

EINSATZ DER PAPANICOLAOU-F RBEMETHODE ZUR VAGINALZYTologischen UNTERSUCHUNG BEI DER HÜNDIN

Selim ASLAN*
Ayhan BAŞTAN****

Nil ERÜNAL**

Çetin KILIÇOĞLU***
Mustafa KAYMAZ****

Murat FINDIK**
Serdar TOPAÇOĞLU*****

Papanicolaou boyama yönteminin dişi köpeklerde vaginal sitolojik kontrol amacıyla kullanılması

Özet: Toplam 83 dişi köpekten vaginal froti hazırlanmış, seksüel siklus dönemleri ve vaginal mukoza epitellerindeki değişiklikler ortaya konmuştur.

Frotiler papanicolaou yöntemine göre boyanmış ve bu frotilerde vaginal epiteldeki hücre değişiklikleri incelenmiştir. Boyanmış frotilerin incelenmeleri, 14 dişi köpeğin erken proöstrus (%16,8), 5'inin proöstrus (%6,1), 3'ünün geç proöstrus (%3,6), 4'ünün erken östrus (%4,9), 7'sinin östrus (%8,5), 3'ünün geç östrus (%3,6), 10'unun erken metaöstrus (%12,0), 29'unun geç metaöstrus (%34,9) ve 8'inin anöstrusta (%9,6) olduğunu göstermiştir.

Uygulanan Papanicolaou boyama yöntemi ile, hücre çekirdeklerinin tam anlamıyla görülebildiği asidofili indeksi nedeniyle (keratinize süperfisyal hücreler kırmızı, diğer hücreler mavi) vaginal sitolojik tablonun daha iyi bir şekilde yorumlanabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca hücrelerin çeper ve sitoplazmaları bu boyama yöntemiyle mikroskop altında çok iyi bir şekilde izlenebilmiştir.

Keratinize süperfisyal hücrelerin ilk görülüşü proöstrus (%13,3) döneminde olmuş, geç proöstrusta bu hücrelerin oranı %16,5'a yükselmiştir. Keratinize süperfisyal hücrelerin aşamalı artışı erken östrusta da sürmüştür, östrusta (%80,9) en yüksek orana ulaşmıştır. Asidofili indeksi'nin keratinize süperfisyal hücrelere paralel arttığı saptanmıştır. En yüksek asidofiliye (kırmızı boyanan hücreler) %93,2 oranı ile östrus döneminde rastlanmıştır.

Dişi köpekler (n=7), vaginal frotide keratinize süperfisyal hücreler (%80,9) ve asidofili (%93,2) en yüksek orana ulaştıktan sonra 24-48 saat erkek köpeklerle bir arada tutulmuş yani çiftleştirilmiştir. 25 gün sonra yapılan ultrasonografik bakılar, 5 dişi köpeğin gebe kaldığını göstermiştir. Bir dişi köpek östrus sırasında 6 aylık olduğundan çiftleştirilmemiş, bir dişi köpeğinde gebe olmadığı saptanmıştır.

Proöstrusta çok fazla sayıda eritrosit saptanabilmiştir. Daha ileriki kontrollerde, yani geç proöstrusta eritrositler azalmıştır. İncelemeler östrusta çok az veya hiç eritrosit bulunmadığını göstermiştir.

Metaöstrustaki mikroskopik bakılar şu tabloyu göstermektedir: Keratinize süperfisyal hücrelerde azalma (%11,6), bazal ve parabazal hücrelerde artma (%26,2). Metaöstrus dönemine geçiş vaginal frotide nötrofil granülositlerin görülmesi ve daha sonra hızla artmasıyla karakterizedir.

***Prof. Dr. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Ankara, Klinik für Geburtshilfe und Fortpflanzungsstörungen, Ankara.

*Doz. Dr. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Ankara, Klinik für Geburtshilfe und Fortpflanzungsstörungen, Ankara.

**** Dr. Wiss. Assistent. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Ankara, Klinik für Geburtshilfe und Fortpflanzungsstörungen, Ankara.

** Wiss. Assistent. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Ankara, Klinik für Geburtshilfe und Fortpflanzungsstörungen, Ankara.

***** Tzt. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Ankara, Klinik für Geburtshilfe und Fortpflanzungsstörungen, Ankara.

Anöstrusta boyanan preparattaki tablo neredeyse yalnızca bazal ve parabazal hücrelerden oluşmaktadır (%84,7).

Bu araştırma vaginal sitolojik tablonun dişi köpeklerde incelenmesiyle; siklus tanısı, sakin kızgınlığın saptanması ve genital organlardaki patolojik değişikliklerin ortaya konmasının (lökositlerin aşırı artması, sitoplazmasız çıplak çekirdekler, sitoplazmada bakteriler, kirli sekret izleri) olanaklı olduğunu göstermiştir.

Zusammenfassung: *Bei insgesamt 83 Hündinnen wurden Scheidenabstriche entnommen und die Beziehung zwischen dem Zyklusablauf der Hündin und den Veränderungen in den Epithelien der Vaginalschleimhaut dargestellt.*

Die Abstrichpräparate wurden mittels der Färbemethode nach Papanicolaou angefertigt und die Zellentwicklung des Vaginalepithels untersucht. Die Untersuchungen der gefärbten Abstriche zeigten, daß 14 Hündinnen im frühen Proöstrus (16,8%), 5 im Proöstrus (6,1%), 3 im späten Proöstrus (3,6%), 4 im frühen Östrus (4,9%), 7 im Östrus (8,5%), 3 im späten Östrus (3,6%), 10 im frühen Metöstrus (12,0%), 29 im späten Metöstrus (34,9%) und 8 im Anöstrus (9,6%) waren.

Bei der durchgeführten Papanicolaoufärbung stellte sich heraus, daß die Zelkerne deutlich erkennbar waren, und aufgrund des Azidophilieindex (verhornte Zellen rot, alle anderen Zellen blau) das vaginalzytologische Bild deutlicher interpretiert werden konnte. Außerdem, wurden die zellränder und das Zytoplasma mittels dieser Färbemethode unter dem Mikroskop sehr gut beobachtbar.

Das erste Auftreten verhornter Superfizialzellen war im Proöstrus (13,3%) zu verzeichnen, im späten Proöstrus stieg der Anteil dieser Zellen auf 16,5% an. Der kontinuierliche Anstieg der verhornten Superfizialzellen dauerte auch im frühen Östrus an und erreichte im Östrus (80,9%) den höchsten Prozentsatz. Es zeigte sich, daß der Azidophilieindex parallel zum Anstieg der verhornten Superfizialzellen verlief. Es wurde die höchste Azidophilie (rot gefärbte Zellen) mit 93,2 % im Östrus festgestellt.

Die Hündinnen (n=7) wurden 24 bis 48 Stunden nachdem im Vaginalabstrich der höchste Prozentsatz an verhornten Superfizialzellen (80,9%) und Azidophilie (93,2%) gefunden worden war, mit den Rüden zusammengebracht bzw. gedeckt. Die 25 Tage später durchgeführten Ultraschalluntersuchungen zeigten, daß 5 Hündinnen trächtig waren. Weil eine Hündin während des Östrus 6 Monate alt war, wurde sie nicht mit dem Rüden zusammengebracht bzw. gedeckt. Eine Hündin war nicht trächtig.

Im Proöstrus konnten massenhaft Erythrozyten festgestellt werden. Bei weiteren Untersuchungen, d.h. im späten Proöstrus nahmen die Erythrozyten ab. Die Untersuchungen zeigten, daß im Östrus wenige bis keine Erythrozyten gefunden werden konnten.

Die mikroskopische Untersuchung im Metöstrus ergab folgendes Bild: Abfall verhornter Superfizialzellen (11,6%) und Anstieg der Basal-Parabasalzellen (26,2%). Der Übergang zur Metöstrusphase zeichnete sich mit im Vaginalabstrich auftretenden und später rasch zunehmenden neutrophilen Granulozyten ab. Im Anöstrus bestand das Bild des gefärbten Präperates fast nur aus Basal- und Parabasalzellen (84, 7%).

Diese Untersuchung zeigte, daß mittels Untersuchung des vaginalzytologischen Bildes bei der Hündin Zyklusdiagnostik, Feststellung des stillen Östrus und pathologische Veränderungen der Genitalien (erhöhte Anzahl der Leukozyten, viele nackte Zelkerne ohne Zytoplasma, Bakterien im Zytoplasmabereich, schmutzige Sekretpuren) möglich sind.

Einleitung

Die Zyklusbestimmung bei der Hündin setzt eine sorgfältige Untersuchung voraus. Die vaginalzytologische Untersuchung bei der Hündin beruht auf hormonell gesteuerten Um- und Abbauvorgängen des Vaginalepithels. Sie gilt als geeignetes Verfahren für die Optimierung von Paarungs- bzw. Besamungszeitpunkt und Diagnostik von gynäkologischen Störungen.

Obwohl zur Differenzierung der Zellarten im Vaginalabstrich mehrere Färbemethoden entwickelt wurden wird der Papanicolaoufärbung wegen der deutlichen Zellkerne-, Zytoplasma- und Zellendarstellung in der zytologischen Diagnostik eine besondere Stellung beigemessen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den prozentuellen Anteil der Epithelzellen anhand der Vaginalzytologie der Hündin während verschiedener Zyklusphasen exakt festzustellen und besonders die Papanicolaoufärbung hinsichtlich Aufwand und Interpretierbarkeit zu testen.

Material und Methode

Die Feststellung des Sexualzyklus und der Deckzeitbestimmung anhand der Vaginalzytologie wurde bei insgesamt 83 Hündinnen (13 Bastard, 15 Pudel, 15 Terrier, 8 Anatolischer Hirtenhund, 6 Englischer Cocker Spaniel, 5 Boxer, 4 Deutscher Schäferhund, 4 Lhasa Apso, 4 Dobermann, 3 Französische Bulldogge, 3 Irish Setter, 1 Bassett Hound, 1 Samojede, 1 Schwarze Dogge) an der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie durchgeführt. Der Versuch dauerte zwei Jahre. Das Alter der Hündinnen schwankte zwischen 6 Monate und 9 Jahre. Das durchschnittliche Alter der Hündinnen war 2,7 Jahre.

Nach der Anamnese, der abdominalen Palpation, der vaginoskopischen- und ultrasonographischen Untersuchung wurde der Vaginalabstrich vorbereitet und alle erhobenen Ergebnisse registriert. Für die Bestätigung der ersten Befunde und zur Beobachtung des Sexualzyklusverlaufes wurden je nach Zyklusstadium in verschiedenen Abständen zwei- bis fünf Mal Abstrichpräparate angefertigt und ausgewertet. Bei Hündinnen, die zur Bedeckung standen, wurden die Abstrichpräparate sofort nach Beginn der Läufigkeit und dann in 2-tägigen Abständen entnommen.

Die Entnahme der Proben erfolgte mit einer Drahtöse. Die Zuhilfenahme eines Rohr- oder Spreizspekulums ermöglichte die Proben-

nahme aus dem Bereich der dorsalen Vaginalschleimhaut und ohne Kontamination mit Zellen aus dem Vestibulum. Das entnommene Zellmaterial wurde durch von innen nach außen sich vergrößernde kreisförmige Bewegungen auf einen Objektträger aufgebracht und anschließend luftgetrocknet.

Die Färbung der Vaginalabstriche wurde nach der von Papanicolaou (17) entwickelten und an der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie u. Andrologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien modifizierten Methode wie folgt durchgeführt:

1) Fixierung des Abstrichs auf dem Objektträger durch Einlegen in eine Mischung von 95% Alkohol und Thier (Verhältnis 1/1). Dauer 20 Minuten;

2) Ein paar Mal Eintauchen in die absteigende Alkoholreihe 80%, 70%, 50% und danach Wiedereintauchen des Präparates in Aqua dest;

3) Die Kernfärbung mit Haematoxylin-Lösung (Papanicolaou 1a, Fa. Merck) 8 Minuten;

4) Abspülen in zwei mit Aqua dest. gefüllten Küvetten oder Schalen;

5) Bläuen in einer Mischung aus 0,9% iger Amoniaklösung (3 ml) und 70% igem Alkohol (97 ml) für 8 Minuten;

6) Eintauchen in die aufsteigende Alkoholreihe (70%, 80%, 96%) und danach 6 Minuten lang Färbung in Lösung Orange-G (Papanicolaou 2a, Fa. Merck);

7) Abspülen in zwei Gefäßen mit 96% igem Alkohol und 6 Minuten Färbung in Lösung Polychrom EA 50 (Papanicolaou 2a, Fa. Merck);

8) Abspülen in zwei Gefäßen mit 86% igem Alkohol;

9) Eintauchen im absoluten Alkohol und Xylol.

Nachdem das angefertigte Präparat trocken war, wurde es mit Kanada-Balsam (Eukit) eingedeckt und 15 Minuten später untersucht.

Die Untersuchung des Präparates erfolgte zunächst bei kleiner Vergrößerung (10x10), wobei die Aufmerksamkeit auf das allgemeine Bild und den Ausstrichhintergrund gerichtet wurde. Die präzise Zelldifferenzierung konnte

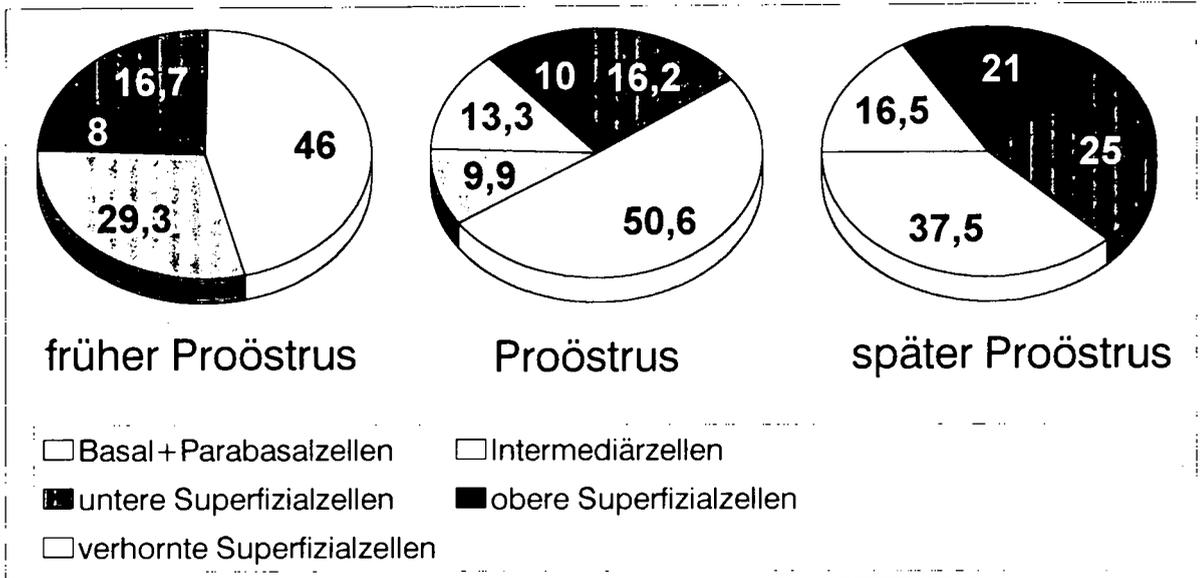


Abbildung 1. Anteil der vaginalen Zelltypen (%) in den verschiedenen Proöstrusphasen.
Grafik 1. Proöstrus'un değişik evrelerindeki vaginal hücre dağılımı (%)

bei stärkerer Vergrößerung (10x40) vorgenommen werden.

Die prozentuelle Auswertung der Epithelzelltypen konnte anhand der Einteilung der unter dem Mikroskops gezählten 100 Epithelzellen gemacht werden. Zu diesem Zweck wurde die dichteste Fläche des Objektträgers festgestellt, und sich auf einer Fläche befindende Zellen nur einmal gezählt.

Für die zytologischen Untersuchungen wurde der Sexualzyklus der Hündin in 9 Stadien eingeteilt: früher Proöstrus, Proöstrus, später Proöstrus, früher Metöstrus, später Metöstrus und Anöstrus.

Außerdem konnten an der Klinik Abstriche von 10 Hündinnen, bei denen entweder Subinvolution oder Uterusinfektion diagnostiziert worden waren ((Anamnese, abdominale Palpation, Vaginoskopie, Ultrasonographie) vorbereitet und die zytologischen Untersuchungen durchgeführt werden.

Ergebnisse

Die für die Zyklusbestimmung aufgenommenen 83 Hündinnen waren in verschiedenen Zyklusstadien: 14 (16,8%) im früheren Proöstrus, 5 (6,1%) im Proöstrus, 3 (3,6%) im späten Proöstrus, 4 (4,9%) im frühen Östrus, 7 (8,5%) im Östrus, 3 (3,6%) im späten Östrus, 10 (12,0%) im frühen Metöstrus, 29 (34,9%) im späten Metöstrus und 8 (9,6%) im Anöstrus.

Die bei dieser Arbeit durchgeführte Papanicolaoufärbung zeigte klar erkennbare Zellkerne und aufgrund des Azidophilieindex (ver-

hornte Zellen rot, alle anderen Zellen blau) konnte das vaginalzytologische Bild deutlicher interpretiert werden. Außerdem konnten die Ränder und das Zytoplasma der Zellen mittels dieser Färbemethode unter dem Mikroskop sehr gut beobachtet werden. Der einzige Nachteil dieser Färbemethode war der große Zeitaufwand (45-60 Minuten).

Im frühen Proöstrus konnten 29,3% Basal- und Parabasalzellen ermittelt werden, der Anteil an diesen Zellen lag im Proöstrus mit 9,9% niedriger. Es wurden im späten Proöstrus keine Basal- und Parabasalzellen gefunden. Das erste Auftreten von verhornten Superfizialzellen war im Proöstrus (13,3%) zu verzeichnen. Im späten Proöstrus stieg der prozentuelle Anteil dieser Zellen auf 16,5% an. Die Zunahme der oberen Superfizialzellen (von 26,2% auf 46,0%) und die Abnahme der Intermediärzellen (von 50,6% auf 37,5%) konnte auch im späten Proöstrus ermittelt werden (Abbildung 1). Der kontinuierliche Anstieg der verhornten Superfizialzellen fing im Proöstrus (13,3%) an, dauerte im späten Proöstrus (16,5%) und frühen Östrus weiter an und erreichte im Östrus (80,9%) den höchsten Prozentsatz.

Die sich im Östrus befindlichen Hündinnen (n=7) wurden 24 bis 48 Stunden nachdem auf dem Objektträger die verhornten Superfizialzellen 80,9% und der Azidophilieindex 93,2% errechnet worden waren, mit dem Rüden zusammengebracht bzw. gedeckt. Die 25 Tage später durchgeführten Ultraschalluntersuchungen zeigten, daß 5 Hündinnen trächtig waren. Obwohl eine Hündin im Östrus war, wurde sie wegen ihres geringen Alters (6 Mo-

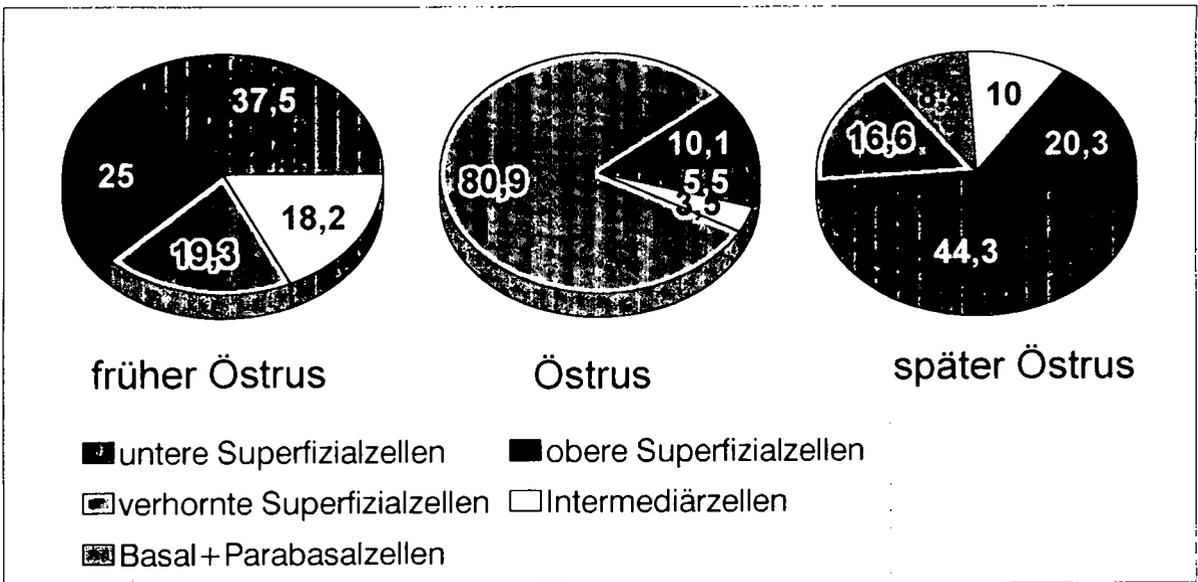


Abbildung 2. Anteil der vaginalen Zelltypen (%) in den verschiedenen Östrusphasen.

Grafik 2. Östrus'un değişik evrelerindeki vaginal hücre dağılımı (%).

nate) nicht gedeckt. Eine Hündin war nicht trächtig.

Der Versuch zeigte, daß die Hündinnen mit stillem Östrus mittels der Vaginalzytologie sehr gut beobachtet werden konnten: Bei 5 Hündinnen, die auf die Klinik gebracht wurden, ergab die Anamnese, daß bei ihnen ein Jahr lang weder blutiger Sekretaustritt noch Verhaltensänderungen beobachtet worden waren. Da die Hündinnen sich während der Probenentnahme in verschiedenen Zyklusstadien befanden, zeigten die in vier- bzw. zweitägigen Abständen vorbereiteten Abstriche, daß ein Zyklusablauf (früher Proöstrus bzw. Proöstrus) ohne äußere Zeichen vorhanden war.

Begleitende zyklussteuernde bzw. ovulationsauslösende Therapie (100 µg/Hündin GnRH) und die Zusammenbringung der Hündinnen mit den Rüden 24 bis 48 Stunden nach der Feststellung der verhornten Superfizialzellen (80%) und des Azidophilieindex (90%) erbrachte 3 trächtige Hündinnen.

Im frühen Östrus und in der Östrusphase konnten keine Basal- und Parabasalzellen festgestellt werden. Aber im späten Östrus lagen einzelne Zellen dieser Art vor (8,8%). Ansteigende Anzahl an Basal- und Parabasalzellen und unteren Superfizialzellen (im Östrus 5,5%, im späten Proöstrus 44,3%) erwiesen sich als Indikator für den Anfang des späten Östrus. Im späten Östrus vermehrten sich auch die Intermediärzellen rasch (im Östrus 3,5%, im späten Östrus 16,6%) (Abbildung 2).

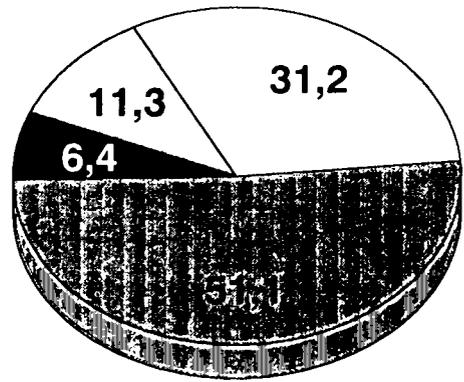
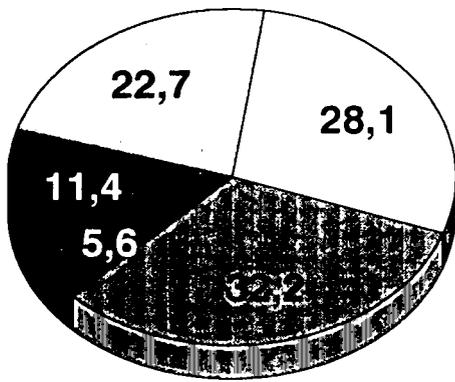
Der Beginn des Metöstrus zeichnete sich durch die drastische Abnahme der verhornten Superfizialzellen (5,6%) ab.

Durch das Zellmischbild aus Intermediär- (28,1%), unteren und oberen Superfizial- (22,7% und 11,4%) und Basal-Parabasalzellen (32,2%) wurde die Interpretierbarkeit des frühen Metöstrus (besonders die ansteigende Häufigkeit der Basal- und Parabasalzellen) verstärkt.

Im späten Metöstrus nahm die Häufigkeit der Basal- und Parabasalzellen zu (51,1%), im Gegensatz dazu konnten die anderen Zellarten nicht sehr häufig beobachtet werden (31,2% Intermediär-, 11,3% untere Superfizial- und 6,4% obere Superfizialzellen) (Abbildung 3).

Basal- und Parabasalzellen waren in der Anöstrusphase mit 84,7% die dominierenden Zellarten. Die kleinen Intermediärzellen mit 11,3% und Superfizialzellen mit 4% wurden nicht sehr häufig registriert (Abbildung 4). Im Anöstrus wurden auch Formveränderungen der Zellen (Zelldetritus) und in geringer Anzahl Kerne ohne Zytoplasma beobachtet.

Es wurde bei den Untersuchungen festgestellt, daß der Azidophilieindex bei der Diagnose des Sexualzyklus einen besonderen Wert hat. Während im Anöstrus keine Azidophilie (rot gefärbte Zellen) gefunden werden konnte, wurde im Östrus der Azidophilieindex über 90% ermittelt. Im Anöstrus war die zelldeckende Farbe grün bis blau, d.h. es herrschte Basophilie vor. Die erhobenen Befunde zeigten,



- Basal + Parabasalzellen
- Intermediärzellen
- untere Superfizialzellen
- obere Superfizialzellen
- verhornte Superfizialzellen

Abbildung 3. Anteil der vaginalen Zelltypen (%) in den verschiedenen Metöstrusphasen.
Grafik 3. Metaöstrus'un değişik evrelerindeki vaginal hücre dağılımı (%).

- Basal + Parabasalzellen
- Intermediärzellen
- untere Superfizialzellen
- obere Superfizialzellen

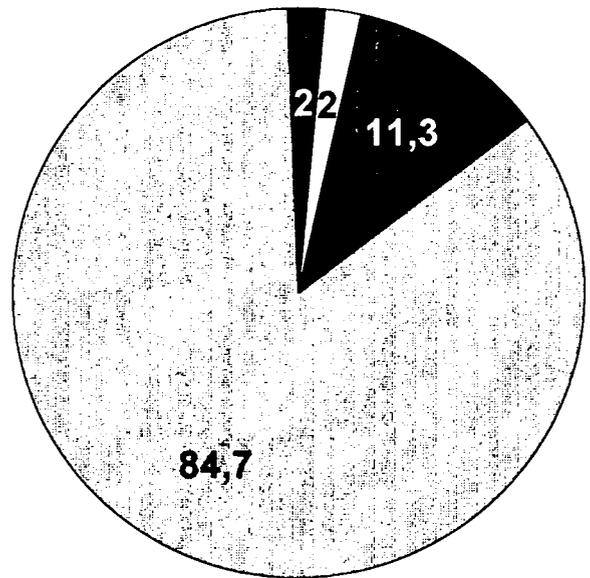


Abbildung 4. Anteil der vaginalen Zelltypen im Anöstrus (%)
Grafik 4. Anöstrus dönemindeki vaginal hücre dağılımı (%).

daß zwischen dem Azidophilieindex und verhornten Superfizialzellen eine positive Korrelation bestand ($r=0,806$). Es wurde der höchste Azidophilieprozentatz (rot gefärbte Zellen) mit 93,2% im Östrus festgestellt. Im späten Proöstrus nahm parallel zur prozentuellen Abnahme der verhornten Superfizialzellen auch der Prozentsatz des Azidophilieindex von 93% auf 52,2% ab (Abbildung 5).

Die Untersuchungen zeigten, daß sowohl die Dichte der neutrophilen Granulozyten als auch der Erythrozyten für die Vaginalzytologie eine wichtige Bedeutung hatte: Im frühen Proöstrus wurden zahlreiche Erythrozyten, da-

gegen nur einzelne neutrophile Granulozyten identifiziert. Mit Fortschreiten des früheren Proöstrus und des Proöstrus nahm die Zahl der Erythrozyten ab. Die Erythrozyten waren je nach Probe im Östrus entweder vereinzelt oder nicht vorhanden. Die neutrophilen Granulozyten fehlten. Die neutrophilen Granulozyten nahmen im frühen Metaöstrus rasch zu, aber im späten Metöstrus waren sie weniger. Im Anöstrus waren sie nicht vorhanden.

Sowohl im Östrus als auch im Metöstrus wurden im Zytoplasmabereich der Zellen keine Bakterien festgestellt. Das Präparat wirkte sau-

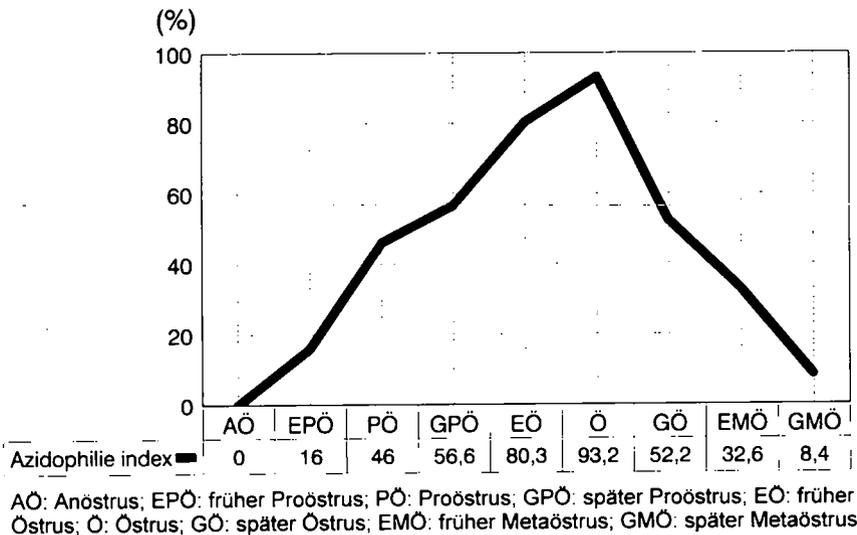


Abbildung 5. Veränderung des Azidophilieindex im Verlauf des sexuellen Zyklus (%)
 Grafik 5. Asidofilie indeksi'nin seksüel siklus dönemlerine göre değişimi (%).

ber. Im Gegensatz dazu konnten im frühen Proöstrus und Proöstrus im Abstrich und besonders im Zytoplasmabereich der Zellen zahlreiche Bakterien gefunden werden und das Präparat wirkte manchmal schmutzig.

In dieser Arbeit konnte auch bewiesen werden, daß sich mit Hilfe der Vaginalzytologie pathologische Veränderungen der Genitalien feststellen lassen (Invasion der neutrophilen Granulozyten, sehr viele nackte Zellkerne ohne Zytoplasma, Bakterien im Zytoplasmabereich, schmutzige Sekretspuren, weintraubenartige Gruppenbildung der nackten Zellkerne). Besonders die erhöhte Anzahl der neutrophilen Granulozyten und der nackten Zellkerne (Endometritis/Pyometra) und die dunkelblau gefärbten weintraubenartigen Gruppenbildungen der nackten Zellkerne (Zyste/tumorale Veränderungen des Ovars oder der Ovarien) eigneten sich sehr gut zur Diagnostik.

Diskussion

In dieser Arbeit wurde bewiesen, daß mittels der Färbung nach Papanicolaou aufgrund deutlich erkennbarer Zellkerne (blau bis dunkelviolett, pyknotische Kerne dunkelblau bis schwarz), Zellenränder, Zytoplasma und rot bis rosa (Azidophilie) oder blau bis grün (Basophilie) gefärbten Zellen die unterschiedlichen Phasen des Sexualzyklus deutlich eruiert werden konnten.

Der immer wieder erwähnte Nachteil dieser Färbemethode, nämlich der hohe Zeitaufwand, konnte wegen ihrer diagnostischen Aussagepräzision toleriert werden. Die

Papanicolaoufärbung ermöglicht eine Transparenz sowohl der Epithelzellen als auch der Erythrozyten. Selbst bei pathologischen Ausflüssen oder mit Blutbeimengungen vorbereitete Abstriche können sehr gut diagnostiziert werden. Wegen der Transparenz dieser Färbemethode ist es auch möglich, bei dick vorbereiteten oder nicht genug getrockneten Abstrichen die Zelle deutlich zu erkennen (17).

Im Schrifttum wurde die Papanicolaou-Färbemethode für die Vaginalzytologie als Standardfärbung anerkannt, es wurde aber auch auf die lange Zeit (40-60 Minuten) dauernde Anfertigung hingewiesen (5, 7, 14, 19).

In der Literatur werden in der Regel verschiedene Schnellmethoden zur Färbung des Vaginalsmears der Hündin mit der Färbemethode nach Papanicolaou verglichen. Im allgemeinen unterscheiden sich Schnellmethoden öfters durch das Fehlen der Azidophilie, der nicht auffälligen hormonabhängigen Farbdifferenzierung und der mangelhaften Kerndarstellung von der Papanicolaou-Methode. Der Vergleich der verschiedenen weitverbreiteten Routinefärbungen wie Gimsa, Diff Quick und Testsimplex zeigte, daß alle Epithelzellen in diesen Färbungen gleichfärbig dargestellt werden. Das wirkt sich in der vaginalzytologischen Diagnostik soweit nachteilig aus, daß die morphologische Differenzierbarkeit der Zellen erheblich vermindert wird (5, 14, 17).

Diese Arbeit zeigte, daß im Östrus die wesentlichen vaginalzytologischen Erhebungen die Zunahme der verhornten Superfizialzellen (80,9%) und ein auf 93,2% ansteigender Azi-

dophilieindex (rot bis rosa gefärbtes Zytoplasma) sind.

Es kann ausdrücklich betont werden daß die Zunahme sowohl der Basal- und Parabasalzellen (8,8%) als auch der unteren Superfizialzellen (44,3%) einen Hinweis auf den Eintritt in die späte Östrusphase darstellte. Die Abnahme der verhornten Superfizialzellen bestärkte diese Manifestierung.

Das Ende der Proöstrusphase zeichnete sich auch mit der drastischen Abnahme der Erythrozyten ab, und das deutete auf die sich nähernde Ovulation und die beginnende Verhornung am Anfang des Östrus hin.

Der Hauptunterschied zwischen dem frühen Metöstrus und dem späten Metöstrus bestand in einem Anstieg des Basal- und Parabasalzellgehaltes (von 32,2% auf 51,1%) und in einem Abstieg des Gehaltes an verhornten Superfizialzellen (von 5,6% auf null Prozent). Auch der Azidophilieindex galt als wesentlicher Parameter für die Differenzierung des frühen und späteren Metaöstrus (im frühen Metöstrus 32,6% im späten Metöstrus 8,4%).

Die sichere Verifizierung des Anöstrus ist besonders vor der Verabreichung von Gestagenen unbedingt erforderlich, da ein großer Zeitabstand der Verabreichung zum Östrus das Risiko einer Pyometra verringert.

Die ermittelten Ergebnisse zeigen, daß im Anöstrus die dominierenden und am Mikroskopfeld sich in Überzahl befindenden Zellarten die blaufärbten Basal- und Parabasalzellen sind.

Die endokrine Tätigkeit und die zyklusbedingten Veränderungen der Ovarfunktion spiegeln sich im Strukturwandel des Scheidenepithels (Auf-, Ab- und Umbau) der Hündin wieder. Die erwähnten Veränderungen des Vaginalepithels und parallel dazu sich verändernde Zellarten ermöglichen eine vaginalzytologische Zuordnung der Zyklusstadien und deren Übergangphasen (Früh- und Spätphasen) (14, 15, 19, 20). Wegen des einheitlichen Zellenbildes und der sehr verminderten endokrinen Aktivität im ganzen Anöstrus erfolgte weder in dieser Arbeit noch in den erwähnten Publikationen eine Einteilung in eine frühe oder späte Anöstrusphase.

Dore (9) stellte fest, daß im späten Metöstrus (30-90 Tage nach der Ovulation) die Parabasal- und Intermediärzellen zusammen von 63,0 12,5 % auf 83,0 11,0% angestiegen waren. Kälin et al. (14) ermittelte im frühen Proöstrus 30% Superfizial- 50% Intermediär-

und 10% Basal- und Parabasalzellen. Er konnte registrieren, daß die verhornten Superfizialzellen im Östrus zunahmen (90%), und im Gegensatz dazu im frühen Metöstrus abnahmen (30%). Diese Abnahme der verhornten Superfizialzellen im frühen Metöstrus verursachte den prozentuellen Anstieg der Basal- und Parabasalzellen (30%). Parallel zum völligen Verschwinden der verhornten Superfizialzellen im späten Metöstrus kam es zu einer drastischen Erhöhung des prozentuellen Anteils von Basal- und Parabasalzellen (60%). Während im frühen Proöstrus der Anteil der Superfizial- und Intermediärzellen zusammen 80% ermittelt werden konnte, wurde im Anöstrus nur ein Anteil von 5% diagnostiziert. Dagegen waren die Basal- und Parabasalzellen im Anöstrus mit 95% die überwiegenden Zellarten (14, 22). Kälin et al. (14) und Wright (22) erkannten auch, daß die Erythrozyten im frühen Proöstrus sehr häufig, im Östrus vereinzelt, im Metöstrus (früh und spät) und Anöstrus jedoch aus dem Blickfeld des Mikroskops verschwunden waren. Sie beobachteten auch, daß die neutrophilen Granulozyten sich im frühen Metöstrus rasch zunehmend darstellen.

Die geschilderten Befunde über die Vaginalzytologie wurden auch von den anderen Autoren (2, 12, 15, 20) bestätigt. Die in dieser Arbeit ermittelte Zunahme an Basal- und Parabasalzellen im späten Östrus wurde auch von anderen Autoren beobachtet. Günzel und Koivisto (11) konnten feststellen, daß die Intermediär- und Parabasalzellen im späten Östrus innerhalb von 24 Studenden aufgetreten sind.

Die Aussage, daß der Beginn des Metöstrus sich mit dem ersten Auftreten von neutrophilen Granulozyten manifestieren läßt, wurde auch in dieser Arbeit (mittels ab Eintreten des Proöstrus bzw. Östrus weiter durchgeführten 3-4 tägigen konsequenten Untersuchungen) bestätigt.

Diese Untersuchung zeigte, daß die Vaginalzytologie bei der Hündin für die Zyklusbestimmung und Läufigkeitsüberwachung in der gynäkologischen Untersuchung eine Notwendigkeit darstellt. Wie in vielen Publikationen erwähnt (1, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 18, 21) konnte aus den erhobenen Ergebnissen geschlossen werden, daß mittels der Vaginalzytologie sowohl die pathologischen Veränderungen im Uterus- (Endometritis und Pyometra) als auch im Ovarienbereich (Zysten, tumorale Veränderungen) diagnostiziert werden können.

Literatur

1. Allen, W.E. and Renton, J.P. (1982). *Infertility in the Dog and Bitch*. Br Vet J 138: 185-199.

2. Arbeiter, K. (1975). *Die klinische Betreuung der Zuchthündin*. Kleintierpraxis 20: 109-114.
3. Arbeiter, K. (1993). *Anovulatory ovarian cycles in dogs*. J Reprod Fertil Suppl 47: 453-456.
4. Batamuzi, E.K. and Kessy, B.M. (1993). *Role of exfoliative Cytology in the Diagnosis of Canine Transmissible Venereal Tumour*. J Small Anim Pract 34: 399-401.
5. Brunner, F. (1983). *Praxisnahe Schnellfärbemethoden zur Vaginalzytologie bei der Hündin*. Tierärztl Prax 11: 269-277.
6. Christiansen, I.J. (1984). *Cytological Examination of the Vaginal Smear*, 20-28. In: T.J. Burke (Ed.) *Reproduction in the Dog and Cat*. Bailliere Tindall, London.
7. Christie, D.W., Bailey, J.B. and Bell, E.T. (1972). *Classification of Cell types in Vaginal Smears During the Canine Oestrus Cycle*. Br Vet J 128: 301-309.
8. Dickie, M.B. and Arbeiter, K. (1993). *Diagnosis and therapy of the subinvolution of placental sites in the bitch*. J Reprod Fertil Suppl 47: 471-475.
9. Dore, M.A. (1978). *The Role of the Vaginal Smear in the Detection of Metoestrus and Anoestrus of the Bitch*. J Small Anim Pract 19: 561-572.
10. Feldman, C.E. (1987). *Clinical usefulness of Vaginal Cytology*. 415-418. In: D. Pedersen (Ed.) *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Saunders W.B. Co, Philadelphia.
11. Günzel, A.R. und Koivisto, P. (1984). *Aktuelles zum Sexualzyklus der Hündin-diagnostische Möglichkeiten durch vaginalzytologische Untersuchungen mittels Testsimplents*. Der Prakt Tierarzt 2: 161-166.
12. Jöchle, W. (1987). *Zum Sexualzyklus der Hündin: Neue Einsichten und Konsequenzen für Therapie und Fortpflanzungskontrolle*. Tierärztl Prax 15: 295-300.
13. Jonson, C.A. (1991). *Diagnosis and Treatment of Chronic Vaginitis in the Bitch*. Vet Clin North Am (Small anim pract) 21, 3: 523-531.
14. Kälin, S., Hubler, M., Casal, M., Berger, A. und Rüschi, P. (1987). *Vaginalzytologie bei der Hündin-Vergleich verschiedener Färbemethoden*. Vaginalzytologie. Vet 5: 13-15.
15. Oettel, M. (1979). *Reproduktionsbiologie der Hündin*. Mh. Vet. Med 34: 937-942.
16. Olson, P.N., Behrendt, D.M. and Weiss, E.D. (1987). *Reproductive Problems in the Bitch: Finding Answers Through Vaginal Cytology*. Vet Med: 344-351.
17. Papincolaou, G.N. (1942). *A New Procedure for Staining Vaginal Smears*. SCI 95: 438-439.
18. Perkins, N.R. and Thomas, P.G.A. (1993). *Infertility in the Bitch with Abnormal oestrus cyclity*. Aust Vet Pract 23, 3: 122-126.
19. Tammer, I., Blendinger, K., Sobiraj, A. and Bostedt, H. (1994). *Über den Einatz der exfoliativen Vaginalzytologie im Rahmen der gynäkologischen Befund-erhebung bei der Hündin*. Tierärztl Prax 22: 199-207.
20. Waberski, D. und Günzel-Apel, A.R. (1990). *Zyklusdiagnostik als Grundlage für fruchtbarkeitsfördernde und-hemmende Maßnahmen bei der Hündin*. Kleintierpraxis 35, 11: 561-620.
21. Wallace, M.S. (1991). *The Ovarian Remnant Syndrome in the Bitch and Queen*. J Small Anim Pract 21, 3: 501-507.