę. Statystycznie najczęściej izolowaną bakterią w przebiegu ropomacicza (powyżej 70% przypadków) jest pałeczka *E. coli* (47). Na zaostrzenie procesu w obrębie macicy mają również wpływ czynniki wirulencji wysoce patogenicznych szczepów pałeczki okrężnicy, które m. in. zapewniają zdolność adherencji bakterii

Tabela 1. Procentowy udział bakterii w pochwie zdrowych suk według różnych autorów

Mikroorganizm	Grünzel-Apel i wsp. (20)	Groppetti i wsp. (19)	Hutchins i wsp. (27)	Maksimović i wsp. (37)
<i>Streptococcus</i> β -hemolizujące	20,9	20,6	26	20
• <i>S. canis</i>	11,9			
<i>Streptococcus</i> α -hemolizujące				12,5
<i>Streptococcus</i> niehemolizujące	1,8	2,9		12,5
<i>Enterococcus</i> spp.	2,7		17,4	2,5
• <i>Enterococcus faecalis</i>		23,5		
<i>E. coli</i>			13	25
• hemolizujące	13,6	2,9		
• niehemolizujące	13,6			
<i>Staphylococcus</i>			2,9	32,5
• <i>S. intermedius</i>	10,9			
• <i>S. pseudointermedius</i>				5
• <i>S. aureus</i>				2,5
<i>Pasteurella</i> spp.				7,5
• <i>P. multocida</i>	15,5	8,8		
• <i>P. canis</i>			4,3	
<i>Proteus</i> spp.				15
• <i>P. mirabilis</i>		2,9	4,3	
<i>Corynebacterium</i> spp.				10
<i>Bacillus</i> spp.			8,7	
<i>Enterobacter</i> spp.			8,7	
<i>Actinomyces</i> spp.	7,3			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			8,7	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		2,9		
<i>Neisseria</i> spp.				2,5

do swoistych receptorów endometrium i endotoksyny wywołujące objawy ogólnoustrojowe (48, 51). Mimo, że komponent bakteryjny nie jest bezpośrednią przyczyną powstania choroby, to stanowi istotny czynnik zachorowalności i śmiertelności. Jednak należy mieć na uwadze fakt, że zaobserwowano przypadki, w którym zawartość macicy w przebiegu procesu chorobowego była jałowa (4).

O potencjalnym chorobotwórczym działaniu *E. coli* świadczą również badania Groppetti i wsp. (12). Wyizolowali oni pałeczkę okrężnicy o właściwościach hemolitycznych od 25 ciężarnych suk wykazujących objawy dysfunkcji w obrębie macicy, takich jak: zapalenie macicy, resorpcje płodów lub ronienia (jednak bez istotności statystycznej). Co ciekawe wykazali oni również obecność w *proestrus* bakterii *Streptococcus*, które nie były skorelowane z rozwojem zakażenia macicy. W związku z tym można podejrzewać, że bakterie z rodzaju *Streptococcus* mogą pełnić rolę ochronną w stosunku do bardziej niebezpiecznych patogenów przyczyniających się do zaburzeń płodności (12).

Probiotyki

Probiotyki zgodnie z definicją WHO są żywymi mikroorganizmami, które podane w odpowiedniej ilości wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza (Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.

London, Ontario, Canada, 2002). Do bakterii probiotycznych należą m.in. bakterie fermentacji mlekowej (lactic acid bacteria, LAB). Bakterie fermentacji mlekowej obejmują bakterie z trzech rzędów: Lactobacillales, Bacillales i Bifidobacteriales (27). Potencjał antybakteryjny grupa LAB zawdzięcza produkcji kwasu mlekowego, co skutkuje zakwaszeniem środowiska, a także tworzeniu bakteriocyn oraz nadtlenu wodoru (13, 27). Skuteczny probiotyk powinien cechować się adhezją do komórek nabłonkowych, mieć potencjał zasiedlenia gospodarza, zakłócać kolonizację przez patogeny, a sam nie powinien mieć patogennego potencjału. Szczepy te powinny być odporne na działanie soku żołądkowego oraz soli żółciowych (26, 27, 52, 53).

Do tworzenia preparatów probiotycznych szczególnie często są używane bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, gdyż podobnie jak szczepy z rodzaju *Bifidobacterium*, posiadają status bakterii GRAS (ang. generally recognized as safe – uważane za bezpieczne). Oznacza to, że są bezpieczne przy odpowiednim stosowaniu (54, 27). Bakterie z rodzaju *Enterococcus* spp. ustępują wyżej wymienionym ze względu na możliwy potencjał chorobotwórczy.

W badaniach prowadzonych u kobiet wykazano, że bakterie LAB mają właściwości antagonistyczne względem bakterii chorobotwórczych i regulują mikroflorę dróg moczowo-płciowych. Fakt, że szczepy z rodzaju *Lactobacillus* spp. stanowią fizjologiczny komponent flory bakteryjnej dróg rodnych kobiet,

która sprzyja utrzymaniu równowagi w mikroflorze, ukierunkował nurt badań u suk poświęcony próbie izolacji bakterii probiotycznych.

Prekursorami w badaniach nad obecnością bakterii probiotycznych w drogach rodnych zdrowych, niekrytych suk byli Delucchi i wsp. (26), którzy wykazali obecność bakterii LAB w pochwie, a *Lactobacillus* spp. wyizolowali z 59% przypadków (na 42 badane suki). Wyizolowane bakterie należały do gatunków: *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus plantarum* oraz *Enterococcus canintestini* (26). W warunkach *in vitro* wyizolowane szczepy hamowały wzrost patogennych bakterii, między innymi *E. coli*, *Proteus mirabilis* i *Staphylococcus aureus*. Wyniki te sugerowały, że LAB mogą pełnić korzystną, ochronną rolę w zakażeniach dróg moczowo-płciowych (26). Hutchins i wsp. (13) z kolei przeprowadzili badania nad skutecznością kolonizacji pochwy przez probiotyczną mikrobiotę (w zapobieganiu nawracającym zakażeniom dróg moczowych). Wykorzystano do tego celu komercyjne probiotyczne suplementy. Potwierdzono ich przynależność do rodzajów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Bacillus*. Przed podaniem preparatów pobrano próbki od 35 suk (powyżej szóstego roku życia, sterylizowanych) z górnego sklepienia pochwy w celu ich mikrobiologicznej oceny. Następnie probiotyki podawano doustnie w połączeniu z drożdżami, enzymami, witaminami i prebiotykami eksperymentalnej grupie suk. Oceniano skuteczność działania probiotyków na mikroflorę pochwy po 14 i 28 dniach codziennego stosowania. Dobę po zakończeniu podawania suplementów pobrano wymazy z użyciem waginokopu. Po inkubacji na odpowiednich podłożach wykazano obecność LAB u ośmiu zwierząt (22,9%), z czego u siedmiu LAB były obecne przed suplementacją. U jednej suki nie wykazano obecności bakterii probiotycznych przed przystąpieniem do eksperymentu, a po jego zakończeniu wyizolowano z jej pochwy *Enterococcus canintestini*, który nie stanowił komponentu probiotyku. Od pozostałych siedmiu suk wyizolowano: *E. canintestini*, *E. avium*, *L. pentosus* lub *L. plantarum*. Opisane badania dowodzą tego, że LAB mogą stanowić komponent mikroflory pochwy, ale nie wykazano ich wysokiej adherencji do nabłonka pochwy suk. Jako najliczniej występujące bakterie należy uwzględnić tu rodzaje *Lactobacillus* i *Enterococcus* (18, 26). Wiadome jest, że *L. gasseri*, *L. brevis* i *L. acidophilus* stanowią grupę probiotyków o dużym stopniu adherencji do komórek nabłonka pochwy u kobiet (19, 55). Jednak nie mają one tak skutecznych właściwości u suk. Jednak możliwe jest, że częściej izolowane z pochwy suk LAB, jak *Enterococcus canintestini* mogą dawać lepszy efekt kolonizacji i adherencji, co wymaga potwierdzenia w toku kolejnych badań (18).

Bakterie z gatunków *L. plantarum*, *L. murinus* oraz *E. canintestini* stanowią komponent mikroflory jelit u suk. Wykazanie ich obecności w pochwie może sugerować występowanie zjawiska transferu mikroflory z jelit do pochwy, co zostało już opisane u innych gatunków (26, 56).

Badania Kainulainen i wsp. (52) nad szczepem *Lactobacillus acidophilus* pozyskanym z jelita czczego psów wykazały jego potencjał probiotyczny. Udowodniono

w warunkach *in vitro* działanie przeciwzapalne *L. acidophilus* przez jego wpływ na sekrecję IL-8 w odpowiedzi na stymulację przez LPS bakterii Gram-ujemnych oraz rolę w tworzeniu bariery transepitelialnej jelita. Dodatkowo badania wykazały efektywną i długotrwałą adhezję *L. acidophilus* nabłonka przewodu pokarmowego (52). W badaniach własnych prowadzonych na grupie 39 suk wyizolowano z jamy ustnej 12 szczepów o właściwościach probiotycznych: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. paracasei*, *L. crispatus*, *L. brevis*, *Lactococcus raffinolactis* oraz *Leuconostoc lactis* i wykazano ich potencjalne działanie antagonistyczne względem typowych bakterii izolowanych od suk z objawami zapalenia pochwy. Najsilniejsze działanie przeciwbakteryjne stwierdzono u gatunków *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum* i *Lactococcus raffinolactis*. Ponadto potwierdzono oporność probiotyków na działanie kwasu żołądkowego i zbadano ich zdolność adherencji do linii komórkowej Caco-2 (16).

Warto również nadmienić, że antybiotykoterapia stosowana w chorobach dróg rodnych suk nie zawsze przynosi oczekiwane efekty. Niepowodzenia w leczeniu wynikają często z wieloantybiotykooporności patogennych bakterii. Niepokojący jest fakt, że skuteczność powszechnie stosowanych antybiotyków w praktyce lekarsko-weterynaryjnej, jak amoksylicyna z kwasem klawulanowym, klindamycyna, linkomycyna, tetracykliny, cefotaksym jest niezadowolająca (12). John i wsp. (14) wykazali, że największą skuteczność wobec typowych chorobotwórczych bakterii wykazuje ofloksacyna i gentamycyna, ponieważ 83,22% patogennych szczepów było wrażliwych na te leki. Pomimo celowanej antybiotykoterapii nadal pozostaje jednak wysoki odsetek przypadków, w których leczenie nie jest skuteczne.

Podsumowanie

Niniejszy artykuł miał na celu przedstawienie wyników badań dotyczących mikroflory dróg rodnych u suk, zależności jej składu od fazy cyklu i lokalizacji, a także opisanie chorób dróg rodnych o podłożu bakteryjnym oraz roli bakterii probiotycznych w układzie rozrodczym suk. Badania własne oraz innych autorów zwracają uwagę na ważny aspekt, jakim jest antybiotykoterapia celowana. Zebrane w powyższej publikacji dane potwierdzają wagę szczegółowego wywiad i badania klinicznego uwzględniającego określenie fazy cyklu rujowego, opisanie wcześniejszych kryć i sposobu dotychczasowego leczenia.

Piśmiennictwo

1. Concannon P.W.: Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim. Reprod. Sci.* 2011, 124, 200–210.
2. 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.* 1981, 45, 233–238.
3. Adesokan H.K., Oluwatoyin O.A.: Vaginal Bacterial Flora and its Antibigram in Bitches with Vaginitis in Ibadan. *Glob. Vet.* 2011, 6, 316–319.
4. Bigliardi E., Parmigiani E., Cavirani S., Luppi A., Bonati L., Corradi A.: Ultrasonography and Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. *Reprod. Dom. Animals.* 2004, 39, 136–140.
5. Bulgin M.S., Ward A.C., Sriranganathan N.A., Saras P.: Abortion in the dog due to *Campylobacter* species. *Am. J. Vet. Res.* 1984, 45, 555–556.

6. Duijkeren E. van: Significance of the bacterial flora in the bitch, a review. *Vet. Rec.* 1992, **131**, 367–369.
7. Krysiak K., Świeżyński K.: *Anatomia zwierząt. Narządy wewnętrzne i układ krążenia*. t. 2, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004, s. 383–385, s. 395.
8. Mikołajewska N., Stańczyk E., Nojszewski R.: Badanie cytologiczne i bakteriologiczne pochwy suk, czyli nie taki mikroskop straszny. *Mag. Wet.* 2015, **24(5)**, 387–393.
9. Niżański W., Dzimira S., Twardoń J.: *Cytodiagnostyka w rozrodzie suk*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2003, s. 13–14, s. 17–19.
10. Reddy K.C.S., Raju K.G.S., Rao K.S., Rao K.B.R.: Vaginal cytology, vaginocopy and progesterone profile: breeding tools in bitches. *Iraqi J. Vet. Sci.* 2011, **25(2)**, 51–54.
11. Kustritz M.V.R.: Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology* 2006, **66**, 568.
12. Groppetti D., Pecile A., Barbero C., Martino P.A.: Vaginal bacterial flora and cytology in proestrus bitches: Role on fertility. *Theriogenology* 2012, **77**, 1549–1556.
13. Hutchins R.G., Vaden S.L., Jacob M.E., Harris T.L., Bowles K.D., Wood M.W., Bailey C.S.: Vaginal Microbiota of Spayed Dogs with or without Recurrent Urinary Tract Infections. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**, 300–304.
14. John A., Nair D.R., Sreejith J.R., Deepthi L., Praseeda, R., Ajitkumar G.: Vaginal Microflora and its Antibigram in Infertile Bitches. *Kerala Agricultural Uni.* 2011, **6**, 40–44.
15. Maksimović A., Maksimović Z., Filipović S., Besirović H., Rifatbegović M.: Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. *Vet. Rec.* 2012, **171**, 375.
16. Golińska E., Strus M., Sowińska N., Witka N., Szydło M., Lenarczyk J.: The vaginal microbial community in various stages of the estrous cycle of healthy female dogs and the one with genital tract infections. *XXth EVSSAR Congress*. Vienna, Austria, 29 June – 1 July 2017, s. 126.
17. Zduńczyk S., Janowski T., Borkowska I.: Flora bakteryjna pochwy i macicy suk w stanach fizjologicznych i zapalnych. *Med. Weter.* 2006, **62**, 1116–1119.
18. Hutchins R.G., Bailey C.S., Jacob M.E., Harris T.L., Wood M.W., Saker K.E., Vaden S.L.: The Effect of an Oral Probiotic Containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Bacillus* Species on the Vaginal Microbiota of Spayed Female Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2013, **27**, 1368–137.
19. Mastromarino P., Macchia S., Meggiorini L.: Effectiveness of *Lactobacillus*-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009, **15**, 67–74.
20. Laurusevičius S.A., Šiugždaitė J., Žilinskas H.: Correlation between different sexual cycle stages and vaginal bacterial flora in bitches of different breeds. *Vet. ir Zootech.* 2008, **41**, 76–79.
21. 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.
22. Baba E., Hata H., Fukata T., Arakawa A.: Vaginal and Uterine Microflora of Adult Dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1983, **44**, 606–609.
23. Egenvall A., Hagman R., Bonnett B.N., Hedhammar A., Olson P., Lagerstedt A.S.: Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **15**, 530–538.
24. Watts J.R., Wright P.J., Whithear K.C.: Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J. Small. Anim. Pract.* 1996, **37**, 54–60.
25. Olson P.N., Mather E.C.: Canine vaginal and uterine bacterial flora, *Jour. of the American Vet. Med. Association* 1978, **172**, 708–711.
26. Delucchi L., Fraga M., Perelmutter K., Cidade E., Zunino P.: Vaginal lactic acid bacteria in healthy and ill bitches and evaluation of in vitro probiotic activity of selected isolates. *Can. Vet. J.* 2008, **49**, 991–994.
27. Jurkowski M., Błaszczuk M.: Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii fermentacji mlekowej. *Kosmos* 2012, **61**, 493–504.
28. Gajewska J., Błaszczuk M.K.: Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej (LAB). *Post. Mikrobiol.* 2012, **51**, 55–65.
29. Giraud E., Lelong B., Raimbault M.: Influence of pH and initial lactate concentration on the growth of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1991, **36**, 96–99.
30. Root Kustritz M.V.: Vaginitis in dogs: A simple approach to a complex condition. *Vet. Med.* 2008, **103**, 562–567.
31. Bjurström L.: Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. *Acta Vet. Scand.* 1993, **34**, 29–34.
32. 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.
33. Pretzer S.D.: Bacterial and protozoal causes of pregnancy loss in the bitch and queen. *Theriogenology* 2008, **70**, 320–326.
34. Wanke, M.M.: Canine brucellosis. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, **82**, 195–207.
35. Shambulingappa B.E., Ananda Manegar G., Ananda K.J.: Study on Aerobic Bacterial flora in Canine abortions. *Vet. World.* 2010, **3**, 111–112.
36. Winter L.M. de, Low D.A., Prescott, J.F.: Virulence of *Streptococcus canis* from canine streptococcal toxic shock syndrome and necrotizing fasciitis. *Vet. Microbiol.* 1999, **70**, 95–110.
37. Sahin O., Burroughs E.R., Pavlovic N., Frana T.S., Madson D.M., Zhang Q.: *Campylobacter jejuni* as a cause of canine abortions in the United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2014, **26**, 699–704.
38. Günzel-Apel A.R., Lübke A., Rohde J.: Vergleichende Untersuchung der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Sexualzyklus und Puerperium von Beaglehündinnen. *Tierärztl. Praxis.* 1999, **27**, 112–119.
39. König H.E., Liebich H.G., Maierl J., Mülling C., Probst A., Reese S., Ruberte J.: *Anatomia zwierząt domowych*, Wydawnictwo Galaktyka. Łódź 2012, s. 478–480.
40. Holzmann A., Laber G., Walz H.: Experimentally induced mycoplasma infection in the genital tract of the female dog. *Theriogenology* 1979, **12**, 355–370.
41. Doig P.A., Ruhnke H.L., MacKay A.L., Palmer N.C.: Bovine granular vulvitis associated with ureaplasma infection. *Can. Vet. J.* 1979, **20**, 89–94.
42. Ruhnke H.L., Doig P.A., MacKay A.L., Gagnon A., Kierstead M.: Isolation of *Ureaplasma* from bovine granular vulvitis. *Can. J. Comp. Med.* 1978, **42**, 151–155.
43. Doig P.A., Ruhnke H.L., Palmer N.C.: Experimental bovine genital ureaplasmosis I. Granular vulvitis, endometritis and salpingitis following uterine inoculation. *Can. J. Comp. Med.* 1980, **44**, 252–258.
44. Cock H. de, Ducatelle R., Tilmant K., De Schepper J.: Possible role for insulin-like factor-1 in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 2002, **57**, 2271–2287.
45. Niskanen M., Thrusfield M.V.: Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Vet. Rec.* 1998, **143**, 493–498.
46. Fransson B.A.: Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra. *Acta. Univ. Agric. Sueciae-Vet.* 2003, **161**, 48.
47. Hagman R.: Clinical and Molecular Characteristics of Pyometra in Female Dogs. *Reprod. Dom. Animals* 2012, **47**, 323–325.
48. Hagman R., Kindahl H., Fransson B.A., Bergström A., Ström-Holst B., Lagerstedt A.S.: Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2alpha metabolite analysis. *Theriogenology* 2006, **66**, 198–206.
49. Hardy R.M., Osborne C.A.: Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesion. *J. Am. Anim. Hosp. Ass.* 1994, **10**, 245–268.
50. McEntee K.: *Reproductive Pathology of Domestic Mammals*. San Diego Academic Press. 1990, 171–176.
51. Krekeler N., Marena M.S., Browning G.F., Holden K.F., Charles J.A., Wright P.J.: Uropathogenic virulence factor FimH facilitates binding of uropathogenic *Escherichia coli* to canine endometrium. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2012, **35**, 461–467.
52. Kainulainen V., Tang Y., Spillmann T., Kilpinen S., Reunanen J., Saris P.E., Satokari R.: The canine isolate *Lactobacillus acidophilus* LAB20 adheres to intestinal epithelium and attenuates LPS-induced IL-8 secretion of enterocytes in vitro. *BMC Microbiology* 2015, **15**, 4.
53. Reid G.: The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl. Environ Microbiol.* 1999, **65(9)**, 3763–3766.
54. Fuller R.: Handbook of probiotics. *Int. J. Food. Sci. Tech.* 2001, **36**, 224–224.
55. McLean N.W., Rosenstein I.J.: Characterisation and selection of a *Lactobacillus* species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. *J. Med. Microbiol.* 2000, **49**, 543–552.
56. Morelli L., Zonenenschain D., Del Piano M., Cognein P.: Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J. Clin. Gastroenterol.* 2004, **38**, 107–110.

Dr Natalia Mikołajewska-Sowińska,
e-mail: nmikolajewska@gmail.com