AUS DER REPRODUKTIONSMEDIZINISCHEN EINHEIT
DER KLINIKEN
KLINIK FÜR KLEINTIERE
UND DEM INSTITUT FÜR MIKROBIOLOGIE
DER TIERÄRZTLICHEN HOCHSCHULE HANNOVER

Zum Vorkommen von Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum des weiblichen und männlichen Hundes

INAUGURAL-DISSERTATION

**Zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin (Dr. med. vet.)
durch die
Tierärztliche Hochschule Hannover**

Vorgelegt von

***Franziska Mareike Eschricht
(Lage)***

Hannover 2008

Wissenschaftliche Betreuung: Univ. Prof. Anne-R. Günzel-Apel

1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. Anne-R. Günzel-Apel
2. Gutachter: Apl. Prof. Dr. Stefan Schwarz

Tag der mündlichen Prüfung: 21.11.2008

Meinen Eltern und meiner Oma in Liebe gewidmet

Wir müssen nach jedem Tor weiter nachsetzen. (Miroslav Klose)

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 1

2 LITERATURÜBERSICHT 2

2.1 Mykoplasmen 2
2.1.1 Taxonomie 2
2.1.2 Biologische Eigenschaften 3
2.1.3 Mykoplasmen bei Hunden 4
2.1.4 Mykoplasmen im Genitaltrakt von Mensch und Tier 6
2.1.5 Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum des Hundes 9

2.2 Bakterien im Genitale des Hundes 13
2.2.1 Weiblicher Genitaltrakt 13
2.2.2 Vaginale Bakterien 14
2.2.3 Beeinflussung der physiologischen Keimflora 18
2.2.4 Bedeutung der Vaginalflora für die Fruchtbarkeit 19
2.2.5 Männlicher Genitaltrakt 19
2.2.6 Bakterienflora der Präputialschleimhaut 21
2.2.7 Mikrobiologische Befunde von Ejakulatproben 25
2.2.8 Bedeutung der männlichen Keimflora für die Fruchtbarkeit 26

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN 27

3.1 Material und Methoden 27
3.1.1 Tiere 27
3.1.2 Material 28
3.1.3 Methoden 29
3.1.4 Bakteriologische Untersuchungen 36
3.1.5 Mykoplasmennachweis 36
3.1.6 Statistische Analysen 39

3.2 Ergebnisse 41
3.2.1 Patientenhündinnen (Population A) 41
3.2.2 Beaglehündinnen (Population B) 50
3.2.3 Befruchtungsergebnisse 59
3.2.4 Mykoplasmennachweis in der Plazenta 59
3.2.5 Rüden 60
3.2.6 Mykoplasmennachweis nach Therapie 75

4 DISKUSSION 77

4.1 Mykoplasmen im Genitale der Hündin 78

4.2 Aerobe Keimflora im Genitale der Hündin 84

4.3 Vaginale Mykoplasmen und aerobe Keimflora im Zyklusverlauf 86

4.4 Einfluss von Mykoplasmen auf die Fruchtbarkeit 90

4.5 Untersuchung der Plazenta auf Mykoplasmen 90

4.6 Mykoplasmen im Genitale des Rüden 90

4.7 Aerobe Bakterien im Genitale des Rüden 95

4.8 Mykoplasmennachweis nach Therapie 96

5 ZUSAMMENFASSUNG 97

6 SUMMARY 99

7 LITERATURVERZEICHNIS 101

8 ANHANG 118

9 TABELLENVERZEICHNIS 122

10 ABBILDUNGSVERZEICHNIS 124

DANKSAGUNG 125

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	destilliertes Wasser
Bakt.	Bakterien
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
***E**. coli*	*Escherichia coli*
ggr.	geringgradig
hgr.	hochgradig
KGW	Körpergewicht
M.	*Mycoplasma*
mgr.	mittelgradig
ML	Mycoplasma liquid ®
MS	Mycoplasma solid ®
n	Anzahl
P.	*Pasteurella*
PBS	Phosphate Buffered Saline
p-Wert	Überschreitungswahrscheinlichkeit
respp.	respectivly
Sc.	*Streptococcus*
spp.	Species
S.	*Staphylococcus*
Tab.	Tabelle
U/Min.	Umdrehungen pro Minute
vs.	versus

1 Einleitung

Im zunehmenden Maße wird der Kleintierpraktiker im Rahmen der medizinischen Betreuung von Zuchthunden neben der bakteriologischen Untersuchung eines Scheidentupfers oder Ejakulates auch gezielt mit der Frage nach einem Mykoplasmennachweis konfrontiert. Zur Interpretation stehen ihm nur wenige Publikationen über das Vorkommen von Mykoplasmen im kaninen Genitale zur Verfügung. Ihre Bedeutung wird derzeit kontrovers diskutiert. Immer wieder stehen Mykoplasmen im Verdacht, an Genitalinfekten und Fertilitätsproblemen des Hundes ursächlich beteiligt zu sein, besonders wenn nach einer antibiotischen Behandlung der aeroben Bakterienflora kein Therapieerfolg erzielt wird. Aufgrund ihrer biologischen Eigenschaften gestaltet sich die therapeutische Intervention bei Mykoplasmeninfektionen schwierig, da die aktuelle Resistenzlage der kaninen Mykoplasmen noch weitestgehend ungeklärt ist.

Aus diesem Grunde soll in der vorliegenden Studie das Vorkommen von Mykoplasmen im Genitale des weiblichen und männlichen Hundes im Kontext mit der aeroben Standortflora ermittelt und im Hinblick auf die Genitalgesundheit und Fertilität sowie den Zyklusstand untersucht werden. Für diese Fragestellungen werden gemischte Tierpopulationen, bestehend aus klinisch genitalgesunden sowie geschlechtskranken oder subfertilen Hunden, in die Untersuchung eingeschlossen. Ziel dieser Studie ist es, das derzeitige Vorkommen und die klinische Relevanz von Mykoplasmen im Genitale des Hundes zu erfassen, um hieraus Folgerungen für eine verbesserte Diagnostik, Interpretation und Therapie von Mykoplasmeninfektionen beim Hund ziehen zu können.

2 Literaturübersicht

2.1 Mykoplasmen

2.1.1 Taxonomie

NOCARD und ROUX (1898) entdeckten den ersten Vertreter der zellwandlosen Bakterien, den Erreger der ansteckenden Lungenseuche des Rindes, der heute als *Mycoplasma mycoides* subspp. *mycoides* bekannt ist. Da dieser Erreger nicht auf damals verfügbaren Nährmedien für Bakterien angezüchtet werden konnte und bakteriendichte Filter passierte, hielt man ihn zunächst für ein Virus. Auch die in der Folge nachgewiesenen Mykoplasmen (BIDRÈ u. DONATIEN 1923; SHOETENSACK 1934) wurden für Viren gehalten. Erst nach der Entdeckung weiterer Isolate erkannte man, dass es sich um eine besondere Gruppe von Bakterien handelte (SABIN 1941). Daraufhin wurden alle morphologisch ähnlichen Isolate als Pleuropneumonia-like organismens (PPLOs) bezeichnet.

Der Begriff „*Mycoplasma*“ wurde erst von EDWARD und FREUNDT (1956) eingeführt.

Aufgrund der hohen Diversität innerhalb der einzelnen Mykoplasmenarten und der deutlichen Unterschiede zu anderen Bakterien wurden mehrfach Änderungen in der Systematik der Mykoplasmen notwendig (KIRCHHOFF u. RUNGE 1998). Der heutigen Systematik liegen neben serologischen und physiologischen Untersuchungen die Analyse der 16rRNA-Gene (CHALKER u. BROWNLIE 2004) und andere molekularbiologische Erkenntnisse zugrunde. Die inzwischen mehr als 180 verschiedenen Mykoplasmenisolate gehören zur Division der Tenericutes (Zellwandlose) und deren einziger Klasse der Mollicutes (lat. Mollis – weich, cutis – Haut, Weichhäuter). Hierzu gehören die vier Ordnungen Mycoplasmatales, Acholeplasmatales, Anaeroplasmatales und Enteroplasmatales (TULLY et al. 1993; RAZIN et al. 1998).

Der Gattung *Mycoplasma* werden derzeit mehr als 100 Spezies zugeordnet (WEISBURG et al. 1989; TULLY et al. 1993; RAZIN et al. 1998).

Zunächst wurde lange Zeit angenommen, dass Mykoplasmen von Vorläufern der heutigen Eubakterien abstammen. Eine neuere Hypothese geht davon aus, dass sich Mykoplasmen vor ca. 600 Millionen Jahren durch degenerative Evolution aus der *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus*-Gruppe (Phyllum *Firmicutes*) aufgrund der Reduktion des Genoms entwickelt haben (WOESE 1987; MANILOFF 1992). Nach MANILOFF (1992) und RAZIN et al. (1998) sind von den zellwandtragenden Bakterien *Clostridium innocuum* und *Clostridium ramnosum* phylogenetisch am engsten mit den Mykoplasmen verwandt. Nach WEISBURG et al. (1989) und PETTERSSON et al. (2000) können Mykoplasmen gemäß ihrer Phylogenie in fünf Gruppen eingeteilt werden, die nach ihren Leitorganismen bezeichnet wurden: die Anaeroplasma-Gruppe, die Asteroleplasma-Gruppe, die Hominis-Gruppe, die Pneumoniae-Gruppe, die Spiroplasma-Gruppe. Die Hominis-Gruppe wird weiter in acht Untergruppen unterteilt: die *M. hominis*-, *M. bovis*-, *M. equigenitalium*-, *M. lipophilium*-, *M. neurolyticum*-, *M. pulmonis*-, *M. sualvi*- und die *M. synoviae*-Gruppe (JOHANSSON u. PETTERSSON 2002). Die von Hunden isolierten Mykoplasmenspezies gehören mehreren phylogenetischen Gruppen an, wobei die meisten in den Untergruppen der Hominis-Gruppe einzuordnen sind.

2.1.2 Biologische Eigenschaften

Mykoplasmen unterscheiden sich durch einige besondere Charakteristika von den übrigen Prokaryonten. Das auffälligste Merkmal ist das Fehlen einer Zellwand. Mykoplasmen werden daher durch ihre Zytoplasmamembran begrenzt, die bei den meisten Spezies Cholesterine enthält, die allen anderen Bakterien fehlen und sonst nur in eukaryotischen Membranen zu finden sind. Die Zellwandlosigkeit begründet die pleomorphe Zellform und ist Ursache für die natürliche Resistenz gegenüber den Zellwandsynthese hemmenden beta-Lactam-Antibiotika (RAZIN u. FREUNDT 1984). Die Pleomorphie der Mykoplasmenzelle reicht von der energetisch günstigen kokkoiden Form über verzweigte und unverzweigte Filamente bis hin zu helikaler Zellmorphologie. Die Ähnlichkeit der Filamente mit Pilzfilamenten führte zur Namensgebung. Mykoplasmen zeichnen sich durch ihre geringe Zell- und Genomgröße, die Folge der reduktiven Evolution ist, aus. Ihre Größe beträgt abhängig von der Spezies 0,3-0,8 µm. Auf festen Nährböden bilden viele Spezies eine charakteristische Koloniemorphologie (Spiegeleiform) aus. Die Kolonien weisen einen speziesabhängigen Durchmesser von 50 bis 600 µm (Ausnahmen bis zu 2

mm) auf, so dass sie zumeist nicht mit bloßem Auge erkennbar sind (HAYFLICK 1969; RAZIN et al. 1998). Die Genomgröße der Mykoplasmen differiert von 580 bis 2220 kbp. Im Vergleich hierzu liegt die Genomgröße anderer Bakterien zwischen 1050 bis mehr als 10000 kBp. Des Weiteren enthält die DNS der Mykoplasmen einen deutlich geringeren Anteil der Basen Guanin und Cytosin (TULLY et al. 1993). Infolge der geringen Genomgröße und der damit zusammenhängenden reduzierten Enzymausstattung ist ihre Stoffwechsel- und Biosyntheseleistung eingeschränkt. Das erklärt ihre im Vergleich zu anderen Bakterien schwierige Kultivierung und den Bedarf an komplexen Nährmedien (KIRCHHOFF u. RUNGE 1998).

2.1.3 Mykoplasmen bei Hunden

Erstmalig wurden Mykoplasmen bei Hunden von SHOETENSACK (1934) nachgewiesen. Er isolierte im Nasensekret an Staupe erkrankter Hunde einen Keim, der auf Blutplatten kleine hämolysierende Kolonien bildete. Der von ihm als *Asterococcus canis* bezeichnete Keim wurde leider nicht erhalten, so dass es heute nicht nachzuvollziehen ist, um welche Spezies es sich handelte. EDWARD und FITZGERALD (1951) isolierten aus dem oberen Respirationstrakt und der Vagina von Hunden vier Mykoplasmenspezies. Drei davon wurden von EDWARD und FREUNDT (1956) als *M. spumans* PG 13, *M. canis* PG 14 und *M. maculosum* PG 15 bezeichnet. Später benannten TULLY et al. (1970) die vierte isolierte Spezies als *M. edwardii* PG 24. *M. canis* scheint die am häufigsten nachzuweisende Spezies beim Hund zu sein. ARMSTRONG et al. (1970a) stellten bei dieser Spezies serologische Varianten fest, die allerdings von ROSENDAL (1979) nicht bestätigt werden konnten. Des Weiteren isolierten ARMSTRONG et al. (1971) *M. canis* auch aus dem Rachen einer an einer Atemwegserkrankung leidenden Frau und ihrer erwachsenen Kinder. Alle Personen hatten engen Kontakt zu ihrem Hund, der ebenfalls an einer respiratorischen Krankheit litt und bei dem auch *M. canis* nachgewiesen werden konnte. Diese Untersuchung zeigt, dass diese Spezies auch den Respirationstrakt von Menschen besiedeln kann.

M. spumans wurde besonders häufig im Respirationstrakt aber auch im Genitaltrakt und auf den Konjunktiven von Hunden nachgewiesen. ROSENDAL (1974a) konnte zwei Serogruppen von *M. spumans* differenzieren.

Immunfluoreszensserologische Untersuchungen von ROSENDAL (1976), bei denen *M. maculosum* aus Erstisolaten vermehrt nachgewiesen wurde, lassen vermuten,

dass diese Spezies häufiger bei Hunden vorkommt, als sie isoliert wird. Sie bildet kleine Kolonien und zeichnet sich durch ein langsames Wachstum aus. Eine Überwucherung mit schnell wachsenden Spezies ist daher denkbar. In den siebziger Jahren beschrieb ROSENDAL bei Hunden erstmals die Spezies *M. cynos* (ROSENDAL 1973), *M. molare* (ROSENDAL 1974b) und *M. opalescens* (ROSENDAL 1975b). Er isolierte den Referenzstamm *M. cynos* H831 von einem an Pneumonie erkrankten Hund, dessen histopathologisches Lungenbild dem der Mykoplasmenpneumonien bei Ratten und Schweinen ähnelte. *M. opalescens* wurde von ARMSTRONG et al. (1970 a, b) aus dem Rachen von Hunden isoliert und von ROSENDAL (1974b) typisiert. Der erste Nachweis von *M. molare* stammte ebenfalls aus dem Rachen von Hunden, KANAMOTO et al. (1981) entdeckten diesen Keim auch in der Maulhöhle eines wilden Fuchses. BARILE et al. (1970) isolierten aus dem Pharynx eines Hundes eine weitere bisher noch nicht näher typisierte Mykoplasmenspezies. ROSENDAL (1976) gelang ein weiterer Nachweis dieser als HRC 689 bezeichneten Spezies aus dem Genitaltrakt des Rüden. BOWE et al. (1982) vermuteten einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *M. spp. HRC 689* und einer Kolitis beim Boxer. Sie konnten aber keine eindeutige Pathogenität nachweisen. TAYLOR-ROBINSON et al. (1971) gelang der erste Nachweis von Ureaplasmen im kaninen Urogenitaltrakt. Im weiteren Verlauf konnten KOTANI und OGATA (1979) 4 Serogruppen unterscheiden, die von HARASAWA et al. (1993) als *Ureaplasma canigenitalium* typisiert wurden. *M. haemocanis*, vorher als *Haemobartonella canis* bezeichnet, wurde erst kürzlich mittels der 16S rRNA Analyse in die Gattung der Mykoplasmen eingeordnet (MESSICK et al. 2002). CHALKER und BROWNLIE (2004) isolierten aus der Trachea eines Hundes, der Zeichen einer leichten Atemwegsinfektion aufwies, eine weitere noch nicht näher differenzierte Mykoplasmenspezies, die sie als *M. spp. VJC 358* bezeichneten.

Es wurden bei Hunden auch Mykoplasmen nachgewiesen, die ursprünglich von anderen Tieren isoliert worden waren. Hierzu gehören *M. arginini*, *M. bovigenitalium*, *M. feliminutum*, *M. gatae* und *M. felis* (ROSENDAL 1974a; 1976; 1979). ROSENDAL und LABER (1973) wiesen *A. laidlawii*, eine ebenfalls bei verschiedenen Tieren und Pflanzen vorkommende Acholeplasmenspezies, erstmals auf der Vaginalschleimhaut von Hunden nach. Andere Autoren isolierten diesen Keim nachfolgend auch aus Nasen- und Maulhöhle, aus dem Dünndarm und aus dem Perikard von Hunden (KIRCHHOFF 1973; EBERLE u. KIRCHHOFF 1978). Da einige der bisher vom Hund

isolierten Mykoplasmenspezies auch bei anderen Wirten nachgewiesen wurden, ist der Begriff kanine Mykoplasmen missverständlich. ROSENDAL (1975a) postulierte, dass der Begriff kanine Mykoplasmen nur für solche Spezies zu nutzen sei, die ausschließlich oder überwiegend von Hunden isoliert würden. CHALKER (2005) stellte dagegen fest, dass eine solche strenge Einteilung der tatsächlichen Mykoplasmenflora des Hundes bei weitem nicht gerecht werden würde. Insgesamt wurden also 17 Mykoplasmenspezies beim Hund nachgewiesen, von denen zwei noch nicht weiter typisiert wurden. Die Mehrzahl der Mykoplasmenspezies kommen sowohl im Respirations- als auch im Urogenitaltrakt des Hundes vor.

2.1.4 Mykoplasmen im Genitaltrakt von Mensch und Tier

Nachdem TULLY et al. (1983) erstmals *M. genitalium* von Männern isoliert hatten, die an Harnröhrenentzündungen litten, wurde in mehreren Studien mittels PCR-Untersuchungen nachgewiesen, dass *M. genitalium* neben *Chlamydia trachomatis* ein wichtiger Erreger der so genannten „non-gonococcal-Urethritis“, einer nicht durch *Neisseria gonorrhoeae* verursachten Harnröhrenentzündung, ist (HORNER et al. 1993; JENSEN et al. 1993; BJORNELIUS et al. 2000; TOTTEN et al. 2001; YOSHIDA et al. 2002). SVENSTRUP et al. (2003) konnten darüber hinaus beweisen, dass *M. genitalium* an humane Samenzellen binden kann. Eine sexuelle Übertragung ist daher denkbar. Sie zeigten auch, dass es durch *M. genitalium* zu einer Absenkung der Spermienmotilität kommt, so dass eine Beteiligung dieser Mykoplasmenspezies an Fertilitätsproblemen bei Männern denkbar ist. Eine Abnahme der Spermienmotilität durch Adhäsion wurde in mehreren Studien ebenfalls für *M. hominis* (ROSE u. SCOTT 1994, DIAZ-GARCIA et al. 2006), *M. bovis* und Ureaplasmen (PANANGALA et al. 1981) nachgewiesen.

Allerdings konnte *in vivo* dieser Effekt nicht bewiesen werden (KÖHN et al. 1998). PCR-Untersuchungen und serologische Studien an Frauen zeigten einen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *M. genitalium* und der so genannten „pelvic inflammatory disease“ (MOLLER et al. 1984). Des Weiteren ist *M. genitalium* an der Entstehung von Zervizitiden und Endometritiden beteiligt (UNO et al. 1997, COHEN et al. 2002) und wird in Zusammenhang mit Unfruchtbarkeit bei der Frau gebracht (CLAUSEN et al. 2001). *M. hominis* ist an der bakteriellen Vaginose der Frau beteiligt. Dabei handelt es sich um eine Dysbalance zwischen Lactobazillen und verschiedener Mikroorganismen mit dem Leitkeim *Gardnella vaginalis*. Die

Beteiligung von *M. hominis* an der bakteriellen Vaginose stützt sich auf Studien, die *M. hominis* signifikant häufiger auf der Vaginalschleimhaut von erkrankten Frauen nachwiesen, als bei gesunden Frauen. Darüber hinaus wurde *M. hominis* bei gesunden Frauen nur in geringer Keimzahl festgestellt (KEANE et al. 2000). Die genaue Rolle von *M. hominis* im Geschehen der bakteriellen Vaginose ist bisher ungeklärt. RALPH et al. (1999) beschrieben eine erhöhte Frühabortrate bei Frauen mit einer gestörten Vaginalflora, so dass eine Beteiligung von *M. hominis* an Schwangerschaftsverlusten nicht auszuschließen ist.

U. urealyticum besiedelt den unteren weiblichen Genitaltrakt und wird während einer Schwangerschaft häufig von der Mutter auf das Kind übertragen, so dass diese Spezies die Ursache für Pneumonien oder chronische Infektionen des zentralen Nervensystems von Neonaten sein können (WAITES et al. 2005).

Bei Pferden und anderen Spezies können Mykoplasmen sowohl im Respirationstrakt als auch im Genitaltrakt nachgewiesen werden. *M. equigenitalium*, *M. subdolum* und *Acholeplasma spp*. wurden bei Stuten mit Infertilität, Endometritis und Vulvitis, aber auch bei gesunden, fruchtbaren Stuten nachgewiesen. So wurden *M. equigenitalium* und *M. subdolum* mit einer Häufigkeit von 5 – 34 % aus dem equinen Genitaltrakt nachgewiesen, doch konnte das Vorkommen dieser Mykoplasmen konnte nicht mit einer Subfertilität der Stuten korreliert werden (KIRCHHOFF et al. 1973, 1980; MOORTHY et al. 1977; HEITMANN et al. 1979; BERMUDEZ et al. 1988). KIRCHHOFF et al. (1973) und HEITMANN et al. (1979) isolierten mit einer Nachweishäufigkeit von 7 % Mykoplasmen aus abortierten Pferdefeten, deren ätiologische Bedeutung im Abortgeschehen unklar blieb. Eine mögliche Pathogenität von *M. equigenitalium* bei Fruchtbarkeitsstörungen der Stute wird durch Ergebnisse von *in vitro* Infektionsversuchen an equinen Uterusexplants unterstützt. Dabei wurden Eileiter von Stuten entnommen und experimentell mit *M. equigenitalium* infiziert. Die Mykoplasmen hefteten sich an die Mikrovilli und Zilien des Eileiterepithels an und die Zilienaktivität nahm ab. Auch wurden unterschiedliche zytopathogene Effekte der verschiedenen Stämme von *M. equigenitalium* auf das Eileiterepithel gezeigt (BERMUDEZ et al. 1988; MILLER et al. 1994). Wenig ist bisher über die Bedeutung von genitalen Mykoplasmen beim Hengst bekannt. DONKER-VOET und DE BOK (1968) konnten in ihrer Studie bei neun gesunden Hengsten Mykoplasmen im Samen nicht nachweisen, isolierten aber Mykoplasmen aus dem Samen zweier von insgesamt 6 Hengsten mit Fruchtbarkeitsstörungen.

MOORTHY et al. (1977) fanden bei einem Hengst mit Libidomangel und Ejakulationsstörung Mykoplasmen im Penisabstrich aber nicht im Ejakulat. Bei einem Hengst mit ulzerativen Veränderungen der Penisschleimhaut konnten sie ebenfalls Mykoplasmen in einem Penistupfer nachweisen. In einer Studie an 116 Norikhengsten wurde das Vorkommen von Mykoplasmen unter anderem im Hinblick auf die Lokalisation im männlichen Genitaltrakt, die Geschlechtsgesundheit und die Samenqualität untersucht (SPERGSER et al. 2002). Dabei wurden *M. equigenitalium* und *M. subdolum* am häufigsten nachgewiesen, aber auch *M. equirhinis*, *M. felis* und *M. arginini* sowie seltener *M. salivarium* und *Acholeplasma* spp.. Es ergaben sich keine Unterschiede hinsichtlich der Prävalenz von Mykoplasmen in Tupfern aus der Fossa glandis und der Urethra sowie im Vorsekret. Auch konnte keine der nachgewiesenen Arten einer bestimmten Lokalisation im Genitaltrakt zugeordnet werden. Eine Korrelation zwischen dem Auftreten von Mykoplasmen und klinischen Zeichen einer Genitalerkrankung einerseits und Samenmängeln andererseits bestand nicht. Die Autoren vermuteten daher, dass Mykoplasmen zur Keimflora des Hengstes gehören und klinisch gesunde Hengste diese beim natürlichen Deckakt auf die Stuten übertragen können. BACZYNSKA et al. (2006) untersuchten Samenproben von 80 dänischen Hengsten und 19 Stuten und konnten in keinem Fall Mykoplasmen isolieren. Sie führten dies auf einen hohen veterinärmedizinischen Standard und eine umfangreiche Nutzung der künstlichen Besamung zurück.

1947 wurden Mykoplasmen erstmals aus dem Genitaltrakt des Rindes isoliert (EDWARD et al. 1947). Dabei handelte es sich um *M. bovigenitalium*, eine Spezies, der zusammen mit *M. bovis* und Ureaplasmen eine klinische Bedeutung für Erkrankungen der Genitalorgane des männlichen und weiblichen Rindes beigemessen wird (DOIG 1981).

Klinisch werden bei Mykoplasmeninfektionen des bovinen weiblichen Genitaltraktes vor allem Vestibulovaginitis, Endometritis, Infertilität, Mastitis und Aborte diagnostiziert (DOIG 1981; HORVATH et al. 1983). *M. bovis* verursacht wirtschaftlich hoch bedeutsame Euterentzündungen mit Milchleistungsrückgang und kann bei Kälbern neben Pneumonien auch schwere Gelenksentzündungen auslösen.

In Infektionsversuchen (HIRTH et al. 1966; DOIG et al. 1980a; HORVATH et al. 1983) wurden nach Insemination von mit *M. bovis* infiziertem Samen chronisch eitrige Salpingitiden und Endometritiden bei Kühen provoziert. Bei experimenteller

Infektion der Vulva mit Ureaplasmen konnten DOIG et al. (1980a) eine granuläre Vulvitis auslösen.

Beim männlichen Rind werden Mykoplasmen mit katarrhalischer Balanoposthitis, Entzündungen von Hoden, Nebenhoden und Samenblase sowie Verminderung der Samenqualität in Verbindung gebracht (DOIG 1981, PANANGALA et al. 1981). So führte Lein (1974) sporadisch auftretende Fälle von Samenblasenentzündungen auf eine *M. bovigenitalium*-Infektion zurück, nachdem er diesen Zusammenhang durch Infektionsversuche reproduzieren konnte. JURMANOVA und STERBOVA (1977) sowie PANANGALA et al. (1981) stellten bei infizierten Bullen eine reduzierte Samenmotilität fest. Auch eine herabgesetzte Lebensfähigkeit der Spermien in aufgetautem Tiefgefriersperma von Bullen mit einer durch *M. bovigenitalium* bedingten Vesiculitis ist beschrieben (HALL u. MCENTEE 1981).

Neben klinisch signifikanten Genitalinfekten wurde jedoch häufig eine latente Besiedlung des Genitaltraktes mit Mykoplasmen ohne aszendierende Erregerausbreitung bei klinisch unauffälligen Tieren beobachtet, so dass ihre ätiologische Bedeutung hinsichtlich einer Fertilitätsstörung nicht eindeutig geklärt ist (PANANGALA et al. 1978; DOIG 1981).

2.1.5 Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum des Hundes

EDWARD und FITZGERALD (1951) isolierten erstmalig Mykoplasmen aus dem kaninen Genitale. Spätere Studien an klinisch geschlechtsgesunden Hunden lassen vermuten, dass Mykoplasmen zur Keimflora des Genitaltraktes des Rüden und der Hündin gehören (ROSENDAL 1973; ROSENDAL u. LABER 1973; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a, b). Bisher wurden 14 Mykoplasmenspezies isoliert. Von der Vaginalschleimhaut wurden bisher *A. laidlawii*, *M. bovigenitalium*, *M. canis*, *M. cynos*, *M. edwardii*, *M. feliminutum*, *M. gatae*, *M. maculosum*, *M. molare* und *M. spumans* identifiziert. Die Nachweishäufigkeit liegt bei gesunden Hündinnen zwischen 30 und 88 % (ROSENDAL 1973; BRUCHIM et al. 1978; LING u. RUBY 1978; DOIG et al. 1981; BABA et al. 1983; ZÖLDAG et al. 1992; JANOWSKI et al. 2008). In der Zervix gelang der Nachweis etwa gleich häufig (BARILE et al. 1970), dagegen wurden im Uterus seltener Mykoplasmen gefunden (KIRCHHOFF 1973). Bei ovariektomierten Hündinnen wiesen LING und RUBY (1978) nur zu 5 % Mykoplasmen auf der Vaginalmukosa nach. Bei Rüden wurden zusätzlich zu den im Genitaltrakt der

Hündin nachgewiesenen Spezies *M. felis*, *M. opalescens*, *M. spp. HRC689* und *U. canigenitalium* festgestellt. Bei genitalgesunden Rüden lag die Nachweishäufigkeit von Mykoplasmen aus dem Präputialsekret zwischen 26 und 73 % (ROSENDAL 1973; BRUCHIM et al. 1978; LING u. RUBY 1978; DOIG et al. 1981; ZÖLDAG et al. 1992; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992b), im Ejakulat bei 26,7 % (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992b) bzw. 71 % (DOIG et al. 1981). Auch aus dem Urogenitaltrakt kranker Hunde konnten regelmäßig Mykoplasmen isoliert werden (CHU u. BEVERIDGE 1954; THIEMANN et al. 1972; ADEGBOYE u. ADDO 1978; DOIG et al. 1981; BINDER et al. 1986; ZÖLDAG et al. 1992; SCHÄFER-SOMI u. SPERGSER 2007), so dass ihre Rolle bei Genitalerkrankungen noch ungeklärt ist. Eine mögliche Pathogenität wurde schon früh vermutet, als CHU und BEVERIDGE (1954) Mykoplasmen bei Rüden mit Balanoposthitis nachwiesen und THIEMANN et al. (1972) *M. canis* bei subfertilen Hündinnen isolierten. Dieser Stamm wurde von HOLZMANN und LABER (1977) in *in vivo*-Infektionsversuchen bezüglich einer möglichen Pathogenität untersucht. Nach Infektion mit dem von THIEMANN et al. (1972) isolierten *M. canis*-Stamm über eine intakte Samenleiterfistel war ein signifikant höherer Anteil an formabweichenden Spermien nachweisbar, während die Inokulation von Nährmedium ohne *M. canis* keine Spermaveränderungen verursachte. Zwei Rüden entwickelten nach der Infektion eine Orchitis und Epididymiditis wie auch nach *M. bovis*-Infektion bei Bullen beschrieben (AL AUBAIDI et al. 1972). HOLZMANN et al. (1979) stellten nach intrauteriner Infektion mit einem von THIEMANN et al. (1972) isolierten *M. canis*-Stamm bei 3 von 12 Hündinnen eine eitrige Endometritis mit glandulär-zystischer Hyperplasie des Endometriums fest. Mykoplasmen wurden auch aus dem Vaginalabstrich einer Hündin mit offener Pyometra isoliert (ADEGBOYE u. ADDO 1978). BINDER et al. (1986) wiesen trotz mehrfacher antibiotischer Therapie wiederholt Mykoplasmen bei vier Hündinnen nach, von denen eine einen Abort erlitten hatte, zwei an Vaginitis erkrankt waren und eine Hündin wiederholt Konzeptionsschwierigkeiten zeigte. DOIG et al. (1981) konnten bei 70 bis 88 % von 26 geschlechtsgesunden Hündinnen, sowie bei 95 % von 49 an Vaginitis oder Subfertilität leidenden Hündinnen Mykoplasmen nachweisen. Bei den Rüden beherbergten 64 bis 73 % der 22 gesunden Tiere und 92 % der 39 an Balanoposthitis erkrankten oder infertilen Tiere Mykoplasmen auf der Präputialmukosa. Dieser Unterschied war signifikant, während sich bei den Hündinnen lediglich eine Tendenz ableiten ließ. Von ZÖLDAG et al. (1992) wurden

Mykoplasmen signifikant häufiger bei erkrankten Hunden beider Geschlechter nachgewiesen. (Hündinnen: bei 80 % klinisch erkrankter (n = 108) und 51,3 % (n = 37) gesunder Hündinnen; Rüden: bei 82,8 % klinisch erkrankter (n = 29) und 26,7 % (n = 15) gesunder Rüden). Ferner fielen in den untersuchten Zuchtzwingern ein Anstieg der Welpensterblichkeit sowie eine Abnahme der Wurfgröße nach Infektion mit Mykoplasmen auf.

Die größte Präsenz im Genitaltrakt des Hundes wurde für *M. canis* beschrieben (EBERLE u. KIRCHHOFF 1976; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; BINDER et al. 1986; L'ABEE-LUND et al. 2003). L'ABEE-LUND et al. (2003) wiesen bei neun Hunden mit Urogenitalinfekten *M. canis* nach, bei sieben Tieren in Reinkultur, unter anderem bei einem Rüden mit blutigem Harnträufeln aufgrund einer Prostatitis und vermuteten daher einen ätiologischen Zusammenhang mit *M. canis*. Eine vollständige Heilung konnte bei drei Hunden durch Tetracycline erreicht werden. Auch die Symptome der Prostatitis gingen unter Tetracyclingabe zurück, eine vollständige Genesung zeigte sich aber erst nach Kastration. Kürzlich wiesen SCHÄFER-SOMI und SPERGSER (2007) bei neun Hunden mit Fertilitätsstörungen *M. canis* in Samen- und Vaginalsekretproben nach. Nach antibiotischer Therapie war eine Verbesserung der Fruchtbarkeit zu verzeichnen. Zusätzlich entwickelten die Autoren eine Autovakzine, die einen sechsmonatigen Schutz vor einer Neuinfektion mit demselben *M. canis*-Stamm bietet. Aufgrund der häufigen Nachweise von *M. canis* auf der Vaginalmukosa gesunder Hündinnen gingen DOIG et al. (1981) und JANOWSKI et al. (2008) nicht von einer Pathogenität des Keims aus.

Über Infektionswege von Mykoplasmen ist noch wenig bekannt. Eine sexuelle Übertragung (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992b) liegt nahe. EBERLE und KIRCHHOFF (1976) konnten Mykoplasmen nur bei spontan geborenen jedoch nicht durch Kaiserschnitt entwickelten Welpen nachweisen. Eine plazentare Übertragung wird daher als unwahrscheinlich erachtet, während eine Infektion der Welpen im Geburtskanal wahrscheinlich ist.

Tabelle 1: Literaturangaben über Lokalisationen der bisher aus dem kaninen Genitale isolierten Mykoplasmen

Mykoplasmen	Lokalisation im Genitale	Literatur
A. laidlawii	Vagina	ROSENDAL u. LABER (1973)
M. bovigenitalium	Vagina, Präputium, Prostata	BRUCHIM et al. (1978)
M. canis	Vagina, Präputium, Prostata, Urin	EDWARD u. FITZGERALD (1951); BARILE et al. (1970); BRUCHIM et al. (1978); ROSENDAL u. LABER (1973); ADEGBOYE u. ADDO (1978); DOIG et al. (1981); JANG et al. (1984); L'ABEE-LUND et al. (2003)
M. cynos	Vagina, Präputium, Prostata, Urin	BRUCHIM et al. (1978); DOIG et al. (1981); JANG et al. (1984)
M. edwardii	Vagina, Präputium, Prostata	TULLY et al. (1970); DOIG et al. (1981);
M. felis	Präputium	DOIG et al. (1981)
M. feliminutum	Vagina	ROSENDAL (1974a)
M. gatae	Vagina, Präputium, Prostata	ROSENDAL (1974a)
M. maculosum	Vagina, Prostata	EDWARD u. FITZGERALD (1951); DOIG et al. (1981)
M. molare	Vagina, Präputium	ROSENDAL (1974a); DOIG et al. (1981)
M. opalescens	Präputium, Prostata	BARILE et al. (1970)
M. spumans	Vagina, Präputium, Prostata, Urin	ROSENDAL (1974a), DOIG et al. (1981)
M. spp. HRC689	Präputium, Prostata	ROSENDAL (1976), BRUCHIM et al. (1978)
U. canigenitalium	Präputium	HARASAWA et al. (1993)

2.2 Bakterien im Genitale des Hundes

2.2.1 Weiblicher Genitaltrakt

Der deutsche Gynäkologe DOEDERLEIN isolierte bereits 1892 bei etwa der Hälfte der schwangeren Frauen einen Bazillus in Vaginalsekretproben. Dieser auch heute noch als Doederlein-Bakterium bezeichnete Keim wurde von THOMAS (1928) als *Lactobacillus acidophilus* identifiziert. So wurde in der Humanmedizin schon früh von einer physiologischen bakteriellen Besiedlung des weiblichen Genitale ausgegangen. SCHAEFER (1917) konstatierte, dass pathogene Keime selten und nur vorübergehend auf der Vaginalschleimhaut nachzuweisen wären. CRUICKSHANK und CRUICKSHANK (1931) beschrieben eine Abhängigkeit der Zusammensetzung der Scheidenflora vom Allgemeinzustand einer Patientin und vermuteten, dass die variierende Vaginalflora bei Tieren auf einem ähnlichen Geschehen beruhen könnte. Die Vaginalschleimhaut gesunder Stuten wurde zunächst für keimfrei gehalten (DAY 1957). TILLMANN (1973) machte deutlich, dass der kraniale Abschnitt der Vagina unter physiologischen Bedingungen nicht von Bakterien besiedelt sei, dennoch ein Nachweis von Bakterien nicht zwangsläufig mit einer Genitalerkrankung einhergehe. Eine physiologische Vaginalflora der Stute wurde von DENZLER (1976) beschrieben, der nur in 31,6 % der Vaginaltupfer gesunder Stuten keine Bakterien isolieren konnte. Über die Bedeutung eines bakteriellen vaginalen Keimgehaltes beim Hund bestand ebenfalls lange Unklarheit. So wurden klinisch geschlechtsgesunde Hündinnen, bei denen Bakterien isoliert werden konnten, als Infektionsquelle beurteilt (HARE und FRY 1938 a, b; HARE 1946). Durch intravaginale Infektion gesunder Hündinnen mit β- hämolysierenden Streptokokken der Gruppe L, die von Hündinnen mit Aborten und anderen Fertilitätsproblemen stammten, konnten MANTOVANI et al. (1961) in einigen Fällen entsprechende Krankheitsbilder erzeugen. LEIBOLD (1954) isolierte aus Vaginalsekretproben von 28 gesunden Hündinnen acht verschiedene Keimspezies. Nur bei zwei Tieren lag ein negatives Tupferergebnis vor, so dass auch bei der Hündin von einer physiologischen Vaginalflora ausgegangen werden kann.

Im Vestibulum vaginae kann häufiger eine größere Anzahl an Bakterienarten nachgewiesen werden als im kranialen Abschnitt der Vagina. Bei 81 gesunden Hündinnen isolierten OLSON und MATHER (1978) bei aus dem Vestibulum durchschnittlich 2,35 Isolate / Probe, aus der kranialen Vagina lediglich 0,975 Isolate / Probe. Ebenso war in Zervixnähe häufiger ein negatives Tupferergebnis (37 %) zu finden als im Scheidenvorhof (9 %). Des Weiteren fanden sie im kranialen Bereich

der Vagina bei 16 Hündinnen Bakterienarten, die im Vestibulum derselben Hündin nicht nachgewiesen wurden. Eine geringere Besiedlungsdichte im kranialen Scheidenbereich wurde von ALLEN und DAGNALL (1982) bei läufigen Hündinnen bestätigt. JÄRVINEN (1981) zeigte, dass die Scheidenflora aus dem Darm und von der Haut des Hundes stammt, womit VAN DUIJKEREN (1992) das Keimzahlgefälle von kranial nach kaudal erklärte. Deshalb sollte die Probenentnahme vorzugsweise aus dem kranialen Scheidenbereich erfolgen. Laut GUNNINK (1971) und JÄRVINEN (1981) ist der Uterus klinisch gesunder Hündinnen physiologisch keimfrei. Dabei schützt die geschlossene Zervix als natürliche Barriere vor aufsteigenden Bakterien. OLSON und MATHER (1978) fanden bei der bakteriologischen Untersuchung von 26 Uterussekretproben, die nach Sectio oder Ovariohysterektomie gewonnen wurden, nur bei einer Probe einen bakteriellen Keimgehalt. BABA et al. (1983) wiesen dagegen im Uterus von 62 % der untersuchten Hündinnen vaginale Keimarten in geringerer Keimzahl als in der Vagina nach. Sie vermuteten, dass aufgrund der unterschiedlichen Milieuverhältnisse in Vagina und Uterus ein Teil der Keime aus dem Uterus eliminiert wird. Auch OSBALDISTON (1978) und BJURSTRÖM (1993) ordnen die aus dem Uterus isolierten Bakterien Bestandteil der physiologischen Vaginalflora zu. Eine vergleichende Untersuchung des vaginalen und uterinen Keimgehaltes von 11 geschlechtsgesunden Hündinnen in verschieden Zyklusphasen sowie im Puerperium erbrachte einen Bakteriennachweis bei 66,7 % der Uterussekretproben, wobei der semiquantitative Keimgehalt stets geringer war als in den Vaginaltupfern (GÜNZEL-APEL et al. 1999). So wurden im Zyklusverlauf und im Puerperium durchschnittlich 2,2 bzw. 3,0 Isolate je Vaginaltupfer und 1,1 bzw. 1,7 Isolate je Uterussekretprobe gewonnen. Die aus dem Uterus isolierten Keimspezies entsprachen der vaginalen Keimflora. Im Vergleich zu den anderen Zyklusstadien waren im Proöstrus und Östrus häufiger mittel- bis hochgradige Keimgehalte im Uterus nachweisbar, was wahrscheinlich auf der vermehrten Einwanderung von Vaginalkeimen in den Uterus durch die in der Läufigkeit geöffnete Zervix beruht (FELDMAN und NELSON 1996).

2.2.2 Vaginale Bakterien

Die Vaginalschleimhaut klinisch gesunder Hündinnen beherbergt eine Vielzahl an Bakterien (PLATT u. SIMPSON 1974; HIRSH u. WIGER 1977; OLSON u. MATHER 1978; OSBALDISTON 1978; ALLEN u. DAGNALL 1982; BABA et al. 1983;

BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a; SIESENOP et al. 1996). Eine vergleichende Darstellung der umfangreichsten systematischen Studien zeigt Tabelle 2.

E. coli, *Pasteurella spp.*, Staphylokokken und Streptokokken werden als Hauptbestandteil der aeroben physiologischen Keimflora angesehen (PLATT u. SIMPSON 1974; OSBALDISTON et al. 1972; HIRSH u. WIGER 1977; OLSON u. MATHER 1978; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992 a;). Bei den aus dem Vaginalsekret von Hunden isolierten β-hämolysierenden Streptokokken handelt es sich häufig um *Sc. canis* (OLSON et al. 1978; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992 a; SIESENOP et al. 1996) Anaerobe Keime der Vaginalmukosa sind *Bacteroides spp.* und *Peptostreptococcus spp.* (BABA et al. 1983).

Häufiger werden Mischkulturen aus mehreren Bakterienspezies nachgewiesen als eine Reinkultur (HIRSH u. WIGER 1977; LING u. RUBY 1978; OLSON u. MATHER 1978; OSBALDISTON 1978; SCHAEFER et al. 1978). SIESENOP et al. (1996) isolierten bei klinisch geschlechtsgesunden Hündinnen durchschnittlich 1,71 Keimspezies pro Vaginaltupfer.

Während OSBALDISTON (1978) keine Häufung bestimmter Bakterienmischkulturen nachweisen konnte, stellten BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) häufig eine Kombination an β-hämolysierenden Streptokokken und *P. multocida* oder *E. coli* fest.

Tabelle 2: Literaturangaben zur physiologischen Vaginalflora des Hundes

	Nachweishäufigkeit der Spezies (%)						
Bakterien	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**	**G**
Streptokokken	12	29			46		
α-/anhämol. Streptokokken			14	23		56	73
β-hämol. Streptokokken		24	15	23		90	73
E. coli	20	45	19	47	23	85	55
Pasteurella spp.	4	5	10	26	34	98	36
Koagulasepos. Staphylokokken	13	27	6	19	4	34	77
Koagulaseneg. Staphylokokken	44	13	6	1	20	22	9
Proteus spp.	20	13	5	20	9	25	9
Enterobacter spp.		2	1		1		14
Enterokokken		13		16	10	44	
Klebsiella spp.	15						23
Pseudomonas spp.	8	9				10	36
coryneforme Bakt.	17	11	3	12	6	41	36
Bacillus spp.	28	2	4		2		68
Acinetobacter spp.					1		18
Micrococcus spp.							
Moraxella spp.		2	1				
Flavobacterium spp.		3	1				5
Neisseria spp.			3				
Citrobacter spp.					1		
Mykoplasmen					43	59	
Anzahl Hunde (n)	200	62	81	74	82	59	22

A: PLATT u. SIMPSON (1974), **B:** HIRSH u. WIGER (1977), **C:** OLSON u. MATHER (1978), **D:** ALLEN u. DAGNALL (1982), **E:** BABA et al. (1983), **F:** BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG (1992a), **G:** SIESENOP et al. (1996)

Die vaginale Keimbesiedlung geschlechtsgesunder Hündinnen ist sehr variabel und setzt sich überwiegend aus fakultativ pathogenen Bakterien zusammen, die erst bei

schwacher Abwehrlage des Wirts zu einer Erkrankung führen (PLATT u. SIMPSON 1974; HIRSH u. WIGER 1977; LING u. RUBY 1978; OLSON u. MATHER 1978; OSBALDISTON 1978; ALLEN u. DAGNALL 1982; BABA et al. 1983; SIESENOP et al. 1996). So stellten PLATT und SIMPSON (1974) ebenso wie HIRSH und WIGER (1977) keine qualitativen Unterschiede der Keimflora gesunder und an Vaginitis erkrankter Hündinnen fest. Allerdings konnten HIRSH und WIGER (1977) quantitative Unterschiede der Vaginalflora aufzeigen, wie auch BARTON (1977) von einem Überwuchern der Keimflora bei Vaginitiden als Folge des Zusammenbruchs der lokalen Immunität berichtete. Dagegen beobachteten SIESENOP et al. (1996) auch bei gesunden Hündinnen häufig eine hochgradige Besiedlung der Vaginalmukosa. In der Vergangenheit wurden viele Bakterienarten insbesondere β-hämolysierende Streptokokken der Gruppe G und L sowie *E. coli* für Fruchtbarkeitsstörungen und Welpensterblichkeit verantwortlich gemacht. Mittels eines Infektionsversuches, bei dem gesunde Hündinnen intravaginal mit β-hämolysierenden Streptokokken der Gruppe L, die von Hündinnen mit Aborten und anderen Fertilitätsproblemen stammten, infiziert wurden, konnten MANTOVANI et al. (1961) ein jeweiliges spezifisches Krankheitsbild bei einem Teil der Hündinnen reproduzieren. Auch *Pseudomonas aeruginosa* wurde als mögliche Ursache von Fruchtbarkeitsstörungen genannt (TICER 1965) und als fakultativ pathogen angesehen (ALLEN u. RENTON 1982). OSBALDISTON (1978) wies bei Hündinnen mit Fruchtbarkeitsstörungen häufig Clostridien nach, konnte aber keine klinische Relevanz dieser Keime finden. Auch BLUNDEN (1983) isolierte häufiger Clostridien (*Cl. perfringens*) bei Hündinnen aus Zwingern mit Fertilitätsproblemen als bei Hündinnen aus Zwingern, die keine herabgesetzten Fertilitätsraten hatten.

BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) fanden bei erkrankten Hündinnen weder eine spezifische Keimflora noch einen erhöhten Prozentsatz an Reinkulturen oder Isolaten mit höherem Keimgehalt. Auch GÜNZEL-APEL et al. (1999) konnten keine qualitativen Unterschiede zwischen der physiologischen Keimbesiedlung des gesunden Uterus und dem Keimvorkommen der klinisch manifesten Pyometra oder Endometritis feststellen.

Ein hochgradiger Keimgehalt an *E. coli* in Reinkultur wird jedoch häufiger in Zusammenhang mit manifester Uteruserkrankung beschrieben als eine bakterielle Mischkultur (HARDY u. OSBORNE 1974; OSBALDISTON 1978; OLSON et al. 1984; ROUHOL-AMINE u. KAYHANI 1985; SCHOON et al. 1992; SCHAEFERS-OKKENS

1996). Da von GÜNZEL-APEL et al. (1999) bei geschlechtsgesunden Hündinnen häufig auch Bakterienreinkulturen isoliert wurden, wird deutlich, dass der Nachweis einer fakultativ pathogenen Bakterienart in Reinkultur auch in höherem Keimgehalt nicht zwingend mit einer Endometritis vergesellschaftet sein muss. In erster Linie werden *E. coli*, *Sc. canis* und *S. intermedius* als potentiell pathogen beschrieben (HIRSH u. WIGER 1977; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a).

2.2.3 Beeinflussung der physiologischen Keimflora

LARSEN et al. (1977) zeigten bei Ratten, dass die Keimzahl der Vaginalflora durch Hormone beeinflusst wird. So konnte eine deutlich höhere Bakterienzahl im Östrus als im Met- oder Anöstrus nachgewiesen werden. Bei ovariektomierten Ratten kam es ca. 3 Tage nach einer Gabe von 17-β-Östradiol zu einem deutlichen Anstieg der Bakterienzahl. Die zusätzliche Applikation von Progesteron führte zu einer Verminderung der Vaginalflora, während die alleinige Progesterongabe keinen Effekt nach sich zog. LING und RUBY(1978) stellten keinen signifikanten Unterschied in der Zusammensetzung der Vaginalflora ovariohysterektomierter und intakter Hündinnen fest. Auch zeigte die qualitative und semiquantitative Zusammensetzung der Vaginalflora keine Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus (juvenil, geschlechtsreif) (SIESENOP et al. 1996). ALLEN und DAGNALL (1982) beobachteten einen semiquantitativen Anstieg der vaginalen Keimzahl während der Läufigkeit. Mit dem Auftreten von Leukozyten im Ausstrich nach Läufigkeitsende ging die Keimzahl dagegen wieder zurück. BABA et al. (1983) stellten im Östrus eine signifikant höhere Keimzahl als zu anderen Zeitpunkten im Zyklus der Hündin fest. Diese Beobachtung wurde von SIESENOP et al. (1996) und GÜNZEL-APEL et al. (1999) bestätigt. Während der höchste semiquantitative Keimgehalt im Proöstrus und Östrus nachweisbar war, trat in den Zyklusphasen mit basaler Ovarhormonsekretion (Endometriumsreparation und Anöstrus) eine deutliche Verringerung des Keimgehaltes ein (SIESENOP et al. 1996). Für koagulasepositive Staphylokokken war kein Einfluss des Zyklus zu erkennen (OLSON und MATHER 1978; BABA et al. 1983). Dagegen wurde *P. multocida* signifikant häufiger im Proöstrus, Östrus, Metöstrus und während der Trächtigkeit isoliert als im Puerperium und im Anöstrus (BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG 1992a). Ferner traten Isolate von β-hämolysierenden Streptokokken signifikant häufiger im Proöstrus als im Östrus,

während der Trächtigkeit oder im Puerperium auf. Für *E. coli* wurde dagegen keine zyklusabhängige Isolationshäufung festgestellt. Aufgrund unterschiedlicher qualitativer Zusammensetzung der Vaginalflora im Zyklusverlauf von ein und derselben Hündin konnte SIESENOP et al. (1996) keine Zyklusabhängigkeit nachweisen.

2.2.4 Bedeutung der Vaginalflora für die Fruchtbarkeit

Es wurden verschiedene Theorien über mögliche Pathomechanismen bakteriell verursachter Infertilität der Hündin aufgestellt. Nach ALLEN und RENTON (1982) sowie OLSON et al. (1988) kann die Zygotenreifung durch die während des Östrus durch den geöffneten Zervikalkanal einwandernden Keime direkt beeinflusst werden und eine bakteriell bedingte Endometritis die Nidation befruchteter Oozyten behindern. Da das Keimspektrum der Vaginalmukosa gesunder Hündinnen sich wie bereits genannt nicht von der Flora subfertiler Hündinnen unterscheidet (OSBALDISTON et al. 1972; FARSTAD 1982; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM 1993) und Endometritiden zum Deckzeitpunkt sehr selten auftreten ist ein bakterieller Befund eines Vaginaltupfers bei Hündinnen ohne klinisch manifeste Genitalerkrankung nur von untergeordneter Relevanz bezüglich der Fruchtbarkeit (WRIGHT u. WATTS 1998).

2.2.5 Männlicher Genitaltrakt

Der Genitaltrakt des Rüden weist einige anatomische Besonderheiten auf, die bei der Interpretation eines bakteriologischen Befundes berücksichtigt werden müssen (KUSTRITZ et al. 2005). Auch bei klinisch gesunden Rüden wird das Präputium von einer Vielzahl an Bakterien besiedelt. Des Weiteren lassen sich Bakterien der Präputialflora auch im distalen Abschnitt der Urethra nachweisen (SCHAEFER et al. 1978; LING u. RUBY 1978). Hoden und Nebenhoden sowie Prostata sollten im physiologischen Zustand nicht von Bakterien besiedelt sein (BARSANTI 1990; GÖRZ 1996). Eine aszendierende Migration der Normalflora der distalen Urethra wird durch verschiedene spezifische und unspezifische Abwehrmechanismen verhindert. Zu den unspezifischen Abwehrmechanismen gehören das Ruhesekret der Prostata, welches ständig abgesondert wird und zudem auch eine bakterizide Wirkung aufweist, der Harnfluss sowie bestimmte Eigenschaften der Schleimhaut der Harnröhre. Des

Weiteren kann die Prostata als spezifische Abwehr mit einer IgG- und IgA-Antikörperantwort auf eine Infektion reagieren (KLAUSNER u. OSBORNE 1983).
Bei Beeinträchtigung der Abwehrmechanismen kann bei geschlechtsreifen Rüden eine bakterielle Infektion der Prostata entstehen. Es sind akute von chronischen Prostatitiden zu unterscheiden. Während eine akute Drüsenentzündung mit einer deutlichen klinischen Symptomatik (Schmerzhaftigkeit im Rücken und bei der transrektalen Palpation, Fieber, Tenesmus, etc.) einhergeht (LING et al. 1983), bleiben chronische Prostatitiden oft über längere Zeit unerkannt.
Ferner ist eine absteigende Infektion aus Nieren, Blase, Hoden und Nebenhoden möglich. BAUMUELLER und MADSEN (1977) induzierten nach Injektion von Kolibakterien in eine Nebenarterie der Prostata bakterielle Entzündungen der Drüse. Demnach ist auch die hämatogene Streuung von Bakterien aus einem anderen Entzündungsherd als Ursache in Betracht zu ziehen. Aufgrund der anatomischen Nähe sind häufig Blase, Prostata und Urethra gleichzeitig infiziert, doch können Hoden und Nebenhoden mitbetroffen sein. Insbesondere der Reflux von der Prostata in die Blase führt dazu, dass häufig eine Entzündung der Drüse gleichzeitig mit einer Blasenentzündung auftritt. Auch umgekehrt kann durch den physiologischen Druckanstieg in der Urethra während der Miktion Harn in die Drüsengänge gelangen (BARSANTI 1990). So stellt häufig eine rezidivierende Blasenentzündung das einzige Symptom einer chronischen Prostatitis dar (PRÜFER 1990). BARSANTI et al. (1980) gelang es, nach Einschleusung von *E. coli* in die Prostata von Hunden eine chronische Prostatitis hervorzurufen. Bei elf von 17 erkrankten Rüden wurde *E. coli* ebenfalls in der Blase isoliert, bei fünf Hunden aus den Nieren, bei zwei Tieren aus den Hoden und bei sechs Tieren aus dem periprostatischen Fettgewebe.
Für die mikrobiologische Diagnostik von Vorhautkatarrhen eignen sich Präputialabstriche, deren Ergebnisse unter Berücksichtigung der urethralen Keimflora beurteilt werden sollten. So wird einer Bakterienspezies, die in Reinkultur und in mittel- bis hochgradigem Keimgehalt vorliegt, klinische Relevanz zugesprochen (KUSTRITZ 2006). Als Mittel der Wahl zur bakteriologischen Untersuchung des männlichen Genitale des Rüden hat sich die fraktionierte Samengewinnung durch manuelle Stimulation durchgesetzt (KUTZLER 2005). Auch wenn diese keinen sterilen Prozess darstellt (KUSTRITZ et al. 2005), werden Kontaminationen durch die von GÜNZEL-APEL (1994) beschriebene Vorgehensweise weitestgehend verhindert.

Zur Ermittlung des bakteriellen Keimgehaltes im proximalen Genitale des Rüden eignet sich das Vorsekret, welches das Ruhesekret der Prostata repräsentiert (ENGLAND et al. 1990). Die nachgewiesenen Keime können auch aus der distalen Urethra, der Blase und der Hoden und Nebenhoden stammen (LING et al. 1983), da die Urethra gleichermaßen Harn- und Samenableitender Weg ist. In der spermienreichen Phase sind sowohl Prostatasekret als auch Nebenhoden- und Hodensekret enthalten, was eine bedingte Aussage über eine mögliche Beteiligung der Nebenhoden oder Hoden an einem infektiösen Geschehen erlaubt. Das Nachsekret (Spermienfreie Ejakulatfraktion) hingegen ist in erster Linie aktiv sezernierte Prostataflüssigkeit, welche häufig zur Untersuchung einer prostataren Keimbesiedlung genutzt wird (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992b). Nach LING et al. (1983) muss der Keimgehalt des Prostatasekrets mehr als zwei Zehnerpotenzen höher als der Keimgehalt von Urethraspülproben liegen, um eindeutig der Prostata zugeordnet werden zu können. BARSANTI und FINCO (1986) sowie KUSTRITZ et al. (2005) bewerteten einen Keimgehalt von mehr als 10^5 Koloniebildenden Einheiten pro ml Nachsekret als Indiz für eine Prostataentzündung und nicht als Kontamination durch die Präputial- und Urethralflora. GÖRZ (1996) sah einen semiquantitativ hochgradigen Keimgehalt als klinisch relevant an und führte einen geringeren Keimgehalt auf eine Kontamination durch die distale Mikroflora zurück. Erst die gemeinsame Betrachtung der klinischen Symptome, der Ejakulatbeschaffenheit und der mikrobiologischen Befunde lässt eine Diagnose bzw. Einschätzung der klinischen Bedeutung des Keimgehaltes zu.

2.2.6 Bakterienflora der Präputialschleimhaut

Die Präputialschleimhaut klinisch gesunder Rüden wird von einer Vielzahl an Bakterien besiedelt (Tabelle 3). Häufig setzt sich die Keimflora aus einem Mischgehalt an fakultativ pathogenen Bakterien zusammen (LING u. RUBY 1978; SCHAEFER et al. 1978; KANÉ 1983; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992 b), die auch auf der Vaginalmukosa der Hündin nachgewiesen werden. Am häufigsten werden Streptokokken, Staphylokken, *E. coli*, *Pasteurella spp.*, Mykoplasmen, *Proteus spp.*, sowie *Corynebacterium spp.* isoliert. Seltener (Häufigkeit zwischen 2 und 6 %) wurden *Enterobacter spp.*, *Neisseria spp.*, *Acromonas spp.*, *Acinetobacter spp.* und *Klebsiella spp.* gefunden. Nach BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG

(1992b) ist das Präputium fast immer von Bakterien besiedelt, so dass negative Tupferergebnisse auf fehlerhaft durchgeführte Probenentnahme hinweisen.

Die mikrobielle Besiedlung der Präputialschleimhaut erfolgt vorwiegend über die Präputialöffnung. Dabei spielt auch die Präputialabsonderung mit dem beigemengten Vorhautdrüsensekret (Smegma) eine Rolle (KANÉ 1983). Zu den Abwehrmechanismen des Präputiums gehören die Abschilferung des Epithels, die die Epithelien durchwandernden Abwehrzellen (Granulozyten, Lymphozyten, Histiozyten) sowie die bakterielle Interferenz. So kommt es zwischen den kommensalen Keimen und pathogenen bzw. opportunistischen Mikroorganismen zu einer wechselseitigen Hemmung oder einer Unterdrückung des Wachstums durch den Verbrauch der Nährstoffe (KANÉ 1983).

SCHAEFER et al. (1978) fanden eine qualitativ ähnliche Zusammensetzung der Bakterienflora in Präputium und Urethra, wobei die urethrale Keimdichte hingegen deutlich geringer ausfiel. LING und RUBY (1978) stellten bei 20 gesunden Rüden zehn von 14 aus dem Präputium isolierten Bakterienarten auch in der Urethra derselben Rüden fest.

Tabelle 3: Literaturangaben zur bakteriellen Präputialflora beim klinisch gesunden Rüden

	Nachweishäufigkeit (%)				
Bakterien	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
E. coli	10,0	39,0	10,0	26,0	53,3
β-hämolysierende Streptokokken	20,0	29,3	20,0	20,0	73,3
Koagulasepos. Staphylokokken	60,0	51,2	20,0	64,0	60,0
Corynebacterium spp.	15,0	7,3	33,0	20,0	20,0
α-/anhämolysierende Streptokokken	10,0	56,1	24,0	50,0	26,7
Moraxella spp.	10,0	-	-	-	-
Proteus spp.	5,0	2,4	4,0	6,0	6,7
Pasteurella spp.	-	2,4	6,0	24,0	100,0
Koagulaseneg. Staphylokokken	15,0	17,1	31,0	24,0	66,7
Mycoplasma spp.	35,0	n.u.	n.u.	8,0	80,0
Pseudomonas spp.	-	2,4	-	8,0	6,7
Bacillus spp.	-	31,7	6,0	-	-
Clostridium perfringens	-	7,3	-	-	-
Enterococcus spp.	-	-	10,0	-	26,7
Anzahl Hunde (n)	**20**	**41**	**51**	**50**	**15**
Anzahl Proben	20	41	51	50	232
negative Proben (%)	10,0	n. u.	14,0	6,0	14,2

A: nach LING u. Ruby (1978), **B:** nach SCHAEFER et al. (1978), **C:** nach ALLEN u. DAGNALL (1982), **D:** nach KANÉ (1983), **E:** nach BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG (1992 b)
- : negativer kultureller Befund
n. u.: nicht untersucht

Bakterielle Entzündungen von Vorhaut (Posthitis) und Penisspitze (Balanitis) liegen in der Regel gemeinsam (Balanoposthitis) vor. Sie treten bei Rüden jeden Alters auf (BERCHTHOLD 1993). VERSTEGEN (1998) unterscheidet jedoch zwischen einer Balanoposthitis bei präpubertalen Rüden und bei adulten Tieren. Das klinische Erscheinungsbild ist von eitrigem Ausfluss aus der Präputialhöhle geprägt. Während bei präpubertalen Tieren die Mukosa oft keine Entzündungszeichen aufweist, wird

die Balanoposthitis der adulten Rüden von einer deutlichen Rötung der Schleimhaut und Juckreiz begleitet, was eine therapeutische Intervention erforderlich machen kann.

Balanoposthitiden werden von Bakterien verursacht, die auch bei gesunden Rüden zu finden sind. Anscheinend führen nichtmikrobielle Faktoren, die die Immunabwehr der Rüden beeinträchtigen dazu, dass sich bedingt pathogene Keime vermehren und durch Virulenzfaktoren Entzündungssymptome hervorrufen (BARSANTI 1990). Der Nachweis einer bestimmten bakteriellen Flora muss also nicht zwingend mit einer klinischen Erkrankung vergesellschaftet sein. Dagegen wird einer Bakterienspezies, die in Reinkultur und in mittel- bis hochgradigem Keimgehalt vorliegt, klinische Relevanz zugesprochen (KUSTRITZ 2006). Bakterien aus Präputialtupferproben von 30 Rüden mit Präputialausfluss infolge Balanoposthitis, Prostatitis oder Zystitis zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4: Präputialflora bei Rüden mit Präputialausfluss nach KANÉ (1983)

Bakterien	Nachweishäufigkeit (in %)
α-hämolysierende Streptokokken	53,3
S. epidermidis	53,3
S. aureus	40,0
E. coli	23,3
P. multocida	23,3
β-hämolysierende Streptokokken	20,0
Pseudomonas spp.	16,6
Corynebacterium spp.	13,3
Bacillus spp.	13,3
Enterobacter spp.	10,0
Proteus spp.	10,0
Klebsiella spp.	3,3
Mykoplasmen	3,3
Anzahl Hunde (n)	30

2.2.7 Mikrobiologische Befunde von Ejakulatproben

E. coli wurde am häufigsten bei Prostatitiden nachgewiesenen (LING et al. 1983; BARSANTI u. FINCO 1986; GÖRZ 1996). Des Weiteren wurden *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.,* Staphylokokken und Streptokokken in Ejakulatproben beschrieben, wobei eine Keimkonzentration von mehr als 10^5 Koloniebildenden Einheiten pro ml als klinisch relevant angesehen wird (BARSANTI u. FINCO 1986; KUSTRITZ et al. 2005). LING et al. (1983) wiesen bei Rüden mit Prostatitis neben *E. coli* (45,8 %) auch Mykoplasmen (27,1 %) und *S. aureus* (14,6 %) sowie Streptokokken (10,4 %) und Proteus spp. (6,3 %) nach, ferner auch. Seltener (Häufigkeit 2,1 bis 4,2 %) wurden *Pasteurella spp.*, *Micrococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.* und *Klebsiella pneumoniae* isoliert. GÖRZ (1996) stellte in 23 von 52 Prostatasekretproben einen Keimgehalt entsprechender Zusammensetzung fest (Tabelle 5), wobei zusätzlich *S. intermedius* mit einer Häufigkeit von 17,6 % isoliert wurde. BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) fanden in 30,2 % von 232 Ejakulaten von 15 fertilen Rüden einen bakteriellen Keimgehalt. Dabei handelte es sich ausschließlich um Bakterien, die auch aus dem Präputium der Rüden isoliert worden waren. Am häufigsten traten *P. multocida*, β-hämolysierende Streptokokken und *E. coli* auf. Eine Korrelation zwischen Keimgehalt und Samenmängeln bestand nicht (BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG 1992b).

Tabelle 5: Literaturangaben über Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit in Ejakulaten

	Nachweishäufigkeit (%)			
Bakterien	**A**	**B**	**C**	**D**
E. coli	45,8	12,6	3,9	56,5
Mykoplasmen	27,1	57,9	3,4	n.u.
S. aureus	14,6	-	-	-
Streptokokken spp.	10,4	14,7	8,2	26,0
Proteus spp.	6,3	1,1	-	17,4
Pasteurella spp.	4,1	6,3	19,4	-
Micrococcus spp.	2,1	-	-	-
Acinetobacter spp.	2,1	-	-	-
Enterobacter spp.	2,1	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	4,1	1,1	-	4,3
Bacillus spp.	-	1,1	-	-
Koagulaseneg. Staphylokokken	-	1,1	1,7	4,3
Pseudomonas aeruginosa	-	1,1	-	13,0
S. intermedius	-	1,1	0,4	17,4
Proben (=n)	48	95	232	52

A: nach LING u. Ruby (1978), **B:** nach KUSTRITZ et al. (2005), **C:** nach BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b), **D:** nach GÖRZ (1996)

2.2.8 Bedeutung der männlichen Keimflora für die Fruchtbarkeit

Eine Übertragung von Bakterien durch den Deckakt muss nach Erfahrungen von ALLEN und DAGNALL (1982) sowie BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) nicht zwingend zu einer klinischen Erkrankung führen. KUSTRITZ et al. (2005) postulierten ebenfalls, dass der Nachweis eines Keimgehaltes allein keine Aussage über die Fruchtbarkeit eines Rüden erlaubt. Seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit besteht weniger in der direkten Gefahr der venerealen Übertragung sowie der spermiziden Wirkung bakterieller Metabolismusprodukte (JONES u. JOSHUA 1982), als in der Möglichkeit einer bakteriellen Infektion der Genitalorgane des Rüden und darauf beruhender Samenschädigung und herabgesetzter Fruchtbarkeit.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Tiere

3.1.1.1 Patientenhündinnen (Population A)

Es wurden 46 Hündinnen, die zur Deckterminbestimmung oder zur Diagnostik von Fruchtbarkeitsstörungen in der Sprechstunde der Reproduktionsmedizinischen Einheit der Kliniken vorstellig wurden, für diese Studie herangezogen.
Bis auf zwei Mischlingshündinnen handelte es sich bei den Patientenhündinnen um private Zuchthunde von 25 verschiedenen Rassen. 24 Hündinnen waren zum Zeitpunkt der Untersuchung weniger als 4 Jahre alt, 19 Tiere waren zwischen 4 und 8 Jahren und lediglich 3 Tiere waren bereits älter als 8 Jahre (Altersspanne 14 bis 132 Monate).
Alle Hündinnen waren zum Untersuchungszeitpunkt in einem gutem Ernährungs- und Pflegezustand.

3.1.1.2 Beaglehündinnen (Population B)

Weiterhin standen für die Untersuchungen 17 klinikeigene Beaglehündinnen im Alter von 18 bis 85 Monaten zur Verfügung. Das Körpergewicht betrug 11 bis 17 kg (Ø 13,9 kg). Während der gesamten Studiendauer von 13 Monaten wurden die Hündinnen in Vierer- und Fünfergruppen in Freizwingern mit Schutzhütten versehen. Wasser wurde ad libitum bereitgestellt. Die Fütterung mit handelsüblichen, ausgewogenen Trocken- und Feuchtfuttermitteln erfolgte einmal täglich. Alle Beaglehündinnen waren zu jedem Untersuchungszeitpunkt klinisch allgemein- und geschlechtsgesund. Fünf Tiere wurden während dieser Zeit mit Frischsamen eines genitalgesunden, fruchtbaren Beaglerüdens besamt.

3.1.1.3 Rüden (Population C)

Insgesamt gingen 61 Patientenrüden, die von April 2005 bis Mai 2006 in der Sprechstunde der Reproduktionsmedizinischen Einheit der Kliniken zur Zuchttauglichkeitsuntersuchung vorgestellt wurden, in die vorliegende Untersuchung ein. Dabei wurden sowohl gesunde, fruchtbare als auch im Genitale erkrankte, sub- oder infertile Tiere untersucht. Es waren 28 verschiedene Rassen vertreten.
Zusätzlich wurden 4 klinikeigene Beagle-Rüden in die Studie einbezogen. Die Haltung und Fütterung entsprach derjenigen der Hündinnen.
31 Rüden waren zum Zeitpunkt der Untersuchung weniger als 4 Jahre alt, 25 Tiere waren zwischen 4 und 8 Jahren und 9 Tiere waren bereits älter als 8 Jahre (Altersspanne 12 bis 150 Monate). Alle Rüden waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen klinisch allgemeingesund und wiesen einen guten Ernährungs- und Pflegezustand auf.

3.1.1.4 Versuchsziel und -anordnung:

Ziel der vorliegenden Studie war es das Vorkommen und die Häufigkeit von Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum des weiblichen und männlichen Hundes zu ermitteln und festzustellen, ob bestimmte Mykoplasmenspezies in ursächlichem Zusammenhang mit Genitalinfekten und Subfertilität stehen. Aus diesem Grunde wurden sowohl klinisch geschlechtsgesunde als auch im Genitale erkrankte Tiere untersucht.
Darüber hinaus sollte das qualitative und semiquantitative Vorkommen von Mykoplasmen im Vaginaltrakt der Hündin im Verlauf eines Zyklus ermittelt werden, um mögliche zyklusabhängige Veränderungen erfassen zu können.

3.1.2 Material

Die für die andrologischen, spermatologischen, gynäkologischen sowie mikrobiologischen Untersuchungen benötigten Materialien sind im Anhang aufgeführt.

3.1.3 Methoden

3.1.3.1 Anamnese

Vor den jeweiligen Untersuchungen wurde das Kennzeichen der Tiere aufgenommen, das Körpergewicht ermittelt sowie eine gründliche Anamnese bezüglich der Zuchteinsätze, evt. vorausgegangener Genital- und Allgemeinerkrankungen und Behandlungen sowie bei den Hündinnen über den Verlauf und die Intervalle der bisherigen Läufigkeiten erhoben.

3.1.3.2 Hündinnen

Untersuchungszeitpunkte

Population A:

Bei den Patientenhündinnen wurde nur einmalig im Rahmen einer vollständigen gynäkologischen Untersuchung das Vorhandensein von Mykoplasmen untersucht. Zwei Hündinnen, bei denen aufgrund klinischer Symptomatik und des Vorliegens einer Mykoplasmen-Infektion eine antibiotische Therapie durchgeführt wurde, wurden vier Tage nach Ende der Behandlung einer Kontrolluntersuchung auf Mykoplasmen unterzogen. Bei einer weiteren Hündin wurde zusätzlich zum Vaginaltupfer auch eine Probe aus der Plazenta auf Mykoplasmen untersucht, die während einer am selben Tag durchgeführten Sectio caesarea gewonnen wurde. Bei Hündinnen, die zur Deckterminbestimmung vorgestellt wurden, wurde das Ergebnis der ca. 4 Wochen später durchgeführten sonographischen Trächtigkeitsuntersuchung vermerkt und in die Auswertung einbezogen.

Population B:

Bei den klinikeigenen Beaglehündinnen wurden an fünf definierten Zeitpunkten des Zyklus im Rahmen einer vollständigen gynäkologischen Untersuchung Vaginaltupfer entnommen und auf Mykoplasmen sowie die übrige bakterielle Scheidenflora untersucht, um zyklusabhängige Veränderungen erfassen zu können (Tabelle 6). Zusätzlich wurde bei einer Hündin unmittelbar nach der Geburt eine Plazentaprobe auf Mykoplasmen untersucht.

Tabelle 6: Untersuchungszeitpunkte (U) im Zyklusverlauf der Beaglehündinnen

U 1:	1. oder 2. Tag des Proöstrus	frühe Follikelreifungsphase	(Proöstrus)
U 2:	Östrus post ovulationem	Gelbkörperanbildung	(Östrus)
U 3:	4 Wochen post ovulationem	hohe Gelbkörperaktivität	(Metöstrus 1)
U 4:	12 Wochen post ovulationem	Endometriumsreparation	(Metöstrus 2)
U 5:	20 Wochen post ovulationem	Anöstrus	(Anöstrus)

3.1.3.3 Gynäkologische Untersuchung

Zur Bestimmung des Zyklusstandes und der klinischen Geschlechtsgesundheit wurde bei jeder Hündin eine gynäkologische Untersuchung (GÜNZEL-APEL 1997) durchgeführt und die Beschaffenheit des äußeren Genitale und des Gesäuges, das Aussehen der Vaginalschleimhaut und die Zusammensetzung der Vaginalepithelzellen erfasst und dokumentiert. Darüber hinaus wurde zur Charakterisierung der Gelbkörperaktivität die Progesteronkonzentration und zusätzlich in der Beaglehündinnengruppe auch 17ß-Östradiol im peripheren Blutserum analysiert. Die sonographische Untersuchung von Uterus und Ovarien diente der morphologisch-anatomischen Beurteilung der Organe unter Berücksichtigung des Zyklusstandes. Im Zuge der vaginoskopischen Untersuchung wurde je eine Vaginaltupferprobe zur mikrobiologischen Untersuchung auf Mykoplasmen und den bakteriellen Keimgehalt entnommen.

Untersuchung und Beschaffenheit des äußeren Genitale

Die Vulva wurde adspektorisch und palpatorisch untersucht. Dabei wurde die Ödematisierung und Konsistenz der Vulva sowie die Menge und Beschaffenheit des aus der Vulva abtropfenden Sekretes oder Ausflusses erfasst und in folgende Kategorien eingeteilt (Tabelle 7):

Tabelle 7: Beschaffenheit des äußeren Genitale

Vulva	Ödematisierung	gering-, mittel-, hochgradig
	Konsistenz	weich, prall, teigig
Sekret/Ausfluss	Menge	</> drei Tropfen
	Konsistenz	wässrig, mukös, dickflüssig
	Farbe	fleischwasserfarben, rötlich (blutig), bräunlich, gelblich, trüb, klar

Vaginoskopische Untersuchung

Zur Adspektion der Vaginalschleimhaut wurde nach trockener Reinigung der Vulva mit einem sauberen Zellstofftuch und unter Spreizen der Labien ein steriles und mit steriler isotonischer Kochsalzlösung befeuchtetes Röhrenspekulum (Modell Hannover, Eickemeyer, Tuttlingen) in den mittleren bis kranialen Abschnitt der Scheide eingeführt. Unter zur Hilfenahme einer Lichtquelle erfolgte die Adspektion der Scheidenschleimhaut hinsichtlich der Ödematisierung, der Faltenbildung und –form, der Farbe, der Feuchtigkeit und der Beschaffenheit des Sekrets in der bei GÜNZEL-APEL (1997) beschriebenen Weise.

Vaginalzytologische Untersuchung

Bei der Entnahme des Zellmaterials für die zytologische Untersuchung aus dem Cavum vaginae wurde in der von GÜNZEL und KOIVISTO (1984) beschriebenen Weise verfahren.

Ein mit steriler isotonischer Kochsalzlösung angefeuchteter, keimfreier Wattestieltupfer wurde durch das Spekulum vorgeschoben und unter drehenden Bewegungen ein Schleimhautabstrich gewonnen. Das dem Tupfer anhaftende Zellmaterial wurde unverzüglich auf einem vorgefärbten Objektträger (Testsimplet®, Fa. Boehringer, Mannheim) in vier bis fünf Bahnen ausgerollt, mit Merckofix®-Spray (Fa. Merck, Darmstadt) fixiert, mittels Eukitt® (Fa. Kindler, Freiburg) und Deckglas für die mikroskopische Untersuchung im Hellfeld (Okular x 8, Objektiv x 16 und Objektiv x 40) präpariert. Bei der Befunderhebung wurden die Epithelzellen in Basal-,

Parabasal-, Intermediär-, Superfizialzellen und Schollen differenziert, bezüglich ihrer Lage (einzeln oder in Haufen) charakterisiert und nach ihrer Häufigkeit gestaffelt notiert. Außerdem wurde der Ausstrichhintergrund noch bezüglich eventueller Sekretschlieren beurteilt und das Vorkommen von Leukozyten, Erythrozyten und Bakterien semiquantitativ erfasst.

Bestimmung der Hormonkonzentrationen im peripheren Blutserum

Zur Bestätigung und Kontrolle der als Untersuchungszeitpunkte gewählten Zyklusphasen bei den Beaglehündinnen sowie zur Zyklusdiagnostik bei den Patientenhündinnen wurde Progesteron im peripheren Blutserum analysiert. Dafür wurde durch Punktion der Vena cephalica antebrachii ca. 10 ml Blut entnommen und bei 3000 x g 10 Minuten zentrifugiert und anschließend das Serum abpipettiert. Die Hormonanalysen erfolgten durch Mitarbeiter des Endokrinologischen Labors des Chemischen Instituts der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover mittels des Chemilumineszenz-Enzymimmunoassays (Immulite®, Progesteron, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Bad Nauheim, Deutschland) mit einer Sensitivität von 0,05 ng/ml.

Sonographische Untersuchung von Ovarien und Uterus

Die Ultraschalluntersuchung von Uterus und Ovarien erfolgte in Seitenlage der Hündin in der bei GÜNZEL-APEL (1994) beschriebenen Weise. Dabei kamen Konvexschallköpfe mit einer Frequenz von 5,0 bis 10,0 MHz sowie ein Linearschallkopf mit einem Auflösungsvermögen von 10,0 bis 12,0 MHz zum Einsatz (Ultraschallgerät Logic Pro 5, Firma Scil animal care, Viernheim). Es wurden die Größe der Ovarien, das Vorhandensein und die Ausmaße eventueller Funktionskörper sowie der Durchmesser, die Wanddicke und eine evt. vorhandene Flüssigkeitsfüllung des Uterus erfasst.

3.1.3.4 Gewinnung der Vaginaltupferproben für die Untersuchung auf Mykoplasmen und die bakteriologische Routinediagnostik

Die Entnahme der Vaginalsekretproben zur Untersuchung auf Mykoplasmen wurde grundsätzlich allen weiteren Probengewinnungen vorangestellt, um eine Einschleppung von Keimen in die Scheide bzw. eine Verunreinigung der Tupferproben zu verhindern. Sofort im Anschluss daran wurde der Vaginaltupfer zum Nachweis des bakteriellen Keimgehaltes entnommen.

Unmittelbar nach dem Einführen des Spekulums wurde ein steriler, trockener Wattestieltupfer in das Cavum vaginae vorgeführt und durch streichende, drehende Bewegungen Sekret abgestrichen. Anschließend wurde der Tupfer für den Mykoplasmennachweis in ein kommerzielles Flüssigmedium (Mycoplasma liquid®, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) überführt. Der zweite Tupfer für den bakteriellen Keimnachweis wurde auf gleiche Weise gewonnen und in ein Amies-Transportmedium verbracht.

3.1.3.5 Rüden

3.1.3.6 Andrologische Untersuchung

Jeder Rüde wurde auf seine klinische Allgemein- und Geschlechtsgesundheit, phänotypische genitale Erbgesundheit, Begattungs- und Befruchtungsfähigkeit wie bei GÜNZEL-APEL (1994) beschrieben untersucht. Dazu wurde eine Samengewinnung mit anschließender biologischer Samenuntersuchung sowie morphologische und sonographische Untersuchung der Genitalorgane durchgeführt. Im Rahmen der andrologischen Untersuchung wurden Präputialsekrettupfer für den Mykoplasmennachweis sowie Proben aus einer der verschiedenen Ejakulatfraktionen (im Folgenden Ejakulatproben) für die Untersuchung auf den Mykoplasmen- und bakteriellen Keimgehalt gewonnen.
Die Patientenrüden wurden bis auf zwei Ausnahmen nur einmalig auf das Vorhandensein von Mykoplasmen untersucht. Zwei Rüden, bei denen aufgrund einer chronischen Epididymiditis einhergehend mit Dysspermie und des Vorliegens einer Mykoplasmen-Infektion eine antibiotische Therapie durchgeführt worden war, wurden nach Ablauf einer Spermatogenese drei Monate später erneut auf ihre Zuchttauglichkeit sowie auf Mykoplasmen untersucht.

Funktionelle Untersuchung inkl. Samengewinnung

Die Samengewinnung (KRAUSE 1965; GÜNZEL-APEL 1994) erfolgte in Anwesenheit einer läufigen Hündin durch manuelle Stimulation (Massage) und Fixation des Penis immer durch dieselbe Person. Die einzelnen Ejakulatphasen (Vorsekret, spermienreiche, spermienarme und spermienfreie Phase (Nachsekret)) wurden fraktioniert in graduierten, auf 38°C angewärmten Tulpengläsern aufgefangen.

Morphologische Untersuchung der Genitalorgane inkl. Sonographie

Die adspektorische und palpatorische Untersuchung von Penis, Präputium, Hodensack, Hoden, Nebenhoden, Samenstränge, Hodensacklymphknoten und Prostata erfolgte in der bei GÜNZEL-APEL (1994) beschriebenen Weise. Dabei wurde auf das vollständige Vorhandensein sowie die in Relation zur Körpergröße und zum Alter des Rüden entsprechende Ausprägung der Organe geachtet. Im Wesentlichen wurden folgende Parameter erhoben: Größe, Form, Symmetrie, Lage, Konsistenz, Wärme, Schmerzhaftigkeit, Verschiebbarkeit sowie Intaktheit der äußeren Haut.

Zur Sonographie der Hoden und Nebenhoden kam ein 12 MHz- Linearschallkopf zum Einsatz, für die Prostatadiagnostik ein Konvexschallkopf im Frequenzbereich 6,0 bis 10,0 MHz.

Bei der Sonographie wurde die Homogenität des Organparenchyms, die Ausprägung des Mediastinum testis, die Größe des Nebenhodens unter besonderer Berücksichtigung des Nebenhodenschwanzes, die Höhe und Breite sowie Symmetrie des Prostataquerschnittes beurteilt.

Biologische Samenuntersuchung

Der Nativsamen wurde gemäß der von KRAUSE (1965) und GÜNZEL-APEL (1994) beschriebenen Vorgehensweise untersucht. Zur Einschätzung und Beurteilung der erhobenen Ejakulatparameter und für die Diagnosestellung von Normo-, Dys- und Pathospermie wurden die von GÜNZEL-APEL (1994) erarbeiteten Normrichtwerte herangezogen. Rüden mit Normospermie wurden mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit als befruchtungspotent beurteilt, während bei Dys- bzw. Pathospermie eine in unterschiedlichem Grad herabgesetzte Befruchtungspotenz angenommen wurde (WEITZE 2001).

Von jeder Ejakulatfraktion wurde makroskopisch das Volumen in ml, die Konsistenz und die Farbe bestimmt. Mittels Spezial-Indikatorpapier „Merck“ wurde der pH-Wert geprüft. Durch anschließende Phasenkontrastmikroskopische Untersuchung (bei 160-facher Vergrößerung, mit Heiztisch) der spermienreichen Ejakulatphase wurden die Anteile vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien (%) geschätzt und mittels computergestützter Motilitätsanalyse (Cell-Motion-Analyser, Medical Technologies, Montreuax, Schweiz) erfasst. Danach erfolgte die Bestimmung der Spermienkonzentration (Mio./ml) im Zählkammerverfahren und die Berechnung der

Spermiengesamtzahl (Mio.) (Spermienkonzentration x Volumen der spermienreichen Phase) im Ejakulat. Zur Ermittelung des Anteils membrangeschädigter Samenzellen wurde die Propidiumiodid-Färbung (PI) verwendet (HARRISON u. VICKERS 1990). Die Bestimmung des Anteils formabweichender Spermien (%) erfolgte in Flüssigfixation mit Formolzitrat. Dabei wurden Veränderungen der Kopfkappe, der Spermienköpfe und -hälse, des Verbindungs-, Haupt- und Endstücks sowie Doppel- und Mehrfachmissbildungen differenziert.
Eventuell vorhandene Beimengungen zum Ejakulat (Erythrozyten, Leukozyten, Rundzellen) wurden semiquantitativ erfasst und notiert.

3.1.3.7 Gewinnung des Präputialtupfers für den Mykoplasmennachweis:

Bei den ersten 28 von 65 Rüden wurde zusätzlich zu den Ejakulatproben ein Präputialtupfer entnommen.
Um einer Verunreinigung der Präputialtupferproben vorzubeugen wurde die Entnahme des Untersuchungsmaterials für den Mykoplasmennachweis grundsätzlich allen weiteren Manipulationen vorangestellt. Nach trockener Reinigung der Präputialöffnung wurde ein steriles Röhrenspekulum (Durchmesser 8mm) in das Präputium seitlich der Glans penis eingeführt und bis zur Umschlagsstelle des Innenblattes in das Penisblatt des Präputialschlauches im Bereich des Bulbus glandis vorgeschoben. Dort wurde mittels eines sterilen Wattestieltupfers das Probenmaterial für den Mykoplasmennachweis abgestrichen und der so gewonnene Präputialtupfer in ein kommerzielles Flüssigmedium für Mykoplasmen überführt (Mycoplasma liquid, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) werden.

3.1.3.8 Gewinnung einer Ejakulatprobe für den Mykoplasmennachweis und die bakteriologische Routinediagnostik

Unmittelbar nach der Samenentnahme wurde mittels steriler Pipette von jedem Ejakulat 0,5 ml in ein Mykoplasmen-Flüssigmedium (Mycoplasma liquid, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) überführt. Eine weitere Probe von 0,5 ml wurde zur Bestimmung des bakteriellen Keimgehaltes in ein steriles Einzelportionsröhrchen pipettiert. Insgesamt wurden 12 Vorsekrete, 24 Proben der spermienreichen Phase und 29 Nachsekrete untersucht.

3.1.4 Bakteriologische Untersuchungen

Die Tupfer- und Ejakulatproben wurden innerhalb von max. 4 Stunden in das Institut für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover zur bakteriologischen Untersuchung gebracht.

Das Probenmaterial wurde auf folgenden Nährböden ausgestrichen und jeweils 48 Stunden unter aeroben Bedingungen bei 37 °C bebrütet: Blut-Agar mit 7 % Rinderblut, Staphylokokken-Streptokokken-Selektivagar (Blut-Agar mit Staphylokokken-Streptokokken-Supplement (Oxoid)) und Gassner-Agar (Oxoid).

Zusätzlich wurden die Proben nach dem Direktausstrich für 24 Stunden in Nährbouillon überführt und bei 37°C bebrütet. Aus dieser Anreicherung wurde auf Blut-, Gassner- und Blutagar mit Staphylokokken-, Streptokokken- Supplement isoliert.

Die Auswertung der Kulturen wurde wie folgt semiquantitativ erfasst:

geringgradiger Gehalt - <30 Kolonien oder nur über Anreicherung

mittelgradiger Gehalt - 30 bis 100 Kolonien

hochgradiger Gehalt - >100 Kolonien

Die Differenzierung der angezüchteten Keime erfolgte mittels der konventionellen bunten Reihe oder mittels eines kommerziellen Differenzierungssystems (Api 20 NE, Api 20 E, Fa. bioMerieux, Nürtingen).

3.1.5 Mykoplasmennachweis

3.1.5.1 Anzucht der Mykoplasmen

Die Anzucht der Mykoplasmenproben erfolgte stets durch dieselbe Person, um mögliche Einflüsse des Untersuchers auf die Ergebnisse zu minimieren.

Ein Mykoplasmennähragar (Mycoplasma solid, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) wurde direkt mit 50 µl von dem mit dem Probenmaterial (Vaginal- und Präputialsekret, Ejakulat) versetzten Flüssigmedium (Mycoplasma liquid, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) beimpft. Auch wurden von jeder Flüssigmediumprobe drei Röhrchen nach Art einer Verdünnungsreihe angelegt. Dazu wurden vom Proben-ML-Röhrchen 0,2 ml in ein zweites Röhrchen abpipettiert, und erneut 0,2 ml aus dem zweiten Röhrchen in ein drittes ML-Röhrchen überführt.

Die Flüssigmedien wurden ca. 3-5 Tage bei 37°C und 5%iger CO_2-Atmosphäre bebrütet und nach Umschlag des Indikators nach gelb wurden jeweils 50 µl der

Medien auf Mycoplasma solid-Platten (jeweils) überimpft. Die beimpften MS-Platten wurden nach dreitägiger Bebrütung (37 °C, 5 % CO_2) untersucht.
Das Ablesen der MS-Platten erfolgte unter dem Stereomikroskop bei bis zu 50-facher Vergrößerung. Platten ohne Mykoplasmenwachstum wurden weitere 10 Tage bebrütet und alle 2 bis 3 Tage mikroskopisch untersucht. Bei für die Differenzierung und Asservierung noch nicht ausreichendem Wachstum wurden Blöcke mit Kolonien aus dem festen Medium ausgeschnitten und in Flüssigmedium erneut für 5 bis 8 Tage bebrütet, um anschließend auf MS-Platten subkultiviert zu werden.
Bei gutem Wachstum wurden die Proben in Flüssigmedium überführt und durch Lagerung bei -70 °C für die weitere Differenzierung asserviert.
Die Differenzierung mittels Kolonieblot erfolgte entweder aus den asservierten Mykoplasmenproben oder aus den Direktkulturen.

3.1.5.2 Mykoplasmendifferenzierung

Für die Differenzierung wurden entweder die nach der Asservierung erneut auf Mycoplasma solid kultivierten Mykoplasmenproben oder noch nicht asservierte Direktkulturen herangezogen. Die Mykoplasmendifferenzierung erfolgte mittels nach KOTANI und McGARRITY (1985a, b) modifiziertem Immunobindingassay.
Auf der Unterseite einer Agarplatte wurden mit einem wasserfesten Edding so viele gut bewachsene Bereiche eingekreist, wie Antiseren getestet werden sollten. Mit einer Pinzette wurden die vorher ausgestanzten Nitrocellulose-Filter (NC) vorsichtig auf die Kulturoberfläche aufgelegt. Nach 5 Minuten wurden die NC vorsichtig mit einer Pinzette abgehoben und mit der koloniebedeckten Seite nach oben in die Vertiefungen einer Makrowellplatte überführt werden. Anschließend erfolgte bei Raumtemperatur die Inkubation der NC mit jeweils 300 µl der zu testenden Antiseren (in einer Gebrauchslösung von 1:1000) in PBS für 30 bis 60 Minuten auf einem Rüttler. Danach wurden die Antiseren mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt, die Makrowells mit 500 µl PBS aufgefüllt und erneut 5 Minuten gerüttelt. Dieser Waschvorgang wurde zweimal wiederholt, um nicht gebundene Immunglobuline zu entfernen.
Anschließend erfolgte die Inkubation des Kolonieblots mit 300 µl Konjugat Goat-anti-rabbit, gegen Kaninchen-Immunglobulin gerichtete Ziegenantikörper, markiert mit Peroxidase (GAR/IgG (H+L)/PO) bei Raumtemperatur auf einem Rüttler. Das Konjugat, das als Vorverdünnung 1:100 bei -70°C ein gefroren vorlag, wurde vorher

unter Lichtausschluss aufgetaut und zur Arbeitsverdünnung 1:500 in PBS überführt. Nach 30- bis 60-minütiger Inkubation wurde dreimal mit PBS gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Die frische Substratlösung (Rezept s. Anhang) wurde zubereitet, indem das 12,0 mg 4-Chlor-1-Naphtol in 4,0 ml Methanol gelöst und dann tropfenweise in 20,0 ml PBS gegeben wurde. Erst unmittelbar vor Gebrauch wurde die Lösung mit 20,0 µl Wasserstoffperoxid (30%ig) versetzt. Auf jedes NC wurde 300 bis 500 µl der Substratlösung gegeben und die Makrowellplatte erneut ca. 10 Minuten bis zur Entwicklung einer deutlichen Farbreaktion (Immunkomplexbildung) auf einen Wipptisch gestellt.
Anschließend wurde die Reaktion durch Absaugen der Substratlösung gestoppt und die NC über Nacht bei Raumtemperatur luftgetrocknet.

Antiseren und Konjugate

Es wurden Antiseren gegen folgende Mykoplasmen-Spezies für den Kolonieblot eingesetzt:
M. arginini G 230 ATCC 23838
M. canis PG 14 ATCC 19525
M. cynos H 813 ATCC 27544
M. edwardii PG 24 ATCC 23462
M. felis CO ATCC 23391
M. feliminutum ATCC 25749
M. gatae CS ATCC 23392
M. maculosum PG 15 ATCC 19327
M. molare H 542 ATCC 27746
M. spumans PG 13 ATCC 19526
M. opalescens MH 5408
A. laidlawii PG 8 ATCC 23206
Die Kaninchen-Hyperimmunseren wurden im Institut für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover hergestellt.
Bei jedem Immunoblot wurde zunächst auf *M. arginini*, *M. canis*, *M. cynos*, *M. edwardii* und *M. felis* getestet. Bei fehlender oder nur mäßiger Reaktion der Kolonien wurden alle 11 Antiseren eingesetzt.

Auswertung des Immunobindingassays

Die typische Koloniemorphologie der Mykoplasmen war bei der lichtmikroskopischen Auswertung (Stereomikroskop) bei 32 bis 58-facher Vergrößerung erkennbar.
Positive Kolonien wurden anhand der blauvioletten Farbe ihrer immunologischen Komplexe charakterisiert und semiquantitativ (schwach positiv (+), einige Kolonien deutlich gefärbt +, mehr als die Hälfte der Kolonien gefärbt ++, alle Kolonien gefärbt +++) erfasst. Negative Kolonien erschienen weißlich. Bei Vorliegen positiver Kolonien bei mehreren Antiseren wurden schwache Reaktionen ((+)) als Kreuzreaktionen und die starken Reaktionen (++, +++) als relevant beurteilt.

3.1.6 Statistische Analysen

Die erhobenen Daten wurden zur statistischen Berechnung in das Programm SAS (Statistical Analysis System®), Version 9.1, übertragen. Bei der Bewertung statistischer Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0{,}05$ (5 %) zugrunde gelegt, d.h. Ergebnisse mit $p < 0{,}05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

Hündinnen

Zur statistischen Auswertung der erhobenen Befunde wurden die Hündinnen nach folgenden Kriterien in Gruppen eingeteilt: Alter (< 4 Jahren, 4 bis 8 Jahre, > 8 Jahre); Genitalgesundheitsstatus (gesund, im Genitale erkrankt), Zuchtstatus (noch nicht im Zuchteinsatz, bereits im Zuchteinsatz), Zyklusphase (frühe Follikelphase (Proöstrus), Gelbkörperanbildung (Östrus post ovulationem), Gelbkörperphase (Metöstrus 1), Endometriumsreparation (Metöstrus 2), Anöstrus), Graviditätsstatus (tragend, nicht tragend), Mykoplasmennachweis (ja, nein), einzelne Mykoplasmenspezies (ja, nein), einzelne Bakterienspezies (ja, nein). Es wurden ausschließlich qualitative Merkmale erhoben werden. Zur Prüfung der Häufigkeitsverteilung von Mykoplasmen oder einer bestimmten Mykoplasmenspezies im Genitaltrakt in den verschiedenen Gruppen, wurde der Chi-Quadrat-Homogenitätstest bzw. Fisher`s Exact Test (Signifikanzniveau 5 %) durchgeführt. Zur Beschreibung des Zusammenhangs zweier Befunde an denselben Tieren wurde der Konkordanzindex kappa berechnet.

Rüden

Die statistische Auswertung der Daten der Rüdengruppe berücksichtigt folgende Merkmale: Alter (< 4 Jahren, 4 bis 8 Jahre, > 8 Jahre), Genitalgesundheitsstatus

(gesund einhergehend mit Normospermie, im Genitale erkrankt einhergehend mit Samenmängeln (Dys- und Pathospermie), Zuchtstatus (noch nicht im Zuchteinsatz, bereits im Zuchteinsatz), Prostatastatus (Hämospermie ja, nein), Hoden/Nebenhodenbefund (ohne Veränderung, Veränderung erworben, Veränderung congenital, Veränderung erworben und congenital), Spermiogramm (Normospermie, Oligozoospermie, Azoospermie, Asthenozoospermie) Teratozoospermie nach Ausprägung (keine, ggr., mgr., hgr.), Ursachen der Teratozoospermie (keine, primäre, sekundäre), Mykoplasmennachweis (ja, nein), einzelne Mykoplasmenspezies (ja, nein), einzelne Bakterienspezies (ja, nein).

Es wurden überwiegend qualitative Merkmale erhoben werden. Zur Prüfung der Häufigkeitsverteilung von Mykoplasmen oder einer bestimmten Mykoplasmenspezies im Genitaltrakt in den verschiedenen Gruppen, wurde der Chi-Quadrat-Homogenitätstest bzw. Fisher`s Exact Test (Signifikanzniveau 5 %) durchgeführt. Zur Beschreibung des Zusammenhangs zweier Befunde an denselben Tieren wurde der Konkordanzindex kappa berechnet.

Um die Abhängigkeit zwischen dem Vorkommen von Mykoplasmen im Genitaltrakt der Rüden und dem Anteil von Spermien mit Plasmatropfen (proximale und distale, insgesamt) zu untersuchen, wurde nach Prüfung auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test $Pr < W < 0,0001$) der Wilcoxon´s two-sample-test (U-Test) für unabhängige Stichproben durchgeführt (Signifikanzniveau 5 %).

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Patientenhündinnen (Population A)

3.2.1.1 Gynäkologischer Status

Es wurden 46 Hündinnen gynäkologisch untersucht. 32 Hündinnen waren klinisch geschlechtsgesund, während bei 14 Tieren aufgrund vaginalzytologischer und sonographischer Befunde eine Erkrankung des Uterus oder der Vagina diagnostiziert wurde. Dabei handelte es sich in acht Fällen (17,4 %) um eine eitrige Endometritis (Pyometra) und bei je drei Hündinnen (6,5 %) um eine subklinische Endometritis oder eine Vaginitis. 16 Tiere (34,8 %) wurden vor dem ersten Zuchteinsatz untersucht. Die übrigen 30 (65,2%) der in die Studie eingegangenen Hündinnen waren bereits einmal oder mehrfach zur Zucht verwendet worden. Bei den 46 Patientenhündinnen wurden folgende Zyklusphasen festgestellt: Follikelphase (n = 19), Östrus nach Ovulation (n = 2), Phase der Gelbkörperaktivität (n = 10), Endometriumsreparation (n = 6), Anöstrus (n = 9).

3.2.1.2 Mykoplasmennachweis

Aus 28 der 46 Vaginaltupfer (60,9 %) wurden Mykoplasmen isoliert. Zu den insgesamt 36 Mykoplasmenisolaten wurden sechs kanine Mykoplasmenspezies (*M. canis, M. cynos, M. felis, M. edwardii, M. arginini, A. laidlawii*) differenziert (Tabelle 8).

Tabelle 8: Vorkommen kaniner Mykoplasmenspezies in Vaginaltupferproben von 28 Hündinnen

Keimgehalt:	**geringgradig**		**mittelgradig**		**hochgradig**		**insgesamt**	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. canis	4	14,3	4	14,3	6	21,4	14	50,0
M. felis	2	7,1	2	7,1	4	14,3	8	28,6
M. edwardii	1	3,6	1	3,6	5	17,9	7	25,0
M. cynos	1	3,6	3	10,7	1	3,6	5	17,6
M. arginini	-	-	1	3,6	-	-	1	3,6
A. laidlawii	-	-	1	3,6	-	-	1	3,6

Am häufigsten wurde *M. canis* (50,0 %) nachgewiesen, gefolgt von *M. felis* (28,6 %) und *M. edwardii* (25,0 %). *M. cynos* wurde in 17,6 % und *M. arginini* und *A. laidlawii* nur in je 3,6 % der Proben differenziert.
Aus 21 der Proben (75,0 %) wurde nur eine, aus den restlichen sieben Proben (25,0 %) mehr als eine Mykoplasmenspezies isoliert. bei 25,0 % (7) der Proben wurde mehr als eine Spezies differenziert. Dabei wurden *M. canis* und *M. edwardii* öfter in Reinkultur als in Mischkultur nachgewiesen, während *M. cynos* überwiegend in Mischkultur mit anderen Mykoplasmen auftrat. *M. felis* war gleichermaßen in Mono- und in Mischkultur anzutreffen (Tabelle 9).

Tabelle 9: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur

	Reinkultur		**Mischkultur**	
Mykoplasmen	**n**	**%**	**n**	**%**
M. canis	10	71,4	4	28,6
M. felis	4	50,0	4	50,0
M. edwardii	5	71,4	2	28,6
M. cynos	2	40,0	3	60,0
M. arginini	-	-	1	100,0
A. laidlawii	-	-	1	100,0
Gesamt	21	58,3	15	41,7

In allen drei Altersgruppen konnten Mykoplasmen nachgewiesen werden. Bei 58,3 % der Hündinnen unter 4 Jahren, bei 63,2 % der Tiere zwischen 4 und 8 Jahren und bei 66,7 % der Hunde, die älter als 8 Jahre waren. Hinsichtlich der Alterstruktur zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (chi-square: $p > 0,05$).

Unter Berücksichtigung aller 46 Vaginaltupferproben betrug die durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Vaginaltupferprobe 0,78. In der Gruppe der Hündinnen mit klinisch manifester Genitalerkrankung (n = 14) lag die Anzahl der Isolate je Probe mit (1,07) etwas höher als bei den gesunden Tieren mit 0,66 (n = 32) (Tabelle 10).

Tabelle 10: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Vaginaltupferprobe

	Gesamtpopulation (n = 46)	genitalgesund (n = 32)	genitalerkrankt (n = 14)
Isolate (n)	36	21	15
Ø Isolate / Probe	0,78	0,66	1,07
Negative Proben (n / %)	18 / 39,1	14 / 43,6	4 / 28,6

Mykoplasmen wurden bei 56,3 % der 32 klinisch geschlechtsgesunden (n = 18) und bei 71,4 % der 14 an Genitalerkrankungen leidenden Hündinnen (n = 10) festgestellt. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant (Fisher`s exact test: p = 0.5128).

Von den erfassten Mykoplasmenspezies kam *M. canis* sowohl bei gesunden Hündinnen als auch bei den genitalerkrankten Tieren am häufigsten (je zu 50 %) vor. *M. edwardii* und *M. cynos* wurden in beiden Gruppen etwa gleich häufig festgestellt, während *M. felis* öfter in Vaginaltupferproben erkrankter Hündinnen (krank 40,0 %, gesund 22,2 %) zu finden war. Die Unterschiede waren nicht signifikant (chi-square: p > 0,05).

Mykoplasmen ließen sich annähernd gleich häufig bei Tieren vor dem ersten Zuchteinsatz (56,3 %) und bei bereits in der Zucht befindlichen Hündinnen (63,3 %) nachweisen (Tabelle 11). *M. cynos* war deutlich häufiger bei Hündinnen zu finden, die noch nicht gedeckt worden waren (Fisher´s exact test: p = 0.6446).

Tabelle 11: Vorkommen von Mykoplasmenspezies bei Hündinnen vor des ersten Zuchteinsatzes und nach einem oder mehrerer Zuchteinsätze

	vor dem Zuchteinsatz (n = 16)		im Zuchteinsatz (n = 30)	
Mykoplasmenspezies	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
Mykoplasmenpositiv	9	56,3	19	63,3
M. canis	4	44,4	10	52,6
M. felis	1	11,1	7	36,8
M. edwardii	2	22,2	5	26,3
M. cynos	4	44,4	1	5,3
M. arginini	1	11,1	-	-
A. laidlawii	1	11,1	-	-

Semiquantitative Ergebnisse

In 22,2 % der Mykoplasmen-positiven Proben war ein geringgradiger, in 33,3 % ein mittelgradiger und in 44,4 % ein hochgradiger Gehalt an Mykoplasmen nachweisbar. Hinsichtlich des Vorkommens von Mykoplasmen bestanden zwischen den Hündinnengruppen fast keine Unterschiede. Bei Tieren, die noch nicht in der Zucht eingesetzt worden waren, wurden deutlich häufiger Vaginaltupfer mit einem hochgradigen Gehalt an Mykoplasmen nachgewiesen, während bei Zuchttieren Mykoplasmen annähernd gleichermaßen in gering-, mittel- und hochgradigem Gehalt auftraten (). Auffällig ist, dass der semiquantitative Mykoplasmengehalt in den verschiedenen Hündinnengruppen am häufigsten hochgradig ist (
Abbildung 1,
Abbildung 1). Bezüglich des semiquantitativen Vorkommens der Mykoplasmen im Genitaltrakt der Hündin ergaben sich keine statistisch abgesicherten Unterschiede (Chi-Quadrat-Homogenitätstest bzw. Fisher`s Exact Test: $p > 0,05$).

Abbildung 1: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei gesunden und genitalerkrankten Hündinnen

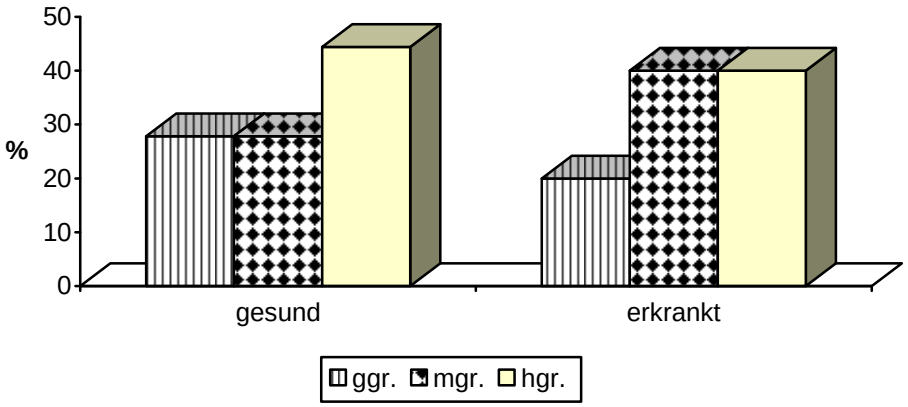
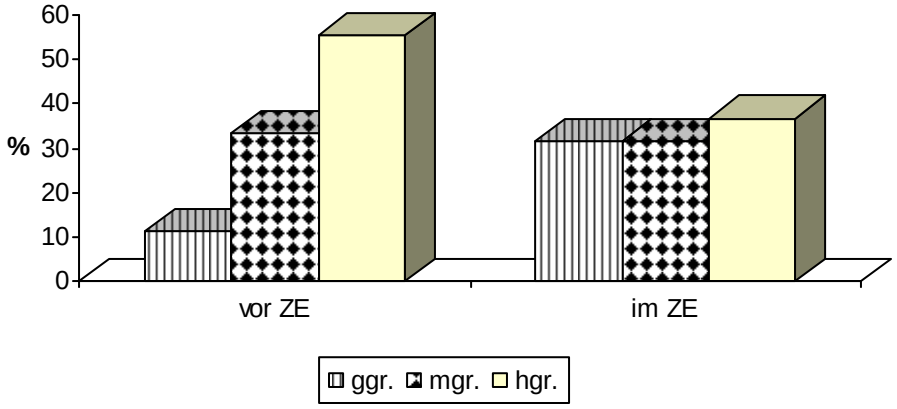


Abbildung 2: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei Hündinnen vor und während des Zuchteinsatzes (ZE)



3.2.1.3 Bakteriologische Vaginalbefunde

Von 46 Vaginaltupferproben wiesen nur zwei 2 Proben (4,3 %) keine aerobe Keimflora auf. In den übrigen 44 Proben wurden insgesamt 99 Keimisolate qualitativ und semiquantitativ bestimmt, die sich aus 13 verschiedenen Keimarten zusammensetzten (Tabelle 12).

Tabelle 12: Vorkommen verschiedener Bakterienarten und semiquantitative Nachweishäufigkeit in Vaginaltupferproben (n = 44)

Keimgehalt	insgesamt		ggr.		mgr.		hgr.	
Bakterienart	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Pasteurella spp.	18	40,9	5	11,4	8	18,2	5	11,4
α-/anhämol. Streptokokken	18	40,9	13	29,5	4	9,1	1	2,3
S. canis	16	36,4	10	22,7	4	9,1	2	4,5
S. intermedius	11	25,0	11	25,0	-	-	-	-
E. coli (hämol.)	9	20,5	8	18,2	1	2,3	-	-
Koagulaseneg. S.	7	15,9	7	15,9	-	-	-	-
E. coli (anhämol.)	5	11,4	3	6,8	1	2,3	1	2,3
Enterococcus spp.	5	11,4	4	9,1	1	2,3	-	-
Actinomyces spp.	4	9,1	1	2,3	2	4,5	1	2,3
Proteus spp.	3	6,8	2	4,5	1	2,3	-	-
Bacillus sp	1	2,3	1	2,3	-	-	-	-
Ps. aeruginosa	1	2,3	1	2,3	-	-	-	-
S. aureus	1	2,3	1	2,3	-	-	-	-

Am häufigsten wurden *Pasteurella spp.*, α - und anhämolysierende Streptokokken, *Sc. canis*, hämolysierende und anhämolysierende *E. coli* sowie *S. intermedius* nachgewiesen.

Bei 31 (96,9 %) der klinisch geschlechtsgesunden Hündinnen und bei 13 (92,6 %) der Hündinnen mit einer Uteropathie wurde ein vaginaler Keimgehalt nachgewiesen. *Pasteurella spp.* und *S. intermedius* wurden häufiger bei den genitalgesunden Tieren isoliert, während α - und anhämolysierende Streptokokken, *Sc. canis*, Enterokokken

und *E. coli* häufiger in der Gruppe der Hündinnen mit klinisch manifester Genitalerkrankung gefunden wurden. Für *E. coli* (anhämolysierende und hämolysierende) war der Unterschied signifikant (Fisher`s exact test: p = 0,0107).

Tabelle 13: Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit bei geschlechtsgesunden Hündinnen und bei Hündinnen mit Uteropathie

	genitalgesund		**Uteropathien**	
	n = 32		**n = 14**	
Keimarten	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
Pasteurella spp.	15	46,8	3	21,4
α-/anhämol. Streptokokken	12	37,5	6	42,9
Sc. canis	10	31,3	6	42,9
S. intermedius	10	31,3	1	7,2
E. coli (gesamt)	6	18,8	8	57,1
E. coli (hämol.)	5	15,6	4	28,6
Koagulaseneg. Staphylokokken	4	12,5	3	21,4
E. coli (anhämol.)	1	3,1	4	28,6
Enterococcus spp.	1	3,1	4	28,6
Actinomyces spp.	4	12,5	-	-
Proteus spp.	3	9,4	-	-
Bacillus sp	-	-	1	7,2
Ps. aeruginosa	1	3,1	-	-
S. aureus	-	-	1	7,2
Keimisolate	66		33	

Die Häufigkeit des Bakteriennachweises war bei Tieren vor dem ersten Zuchteinsatz (93,8 %) und bei bereits in der Zucht eingesetzten Hündinnen (96,7 %) annähernd identisch (Tabelle 14). *S. intermedius* konnte signifikant häufiger bei Hündinnen, die noch nicht gedeckt wurden nachgewiesen werden (Fisher´s exact test: p = 0.0085).

Tabelle 14: Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit bei Hündinnen vor und im Zuchteinsatz

	vor dem Zuchteinsatz		im Zuchteinsatz	
	n = 16		n = 30	
Keimarten	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
Pasteurella spp.	5	22,7	13	43,3
α-/anhämol. Streptokokken	6	37,5	12	40,0
Sc. canis	3	18,8	13	43,3
S. intermedius	8	50,0	3	10,0
E. coli (hämol.)	2	12,5	7	23,3
koagulaseneg. Staphylokokken	3	18,8	4	13,3
E. coli (anhämol.)	1	6,3	4	13,3
Enterococcus spp.	1	6,3	4	13,3
Actinomyces spp.	-	-	4	13,3
Proteus spp.	-	-	3	10,0
Bacillus sp	-	-	1	3,3
Ps. aeruginosa	-	-	1	3,3
S. aureus	-	-	1	3,3
Keimisolate	29		70	

Bakterienreinkulturen waren mit 22,7 % deutlich seltener zu beobachten als Mischkulturen (77,3 %) aus mehreren Keimen. Insgesamt wurden durchschnittlich 2,15 Keimarten je Vaginaltupfer nachgewiesen. Im Anöstrus wurden deutlich weniger Keimisolate je Tupfer ermittelt (Tabelle 15). Nur zwei Tupferproben waren ohne bakteriellen Keimgehalt.

Tabelle 15: Durchschnittliche Anzahl der Keimisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen

	Gesamt	Läufigkeit (Proöstrus, Östrus)	Metöstrus1	Metöstrus2	Anöstrus
Proben, gesamt (n)	46	21	10	6	9
Ø Isolate/ Probe	2,15	2,24	2,10	2,66	1,67
Negative Proben (n/%)	2 / 4,3	1 / 4,8	-	1 / 16,7	-

Semiquantitative Ergebnisse

Von den 99 Bakterienisolaten aus 46 Vaginaltupfern wurden 67 Isolate (67,7 %), als geringgradig, 22 Isolate (22,2 %) als mittelgradig und 10 Isolate (10,1 %) als hochgradig eingestuft. Ein hochgradiger Befall der Vaginalschleimhaut mit Bakterien war nur während der Läufigkeit feststellbar. Bei Hündinnen in anderen Zyklusstadien war die Keimzahl deutlich geringer.

3.2.1.4 Gemeinsame Betrachtung der in Vaginaltupfern nachgewiesenen Mykoplasmen und anderer Bakterien

Bei allen Hündinnen wurden Mykoplasmen und/oder andere Bakterien festgestellt. In 26 der Vaginaltupferproben (56,5 %) waren sowohl Mykoplasmen als auch ein aerober Keimgehalt nachweisbar, 18 der Proben (39,1 %) enthielten ausschließlich aerobe Bakterien und aus zwei Vaginaltupfern (4,4 %) wurden ausschließlich Mykoplasmen isoliert (Tabelle 16).

Tabelle 16: Vorkommen von Bakterien und Mykoplasmen bei genitalgesunden Hündinnen und bei Hündinnen mit Uteropathien und Fertilitätsstörungen

	genitalgesund, fertil		Hündinnen mit Uteropathien/Subfertilität	
	n	%	n	%
aerobe Bakterien	14	30,4	4	8,7
Mykoplasmen	1	2,2	1	2,2
aerobe Bakterien und Mykoplasmen	17	36,9	9	19,6
insgesamt	32		14	

Bei einer Zuchthündin, in derem Vaginalabstrich ausschließlich *M. canis* in mittelgradigem Gehalt nachgewiesen wurde, bestand eine eitrige Endometritis (Pyometra).

Aus den 46 keimhaltigen Vaginalsekretproben wurden insgesamt 135 Isolate qualitativ und semiquantitativ bestimmt, die zu 13 verschiedenen Keimarten und 6 Mykoplasmenspezies gehören. Am häufigsten wurden *Pasteurella spp.*, α - und anhämolysierende Streptokokken, *Sc. canis*, *M. canis*, hämolysierende und anhämolysierende *E. coli* sowie *S. intermedius* nachgewiesen.

Unter Einbeziehung der aeroben Bakterien und der Mykoplasmen wurden im Durchschnitt 2,93 Keime pro Probe nachgewiesen. In der Gruppe der gesunden Hündinnen lag die Anzahl der Isolate je Tupfer geringfügig unter (2,72 Isolate/Probe), in der Gruppe der Tiere mit Genitalinfekten deutlich über (3,43) dem Durchschnitt.

3.2.2 Beaglehündinnen (Population B)

3.2.2.1 Mykoplasmennachweis im Zyklusverlauf

Es wurden 84 Vaginaltupferproben von 17 genitalgesunden Beaglehündinnen untersucht. Die vaginoskopischen, vaginalzytologischen und sonographischen Befunde im Zyklusverlauf lagen ausschließlich innerhalb der physiologischen Schwankungsbreiten (HELBIG 1986). Es handelte es sich um je 17 Tupfer aus der frühen Follikelphase (Proöstrus), der frühen Gelbkörperphase (Östrus post ovulationem), der Phase maximaler Gelbkörperaktivität (Metöstrus 1) und der Endometriumsreparation (Metöstrus 2) sowie 16 Tupfer aus dem Anöstrus. In 22 Tupferproben (26,2 %) konnten keine Mykoplasmen nachgewiesen werden.

Insgesamt wurden 83 Isolate von fünf verschiedenen Spezies qualitativ und semiquantitativ untersucht. Die aus den 62 mykoplasmenpositiven Proben (73,8 %) isolierten Mykoplasmenspezies sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Nachweishäufigkeit von fünf Mykoplasmenspezies aus 62 Vaginaltupferproben von 17 genitalgesunden Beaglehündinnen

	Mykoplasmenpositive Vaginaltupfer		Hündinnen	
Mykoplasmen	**n**	**%**	**n**	**%**
M. canis	36	58,1	16	94,1
M. felis	18	29,0	11	64,7
M. arginini	12	19,4	8	47,1
M. edwardii	11	17,7	8	47,1
M. cynos	6	9,7	5	29,4

Am häufigsten von allen Mykoplasmenspezies wurde *M. canis* (58,1 %) isoliert, gefolgt von *M. felis* (29,0 %), *M. arginini* (19,4 %) und *M. edwardii* (17,7 %). Nur bei 9,7 % des mykoplasmenpositiven Probenmaterials ließ sich *M. cynos* differenzieren. Die qualitative Verteilung der Spezies in den einzelnen Zyklusphasen zeigt die Tabelle 18.

Tabelle 18: Qualitative Zusammensetzung der Mykoplasmenflora von genitalgesunden Beaglehündinnen in verschiedenen Zyklusphasen

	Isolate (n)				
Spezies	**Proöstrus**	**Östrus**	**Metöstrus1**	**Metöstrus2**	**Anöstrus**
M. canis	8	7	11	6	4
M. cynos	2	0	1	3	0
M. felis	8	5	4	0	1
M. edwardii	3	3	4	0	1
M arginini	3	3	2	3	1

M. canis wurde als einzige Spezies in vier Zyklusphasen nachgewiesen. *M. arginini*, *M. edwardii* und *M. felis* waren in drei, *M. cynos* in zwei Zyklusphasen zu finden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Anzahl (n) genitalgesunder Beaglehündinnen mit Isolaten einer Mykoplasmenspezies in x Zyklusphasen

Spezies	Ø Isolate/ Hündin	Nachweis in x Zyklusphasen			
		X = 1	X = 2	X = 3	x = 4
		n	n	n	n
M. canis	2,25	5	5	3	3
M. cynos	1,20	4	1	0	0
M. felis	1,64	6	3	2	0
M. edwardii	1,38	6	1	1	0
M. arginini	1,50	5	2	1	0

Nur bei einer Hündin wurde *M. canis* in 4 aufeinander folgenden Zyklusphasen (frühe Follikelphase, Gelbkörperanbildung, Gelbkörperblüte, Endometriumsreparation, Anöstrus) beobachtet. *M. felis* und *M. edwardii* wurden an drei aufeinander folgenden Zeitpunkten nachgewiesen, während *M. cynos* nur einmalig im Zyklus auftrat. Eine Übersicht hierzu zeigt Tabelle 20.

Tabelle 20: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Mykoplasmenspezies in x <u>aufeinander folgenden</u> Zyklusphasen

	Nachweis in x <u>aufeinander folgenden</u> Zyklusphasen		
	X = 2	X = 3	x = 4
Spezies	n	n	n
M. canis	8	1	1
M. cynos	0	0	0
M. felis	3	5	0
M. edwardii	0	1	0
M. arginini	2	0	0

Von den 17 untersuchten Hündinnen wiesen je fünf (29,4 %) zu fünf bzw. zu vier Untersuchungszeitpunkten im Zyklus eine Besiedlung der Vaginalschleimhaut mit Mykoplasmen auf. Die Mykoplasmenuntersuchung verlief bei drei Hündinnen (17,6

%) in zwei Zyklusphasen und bei vier Hündinnen (23,5 %) in drei Zyklusphasen negativ.

In 74,2 % der Proben (46) wurde nur eine Mykoplasmenspezies isoliert werden, bei den restlichen 25,8 % Proben (16) waren mehrere Spezies differenzierbar. *M. arginini* wurde gleichermaßen einzeln und zusammen mit anderen Mykoplasmen nachgewiesen. *M. felis* und *M. cynos* ließen sich halb so häufig in Reinkultur (38,9 % und 33,3 %) feststellen als in Mischkultur (61,1 % und 66,7 %). Bei *M. canis* (66,7 %) und M. edwardii (63,6 %) wurde häufiger eine Vergesellschaftet mit anderen kaninen Mykoplasmen auf der Vaginalschleimhaut beobachtet (vgl. Tabelle 21).

Tabelle 21: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur

	Reinkultur		**Mischkultur**	
Mykoplasmenspezies	**n**	**%**	**n**	**%**
M. canis	24	66,7	12	33,3
M. felis	7	38,9	11	61,1
M. arginini	6	50,0	6	50,0
M. edwardii	7	63,6	4	36,4
M. cynos	2	33,3	4	66,7
Gesamt	46	74,2	16	25,8

Insgesamt wurden 0,99 Mykoplasmenspezies pro Vaginaltupfer festgestellt. In den Zyklusphasen mit endokrin aktiven Ovarien (Follikelphase (Proöstrus), Gelbkörperanbildung (Östrus), Lutealphase (Metöstrus 1) lag die durchschnittliche Anzahl der Isolate oberhalb des Gesamtdurchschnitts, in der Phase der Endometriumsreparation (Metöstrus 2) und im Anöstrus unterhalb (Tabelle 22).

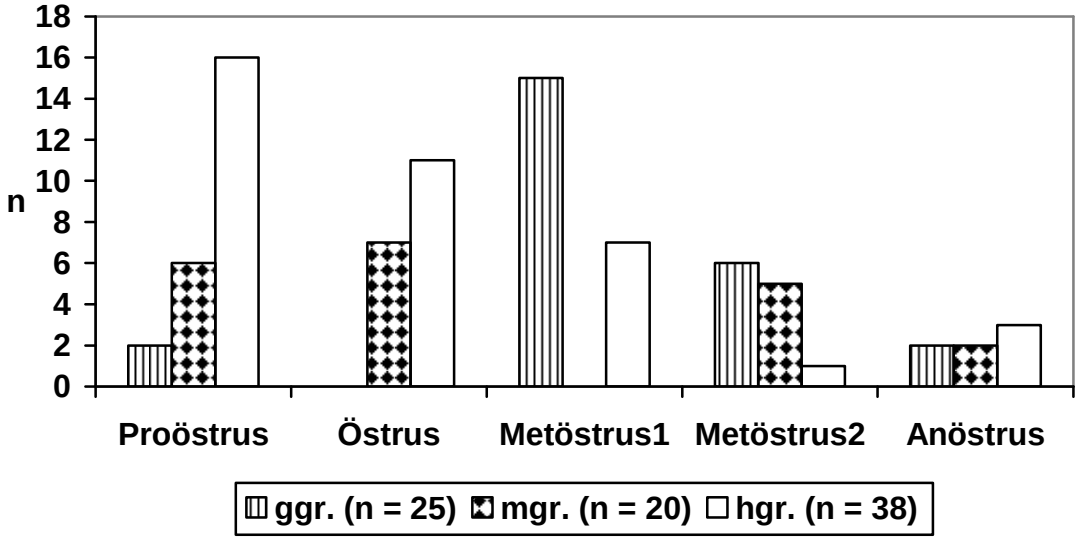
Tabelle 22: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen

	Gesamt	Proöstrus	Östrus	Metöstrus1	Metöstrus2	Anöstrus
Proben, gesamt	84	17	17	17	17	16
Ø Isolate/ Probe	0,99	1,41	1,06	1,29	0,71	0,44
Negative Proben (%)	26,2	11,8	11,8	5,9	41,2	62,5
Negative Proben (n)	22	2	2	1	7	10

Semiquantitative Ergebnisse

Von den 83 Mykoplasmenisolaten aus 84 Vaginaltupfern wurden 25 Isolate (30,1 %) als geringgradig, 20 (24,1%) als mittelgradig und 38 (45,8 %) als hochgradig eingestuft.

Abbildung 3: Häufigkeitsverteilung der semiquantitativen Befallsstärke in unterschiedlichen Zyklusphasen bei 17 genitalgesunden Beaglehündinnen



In den Zyklusphasen Endometriumsreparation (Metöstrus 2) und Anöstrus wurde im Vergleich zu den anderen Zyklusphasen deutlich weniger häufig ein hoher

Keimgehalt nachweisbar. Der höchste Mykoplasmengehalt der Vaginalschleimhaut war während der Läufigkeit (Proöstrus und Östrus) festzustellen (Abbildung 3). *M. canis*, *M. felis*, *M. edwardii* waren in hochgradigem Gehalt ausschließlich in den Phasen mit aktiver Ovarfunktion festzustellen (Details siehe Anhang).

3.2.2.2 Bakterieller Keimnachweis im Zyklusverlauf

Von den insgesamt 84 Vaginalabstrichen war nur einer (1,2 %) bakterienfrei. Insgesamt wurden 213 Keimisolate aus 13 verschiedenen Keimarten qualitativ und semiquantitativ untersucht.

Tabelle 23: Vorkommen verschiedener Bakterienspezies und semiquantitative Nachweishäufigkeit in Vaginaltupferproben (n = 83) von genitalgesunden Hündinnen

Keimgehalt	insgesamt		ggr.		mgr.		hgr.	
Bakterienart	n	%	n	%	n	%	n	%
Pasteurella spp.	40	48,2	16	19,3	10	12,0	1	1,2
α-/anhämol. Streptokokken	35	42,2	24	28,9	5	6,0	6	7,2
Sc. canis	33	39,8	22	26,5	4	4,8	3	3,6
E. coli (anhämol.)	31	37,3	24	28,9	11	13,3	13	15,7
S. intermedius	24	28,9	24	28,9	-	-	-	-
E. coli (hämol.)	14	16,9	10	12,0	1	1,2	3	3,6
Koagulaseneg. Staphylokokken	10	12,0	10	12,0	-	-	-	-
Actinomyces spp.	10	12,0	4	4,8	5	6,0	1	1,2
Bacillus sp	6	7,2	5	6,0	1	1,2	-	-
Enterococcus spp.	6	7,2	6	7,2	-	-	-	-
Proteus spp.	2	2,4	2	2,4	-	-	-	-
Ps. aeruginosa	1	1,2	1	1,2	-	-	-	-
Coryneforme Bakt.	1	1,2	1	1,2	-	-	-	-

Am häufigsten wurden Pasteurella spp., α - und anhämolysierende Streptokokken, Streptococcus canis, hämolysierende und anhämolysierende E. coli sowie Staphylococcus intermedius nachgewiesen
).

Tabelle 24: Qualitative Zusammensetzung der Keimflora der Vaginalschleimhaut genitalgesunder Beaglehündinnen (n = 17) in verschiedenen Zyklusphasen

	Anzahl (n) der Isolate				
Keimarten	**Proöstrus**	**Östrus**	**Metöstrus1**	**Metöstrus2**	**Anöstrus**
Pasteurella spp.	13	13	6	4	4
α - und an-hämol. Streptokokken	4	9	8	7	7
Sc. canis	7	7	8	8	3
E. coli (anhämol.)	6	8	7	5	5
S. intermedius	2	1	6	8	7
E. coli (hämol.)	3	2	6	2	1
Koagulaseneg. Staphylokokken	1	0	1	3	5
Actinomyces spp.	1	6	1	1	1
Bacillus sp	0	2	1	1	2
Enterococcus spp.	1	0	1	3	1
Proteus spp.	0	0	0	1	1
Ps. aeruginosa	0	0	0	0	1
Coryneforme Bakt.	0	0	0	0	1
Gesamt	38	48	45	43	39

Die meisten Bakterien konnten im Zyklus nur sporadisch und unregelmäßig isoliert werden (Tabelle 24). Nur bei einer Hündin war zu allen fünf Untersuchungszeitpunkten dieselbe Keimart (*Pasteurella* spp.) nachweisbar. Die anderen Keimarten waren maximal in vier Zyklusphasen zu finden. Tabelle 25 zeigt die Nachweisfrequenz der fünf am häufigsten isolierten Bakterienarten in den verschiedenen Zyklusphasen.

Tabelle 25: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Bakterienart in x Zyklusphasen

Bakterienart	Ø Isolate/ Hündin	Nachweis in x Zyklusphasen				
		x = 1	x = 2	x = 3	x = 4	x = 5
	n	n	n	n	n	n
Pasteurella spp.	2,36	4	4	5	2	1
α - und an-hämol. Streptokokken	2,06	6	5	5	0	0
Sc. canis	1,94	4	4	3	3	0
E. coli (anhämol.)	1,82	4	3	3	3	0
S. intermedius	1,41	5	5	3	0	0

Bei je einer Hündin wurde *Pasteurella spp.* in allen bzw. in vier aufeinander folgenden Zyklusphasen beobachtet. Ferner wurden *Sc. canis* sowie anhämolysierende *E. coli* jeweils in vier aufeinander folgenden Zyklusphasen (Follikelphase, Gelbkörperanbildung, Phase maximaler Gelbkörperaktivität, Endometriumsreparation) nachgewiesen. Alle anderen Bakterien wurden in zwei bzw. drei aufeinander folgenden Zyklusphasen isoliert (Tabelle 26).

Tabelle 26: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Bakterienart in x <u>aufeinander folgenden</u> Zyklusphasen

	Nachweis in x <u>aufeinander folgenden</u> Zyklusphasen			
Bakterienart	X = 2	X = 3	x = 4	X = 5
	n	n	n	n
Pasteurella spp.	5	3	1	1
α - und an-hämol. Streptokokken	4	2	0	0
Sc. canis	6	2	2	0
E. coli (anhämol.)	4	3	1	0
S. intermedius	4	2	0	0

Mit einer Ausnahme wiesen die 17 genitalgesunden Beaglehündinnen alle (94,1 %) zu jedem Untersuchungszeitpunkt im Zyklus eine aerobe Keimflora im Vaginalabstrich auf. Reinkulturen wurden deutlich seltener als Mischkulturen.

Lediglich aus acht der Proben (9,6 %) ließ sich nur eine Keimart isolieren, in 90,4 % Proben (75) wurde mehr als eine Spezies differenziert. Insgesamt wurden durchschnittlich 2,54 Keimarten je Vaginaltupfer nachgewiesen. In der frühen Follikelphase (Proöstrus), in der Endometriumsreparation und im Anöstrus lag die durchschnittliche Anzahl an Keimisolaten pro Tupfer unterhalb, in den übrigen Zyklusphasen oberhalb des Gesamtdurchschnitts (Tabelle 27).

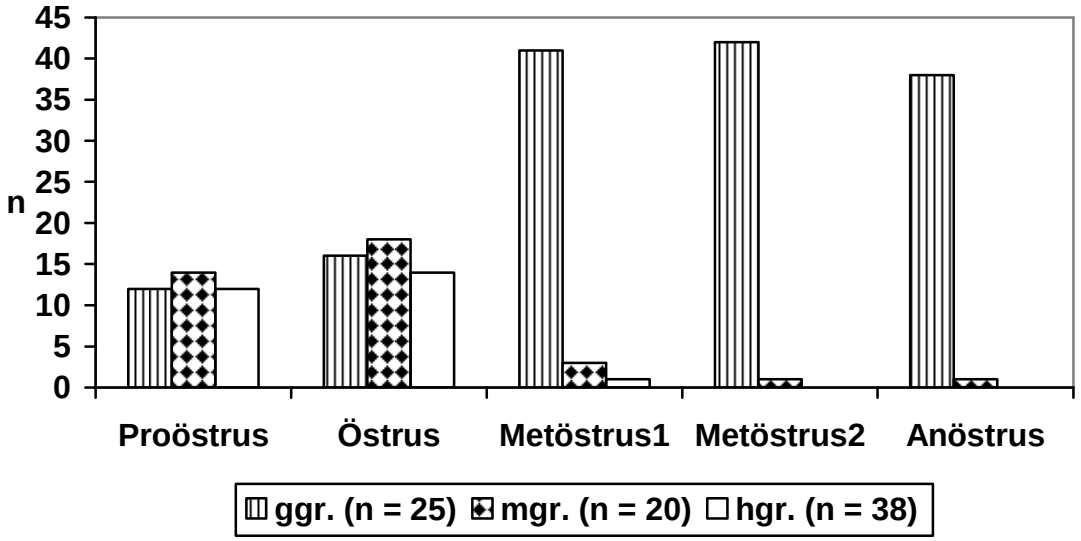
Tabelle 27: Durchschnittliche Anzahl der Bakterienisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen genitalgesunder Beaglehündinnen

	Gesamt	Proöstrus	Östrus	Metöstrus1	Metöstrus2	Anöstrus
Proben, gesamt	84	17	17	17	17	16
Ø Isolate/ Probe	2,54	2,24	2,82	2,65	2,53	2,44
Negative Proben (%)	1,2	5,9	-	-	-	-
Negative Proben (n)	1	1	-	-	-	-

Semiquantitative Ergebnisse

Von den 213 Bakterienisolaten aus 84 Vaginaltupfern wurden 149 Isolate (70,0 %), als geringgradig, 37 (17,3 %) als mittelgradig und 27 (12,7 %) als hochgradig eingestuft. Hoch- und mittelgradige Keimgehalte waren vor allem in der Follikelphase und frühen Lutealphase zu finden, während in der Ovarruhephase (Endometriumsreparation (Metöstrus 1) und Anöstrus geringe Keimgehalte überwogen (Abbildung 4).

Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung der semiquantitativen Befallsstärke in unterschiedlichen Zyklusphasen bei 17 genitalgesunden Beaglehündinnen



3.2.3 Befruchtungsergebnisse

Bei elf von 15 Hündinnen (73,3 %), bei denen im Zusammenhang mit der Deckzeitpunktbestimmung Mykoplasmen im Vaginalsekret nachgewiesen worden waren, wurde später eine Trächtigkeit festgestellt. Die Wurfgrößen befanden sich im normalen Maße . Die statistische Analyse ergab keine Signifikanz im Vergleich der Trächtigkeitsrate Mykoplasmennegativer Hündinnen (Fisher´s exact test: $p > 0,05$).

3.2.4 Mykoplasmennachweis in der Plazenta

Es wurden die Plazenten zweier Hündinnen (einer Beaglehündin und einer Patientenhündin) untersucht. Die erste Plazenta stammte von einer Beaglehündin, bei der *M. canis* auf der Vaginalschleimhaut nachgewiesen werden konnte. Die Beaglehündin zeigte eine normale Geburt und warf drei gesunde Welpen. Aus der Plazenta wurden keine Mykoplasmen isoliert. Die Patientenhündin zeigte am errechneten Geburtstermin keine Geburtsanzeichen. Die sonographische Untersuchung der Patientenhündin erbrachte ausschließlich tote Feten. Auch in diesem Fall waren in der Plazenta keine Mykoplasmen nachweisbar, obwohl der unmittelbar vor der durchgeführten Sectio entnommene Vaginaltupfer einen hochgradigen Gehalt an *M. felis* und *M. edwardii* aufwies.

3.2.5 Rüden

3.2.5.1 Andrologischer Status

Von 65 in die Studie einbezogenen Rüden waren 28 klinisch geschlechtsgesund und wiesen eine Normospermie auf. Bei 37 Tieren wurde aufgrund genitalmorphologischer oder spermatologischer Befunde eine Genitalerkrankung mit gering- bis hochgradigen Samenmängeln und darauf beruhender Sub- (27 Rüden) oder Infertilität (10 Rüden) diagnostiziert.

19 Tiere (29,2 %) wurden vor dem ersten Zuchteinsatz untersucht, 46 (70,8 %) waren bereits als Deckrüden tätig.

Bei 6 Rüden (9,2 %) wurden kongenitale, bei 28 Tieren (43,1 %) erworbene morphologische Veränderungen von Hoden und Nebenhoden festgestellt.

Durch palpatorische und sonographische Befunderhebung konnten prostataspezifische Erkrankungen (Prostatitis, Benigne Prostatahyperplasie, Prostatazysten) eindeutig mit einer Hämospermie in Verbindung gebracht werden. 24 Rüden (36,9 %) wiesen eine Hämospermie einhergehend mit einer Prostataerkrankung auf. Bei den anderen 41 Rüden (63,1 %) stellte sich die Prostata klinisch gesund und sonographisch unverändert dar und es lag keine Hämospermie vor.

3.2.5.2 Mykoplasmennachweis in Genitalsekreten

Ejakulatproben

Es wurden 65 Ejakulatproben (eine pro Rüde) untersucht. Mykoplasmen konnten aus 75,4 % (49) der Proben isoliert werden. Insgesamt wurden 80 Mykoplasmenisolate von 5 kaninen Mykoplasmenspezies semiquantitativ und qualitativ bestimmt. Ein Einfluss der Ejakulatphase auf den Mykoplasmennachweis konnte nicht festgestellt werden.

Bei den isolierten Spezies handelt es sich um *M. felis*, *M. cynos*, *M. arginini*, *M. canis* und *M. edwardii* (Tabelle 28).

Tabelle 28: Mykoplasmenspezies in Ejakulatproben von 49 Rüden

Keimgehalt:	geringgradig		mittelgradig		hochgradig		insgesamt	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	2	4,1	4	8,2	21	42,9	27	55,1
M. cynos	2	4,1	3	6,1	14	28,6	19	38,8
M. arginini	1	2,0	2	4,1	10	20,4	13	26,5
M. canis	3	6,1	2	4,1	8	16,3	13	26,5
M. edwardii	1	2,0	1	2,0	6	12,2	8	16,3

Am häufigsten wurde mit 55,1 % *M. felis* nachgewiesen, gefolgt von *M. cynos* (38,8 %), *M. arginini* (26,5 %) und *M. canis* (26.5 %). Nur in 16,3 % der mykoplasmenpositiven Proben ließ sich *M. edwardii* differenzieren.
Aus 57,1 % (28) der Proben wurde nur eine Mykoplasmenspezies isoliert, in 42, 9 % (21) Proben wurde mehr als eine Spezies differenziert (Tabelle 29). Dabei wurden *M. arginini* und *M. canis* etwa gleich oft in Monokultur oder in Mischkultur nachgewiesen. *M. felis*, *M. cynos* und *M. edwardii* traten mit 63,0 %, 84,2 % und 87,5 % häufiger vergesellschaftet mit anderen kaninen Mykoplasmen auf.

Tabelle 29: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur

	Reinkultur		Mischkultur	
Mykoplasmen	**n**	**%**	**n**	**%**
M. arginini	7	53,8	6	46,2
M. canis	7	53,8	6	46,2
M. felis	10	37,0	17	63,0
M. cynos	3	15,8	16	84,2
M. edwardii	1	12,5	7	87,5

In Bezug auf das Alter der Rüden erbrachte der Mykoplasmennachweis bei 74,2 % der Rüden unter 4 Jahren, bei 88,0 % der Rüden zwischen 4 und 8 Jahren und bei 44,4 % der mehr als achtjährigen Rüden ein positives Ergebnis. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied (chi-square: $p > 0,05$).

Mykoplasmen wurden bei 89,3 % der 28 klinisch geschlechtsgesunden und bei 64,9 % der 37 an einer Genitalerkrankung und Fertilitätsstörung leidenden Rüden festgestellt. In beiden Gruppen wurden *M. felis* und *M. cynos* am häufigsten nachgewiesen (Tabelle 30). Zwischen den Erkrankungsgruppen besteht hinsichtlich des Vorkommens von Mykoplasmen kein signifikanter Unterschied (chi-square: $p > 0,05$).

Ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Anteil an persistierenden Zytoplasmatropfen als Indiz für eine Epididymiditis und dem Nachweis von Mykoplasmen in Ejakulaten war nicht zu erkennen (Wilcoxon-Test $p > 0,05$).

Tabelle 30: Mykoplasmenspezies bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie (n = 25) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängeln (n = 24)

	genitalgesund/ Normospermie		**genitalerkrankt/ Samenmängel**	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	17	68,0	10	41,6
M. cynos	10	40,0	9	37,5
M. arginini	7	28,0	6	25,0
M. canis	6	24,0	7	29.2
M. edwardii	5	20,0	3	12,5
Isolate gesamt	45	56,2	35	43,8

Die durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Ejakulatprobe betrug 1,23. In der Gruppe der genitalgesunden Rüden lag die Anzahl der Isolate je Probe höher (1,61) als in der Gruppe der genitalerkrankten Tiere (0,95) (Tabelle 31).

Tabelle 31: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Ejakulatprobe

	Gesamtpopulation (n = 65)	genitalgesund (n = 28)	genitalerkrankt (n = 37)
Isolate (n)	80	45	35
Ø Isolate/ Probe	1,23	1,61	0,95
Negative Proben (n / %)	16 / 24,6	3 / 10,7	13 / 35,1

Bei Prostatagesunden und -erkrankten Rüden wurden Mykoplasmen in fast identischem Prozentsatz (75,6 % und 75,0 %) nachgewiesen (Tabelle 32).

Tabelle 32: Mykoplasmenspezies bei prostatagesunden Rüden (n = 41) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 24)

	gesunde Prostata		erkrankte Prostata	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	18	43,9	9	37,5
M. cynos	10	24,4	9	37,5
M. arginini	8	19,5	5	20,8
M. canis	10	24,4	3	12,5
M. edwardii	6	14,6	2	8,3

Mykoplasmen ließen sich annähernd gleich häufig bei Tieren vor dem ersten Zuchteinsatz (79,0 %) und bei bereits in der Zucht eingesetzten Rüden (74,0%) nachweisen. *M. canis* wurde bei keinem Rüden gefunden, der noch nicht gedeckt hatte (Tabelle 33). Mit Ausnahme von *M. canis* (chi-square: $p = 0,0072$) besteht kein signifikanter Unterschied (chi-square: $p > 0,05$) hinsichtlich der Spezies zwischen den Reproduktionsstatusgruppen.

Tabelle 33: Mykoplasmenspezies bei Rüden vor (n = 19) und während des Zuchteinsatzes (n = 46)

	vor dem Zuchteinsatz		im Zuchteinsatz	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	10	52,6	17	36,6
M. cynos	7	36,8	12	26,1
M. arginini	6	39,6	7	15,2
M. canis	0	0,0	13	28,3
M. edwardii	3	15,8	5	10,9

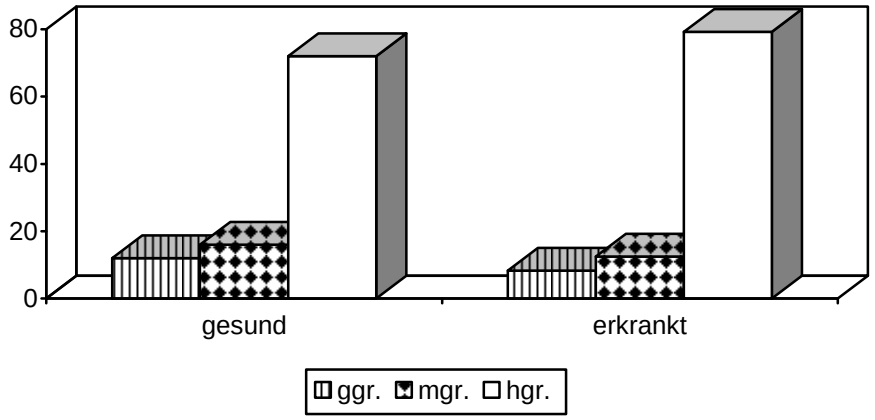
Semiquantitative Ergebnisse

In 10,2 % der 49 Mykoplasmenpositiven Proben war ein geringgradiger, in 14,3 % ein mittelgradiger und in 75,5 % ein hochgradiger Gehalt an Mykoplasmen nachweisbar.

Die Häufigkeitsverteilung der semiquantitativen Befallsstärke in unterschiedlichen Rüdengruppen stellt Abbildung 6 dar. Es gibt

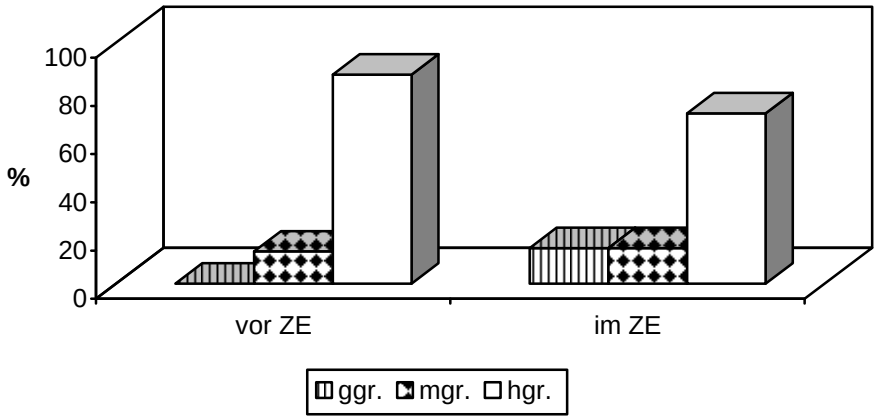
Hinsichtlich des semiquantitativen Vorkommens von Mykoplasmen waren zwischen den Rüdengruppen (vor Zuchteinsatz/ im Zuchteinsatz sowie genitalgesund und genitalerkrankt) keine signifikanten Unterschiede (chi-square $p > 0,05$) festzustellen. Am häufigsten lag ein hochgradiger Mykoplasmengehalt vor (Abbildung 5, Abbildung 6).

Abbildung 5: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei gesunden und genitalerkrankten Rüden



.

Abbildung 6: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei Rüden vor und während des Zuchteinsatzes (ZE)



Präputialtupferproben

Von insgesamt 28 auf Mykoplasmen untersuchten Präputialtupfern wurden in 20 Proben (71,4 %) Mykoplasmen isoliert. Insgesamt wurden 28 Isolate von 5 kaninen Mykoplasmenspezies semiquantitativ und qualitativ bestimmt (Tabelle 34).

Tabelle 34: Mykoplasmenspezies in Präputialtupferproben von 20 Rüden

Keimgehalt	ggr.		mgr.		hgr.		Insgesamt	
Mykoplasmen	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
M. felis	1	5,0	2	10,0	6	30,0	9	45,0
M. canis	2	10,0	1	5,0	4	20,0	7	35,0
M. cynos	0	0,0	2	10,0	4	20,0	6	30,0
M. arginini	0	0,0	1	5,0	3	15,0	4	20,0
M. edwardii	0	0,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0

Am häufigsten wurde *M. felis* (45,0 %) nachgewiesen, gefolgt von *M. canis* (35,0 %), *M. cynos* (30,0 %) und *M. arginini* (20,0 %) isoliert. Nur bei 10,0 % des mykoplasmenpositiven Probenmaterials (2 Proben) wurde *M. edwardii* isoliert. Lediglich bei einem Rüden wurde im Präputialabstrich ein geringgradiger Gehalt an *M. felis* festgestellt, während im Ejakulat (Nachsekret) Mykoplasmen nicht nachgewiesen wurden. So bestand eine statistisch signifikante Übereinstimmung zwischen dem Mykoplasmennachweis im Präputialtupfer und in der Ejakulatprobe der einzelnen Rüden (Konkordanzindex kappa 0,9157). Für *M. canis* wurde eine fast vollständige Übereinstimmung (kappa 0,9091) gesehen. Der Konkordanzindex zeigte für *M. cynos* und *M. edwardii* (kappa 0,66) eine starke, für *M. felis* (kappa 0,51) und *M. arginini* (kappa 0,42) eine deutliche Übereinstimmung zwischen dem Nachweis in Präputial- und Ejakulatproben.

In 14 Proben (70,0 %) wurde nur eine Mykoplasmenspezies isoliert. Die restlichen sechs Proben (30,0 %) wiesen eine Mykoplasmenmischkultur auf. Dabei wurden *M. canis* und *M. cynos* und etwa gleich oft einzeln oder mit anderen Mykoplasmen nachgewiesen. *M. felis* war doppelt so häufig in Mischkultur (66,7 %) als in Reinkultur (33,3 %) zu finden, während *M. arginini* und *M. edwardii* bevorzugt als einzige Mykoplasmenspezies (75,0 %und 100,0 %) aus dem Präputialsekret isoliert wurden (Tabelle 35).

Tabelle 35: Mykoplasmennachweis in Rein- (n = 14) und Mischkultur (n = 6)

	Reinkultur		Mischkultur	
Mykoplasmen	**Isolate (n)**	**%**	**Isolate (n)**	**%**
M. felis	3	33,3	6	66,7
M. canis	4	57,1	3	42,9
M. cynos	3	50,0	3	50,0
M. arginini	3	75,0	1	25,0
M. edwardii	2	100,0	0	0

Bezüglich des Alters konnten Mykoplasmen im Präputium nachgewiesen bei 75,0 % der Rüden unter 4 Jahren (n = 12), bei 90,0 % der Rüden zwischen 4 und 8 Jahren (n = 10) und bei 33,3 % der Rüden, die älter als 8 Jahre waren (n = 6) nachgewiesen werden. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied (chi-square: $p > 0,05$).

Mykoplasmen wurden im Präputialsekret von 90,9 % (10) der geschlechtsgesunden Rüden und von 58,8 % (10) der an Genitalerkrankungen leidenden Rüden nachgewiesen. *M. felis* war in beiden Gruppen etwa gleich häufig vertreten (Tabelle 36). Die Unterschiede (chi-square: $p > 0,05$) waren statistisch nicht signifikant.

Im Durchschnitt wurde ein (1,00) Mykoplasmenisolat pro Präputialtupfer festgestellt.

In der Gruppe der gesunden Rüden mit Normospermie wurde öfter mehr als eine Spezies (1,36) nachgewiesen als in der Gruppe der genitalerkrankten Rüden (0,76 Isolate). Von den insgesamt acht Mykoplasmennegativen Proben stammten eine (9,1 %) von den 11 genitalgesunden und 7 (41,2 %) von den 17 Rüden mit Genitalerkrankung.

Tabelle 36: Mykoplasmenspezies bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie (n = 10) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängeln (n = 10) im Präputialsekret

	genitalgesund/ Normospermie		genitalerkrankt/ Samenmängel	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	4	40,0	5	40,0
M. cynos	4	40,0	2	20,0
M. arginini	3	30,0	1	50,0
M. canis	3	30,0	4	10,0
M. edwardii	1	10,0	1	10,0
Isolate gesamt	15	53,6	13	46,4

Aus Präputialtupfern von 78,9 % der Rüden mit einer Prostataerkrankung einhergehend mit Hämospermie und aus 55,6 % der Proben von prostatagesunden Rüden wurden Mykoplasmen isoliert (Tabelle 37).

Tabelle 37: Mykoplasmenspezies bei prostatagesunden Rüden (n = 19) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 9) im Präputialsekret

	gesunde Prostata		erkrankte Prostata	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	7	36,8	2	22,2
M. cynos	5	26,3	1	11,1
M. arginini	3	15,8	1	11,1
M. canis	6	31,6	1	11,1
M. edwardii	2	10,5	0	0,0

Mykoplasmen waren annähernd gleich häufig bei Tieren vor dem ersten Zuchteinsatz (75,0 %) und bei bereits in der Zucht eingesetzten Rüden (70,0%) vertreten. Von den verschiedenen Spezies wurde lediglich *M. canis* nicht im Präputialsekret von Rüden, die noch nicht gedeckt hatten, nachgewiesen (Tabelle 38).

Tabelle 38: Mykoplasmenspezies auf der Präputialschleimhaut bei Rüden vor (n = 8) und während des Zuchteinsatzes (n = 20)

	vor dem Zuchteinsatz		im Zuchteinsatz	
Mykoplasmen	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
M. felis	2	25,0	7	35,0
M. cynos	2	25,0	4	20,0
M. arginini	3	37,5	1	5,0
M. canis	-	-	7	35,0
M. edwardii	1	12,5	1	5,0

Semiquantitative Ergebnisse

In 15,0 % der mykoplasmenpositiven Präputialtupfer war ein geringgradiger, in 15,0 % ein mittelgradiger und in 70,0 % ein hochgradiger Gehalt an Mykoplasmen nachweisbar. Im Präputialsekret von Rüden vor dem ersten Zuchteinsatz wurde entweder ein mittel- oder hochgradiger Keimgehalt gefunden, während ein geringgradiges Vorkommen bei ca. 20 % der bereits im Deckeinsatz befindlichen Rüden nachgewiesen wurde. In beiden Gruppen wurde am häufigsten ein hochgradiger Gehalt an Mykoplasmen gefunden (Abbildung 7). Dies traf auch beim Vergleich der genitalgesunden mit den –erkrankten Rüden zu (Abbildung 8).

Abbildung 7: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen auf der Präputialschleimhaut gesunder und genitalerkrankter Rüden

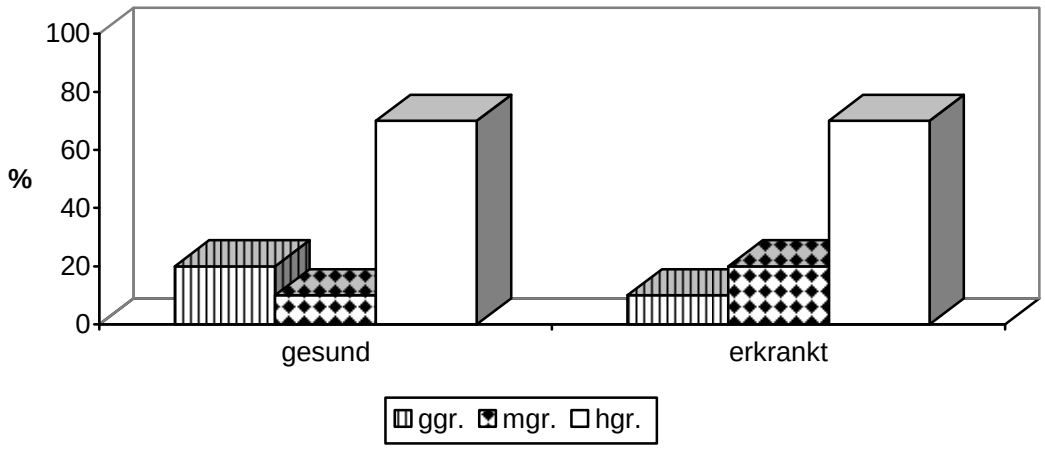
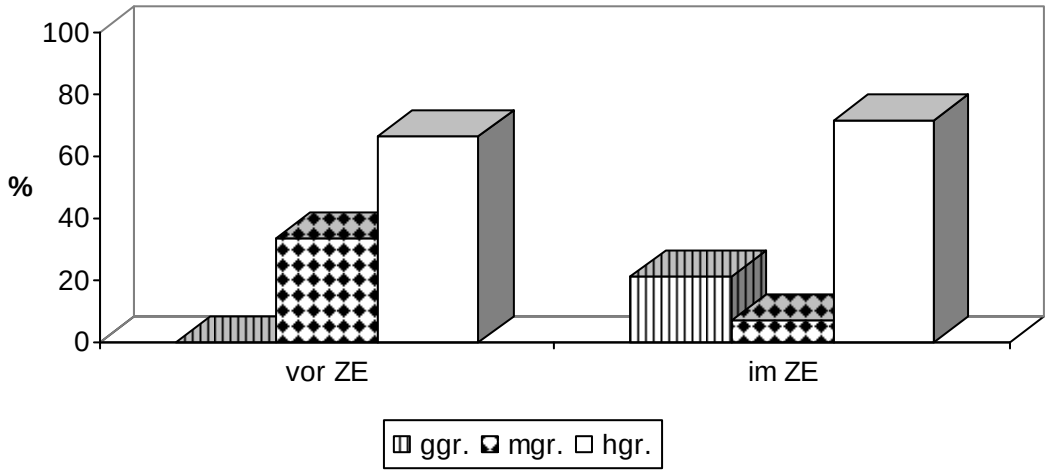


Abbildung 8: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen auf der Präputialschleimhaut von Rüden vor und während des Zuchteinsatzes (ZE)



3.2.5.3 Bakterieller Keimgehalt in Ejakulatproben

In 14 (21,5 %) von 65 Ejakulatproben war keine aerobe Keimflora nachweisbar. In 51 Proben wurden insgesamt 99 Keimisolate von 17 verschiedenen Keimarten qualitativ und semiquantitativ bestimmt.

Die aus den keimhaltigen Proben isolierten Bakterienarten und entsprechende Isolationshäufigkeiten sind in Tabelle 39 dargestellt. Ein hochgradiger Keimgehalt war in keinem Fall feststellbar (Tabelle 39)

Tabelle 39: Vorkommen verschiedener Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit in Ejakulatproben (n = 51)

Keimgehalt	geringgradig		mittelgradig		insgesamt	
Bakterienarten	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]	Anzahl	[%]
Koagulaseneg. Staphylokokken	22	43,1	-	-	22	22,2
Bacillus sp	16	31,4	-	-	16	16,2
S. intermedius	11	22,0	1	2,0	12	12,1
Sc. canis	10	20,0	2	4,0	12	12,1
α-/anhämol. Streptokokken	10	20,0	-	-	10	10,1
Enterococcus spp.	5	10,0	-	-	5	5,1
E. coli (anhämol.)	2	4,0	2	4,0	4	4,1
Pasteurella spp.	4	8,0	-	-	4	4,1
Pantoea spp.	3	6,0	-	-	3	3,0
E. coli (hämol.)	2	4,0	-	-	2	2,0
Micrococcus spp.	2	4,0	-	-	2	2,0
Serratia spp.	2	4,0	-	-	2	2,0
Acinetobacter spp.	1	2,0	-	-	1	1,0
Clostridium perfringens	1	2,0	-	-	1	1,0
Coryneforme Bakt.	1	2,0	-	-	1	1,0
Moraxella spp.	1	2,0	-	-	1	1,0
Weeksella spp.	1	2,0	-	-	1	1,0
Summe	94		5		99	100

Koagulasenegative Staphylokokken, Keime der Bacillus-Subtilis-Gruppe, *S. intermedius*, *Sc. canis* sowie alpha- und anhämolysierende Streptokokken wurden am häufigsten nachgewiesen.

Bei 18 (64, 3 %) genitalgesunden Rüden mit Normospermie wurden Bakterien in den Ejakulatproben nachgewiesen. Bei den genitalerkrankten Rüden mit Samenmängeln war dieser Anteil mit 89,2 % (n = 33) höher. Die durchschnittliche Anzahl der Bakterienisolate pro Ejakulatprobe betrug 1,52. In der Gruppe der genitalgesunden Rüden lag die Anzahl der Isolate je Probe geringfügig unter (1,39), in der Gruppe der genitalerkrankten Rüden geringfügig über (1,62) dem Durchschnitt.

Bei 91,7 % der Ejakulatproben von Rüden mit einer Prostataerkrankung (22) und bei 80,5 % der prostatagesunden Rüden (29) waren ebenfalls Bakterien nachweisbar. Dabei handelte es sich jeweils um ein identisches Keimspektrum (Tabelle 40 u. Tabelle 41).

Tabelle 40: Nachweishäufigkeit verschiedener Bakterienarten in Ejakulatproben bei gesunden Rüden mit Normospermie (n = 18) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängel (n = 33)

	genitalgesund/ Normospermie		**genitalerkrankt/ Samenmängel**	
Bakterienarten	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
Koagulaseneg. Staphylokokken	7	38,9	15	45,5
Bacillus sp	7	38,9	9	27,3
S. intermedius	5	27,8	7	21,2
Sc. canis	7	38,9	5	15,1
α-/anhämol. Streptokokken	3	16,7	7	21,2
Enterococcus spp.	2	11,1	3	9,1
E. coli (anhämol.)	-	-	4	12,1
Pasteurella spp.	2	11,1	2	6,1
Pantoea spp.	2	11,1	1	3,0
E. coli (hämol.)	-	-	2	6,1
Micrococcus spp.	1	5,6	1	3,0
Serratia spp.	1	5,6	1	3,0
Acinetobacter spp.	1	5,6	-	-
Clostridium perfringens	-	-	1	3,0
Coryneforme Bakt.	1	5,6	-	-
Moraxella spp.	-	-	1	3,0
Weeksella spp.	-	-	1	3,0
Isolate gesamt	39		60	

Tabelle 41: Nachweishäufigkeit verschiedener Bakterienarten in Ejakulatproben bei prostatagesunden Rüden (n = 29) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 22)

	gesunde Prostata		erkrankte Prostata	
Bakterienarten	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**
Koagulaseneg. Staphylokokken	14	48,3	8	36,4
Bacillus sp	9	31,0	7	31,8
S. intermedius	8	27,6	4	18,2
Sc. canis	9	31,0	3	13,6
α-/anhämol. Streptokokken	4	13,8	6	27,3
Enterococcus spp.	3	10,3	2	9,1
E. coli (anhämol.)	1	3,4	3	13,6
Pasteurella spp.	3	10,3	1	4,5
Pantoea spp.	2	6,9	1	4,5
E. coli (hämol.)	1	3,4	1	4,5
Micrococcus spp.	1	3,4	1	4,5
Serratia spp.	1	3,4	1	4,5
Acinetobacter spp.	1	3,4	-	-
Clostridium perfringens	-	-	1	4,5
Coryneforme Bakt.	1	3,4	-	-
Moraxella spp.	-	-	1	4,5
Weeksella spp.	-	-	1	4,5
Isolate gesamt	58		41	

3.2.5.4 Gemeinsame Betrachtung der in Ejakulatproben nachgewiesenen Mykoplasmen und anderen Bakterien

Lediglich bei einem der 65 Rüden (1,5 %) wurden weder Mykoplasmen noch andere Bakterien isoliert. In 35 (53,8 %) der Ejakulatproben waren Mykoplasmen gemeinsam mit einem aeroben Keimgehalt feststellbar, in 15 (23,1 %) Proben wurden lediglich aerobe Bakterien nachgewiesen. Aus 14 (21,6 %) Proben wurden ausschließlich Mykoplasmen isoliert (Tabelle 42).

Tabelle 42: Vorkommen von Bakterien und Mykoplasmen bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängel

	genitalgesund/ Normospermie		genitalerkrankt/ Samenmängel	
	n	%	n	%
aerober Keimgehalt	3	4,7	12	18,8
Mykoplasmen	10	15,6	4	6,3
aerober Keimgehalt und Mykoplasmen	15	23,4	20	31,2
insgesamt	28		36	

Bei allen vier erkrankten Rüden, bei denen ausschließlich Mykoplasmen nachgewiesen wurden, lag eine chronische Epididymiditis vor. Einer dieser Rüden (Rüde A) war zu dem an einer Prostatitis mit Zystenbildung erkrankt, ein anderer an Prostatitis und chronischer Orchitis (Rüde B) und ein weiterer an einer chronischen Prostatitis (Rüde C). Die Ejakulatbeschaffenheit dieser Rüden war hochgradig verändert (Teratozoospermie in Form eines erhöhten Anteils persistierender Zytoplasmatropfen im Hals- und Verbindungsstückbereich (Rüde A, Rüde B), vermehrter Schwanzschleifen (Rüde C) oder eine deutlich verringerte Spermiengesamtzahl (Oligozoospermie) (Rüde B)). Der vierte Rüde lediglich geringgradige Samenmängel auf. *M. felis* wurde von allen keimhaltigen Proben am häufigsten (42,2 %) und in überwiegend hochgradigem Keimgehalt nachgewiesen. Koagulasenegative Staphylokokken, *M. cynos*, Keime der Bacillus-Subtilis-Gruppe, *M. arginini* und *M. canis* ließen sich etwas weniger häufig isolieren. Seltener wurden *S. intermedius*, *Sc. canis* sowie alpha- und anhämolysierende Streptokokken festgestellt. Unter Einbeziehung der aeroben Bakterien und der Mykoplasmen wurden im Durchschnitt 2,75 Keime pro Probe nachgewiesen. In der Gruppe der genitalgesunden Rüden wurde öfter mehr als eine Spezies (3,0 Isolate) nachgewiesen als in der Gruppe der genitalkranken Rüden mit Samenmängeln (2,57 Isolate).

3.2.6 Mykoplasmennachweis nach Therapie

Bei je zwei Hündinnen (eine fünfjährige Hovawarthündin und eine zweieinhalbjährige Norwich Terrierhündin) und Rüden (Labrador, Dogge, Alter) wurde aufgrund von Erkrankungen, die auf eine Mykoplasmeninfektion beruht haben könnten, eine antibiotische Therapie durchgeführt. Die Hündinnen wurden für zehn Tage mit Enrofloxacin (Baytril®-Tabletten (Fa. Bayer Health Care, Leverkusen) 5 mg/kg KGW oral, einmal täglich) sowie simultan für 7 Tage mit Prostaglandin F2α (Dinolytic® (Pfizer, Karlsruhe), 20 µg/kg KGW subcutan, dreimal täglich) behandelt.

Beiden Hündinnen wurde im Stadium der Endometriumsreparation eine chronische Endometritis diagnostiziert. Bei der Hovawarthündin wurde im Vaginalabstrich ein hochgradiger Keimgehalt an *M. canis* und *M. edwardii*, bei der Norwich Terrierhündin ein geringgradiger Keimgehalt an *M. cynos* und anhämolysierenden *E. coli* festgestellt. Nach erfolgter Therapie zeigten beide Hündinnen einen normalen sonographischen Uterusbefund. Mykoplasmen waren 4 Tage nach Behandlungsende nicht mehr nachweisbar. Die Hovawarthündin wurde nach Bedeckung in der nächsten Läufigkeit tragend, die andere nicht.

Es wurden ein fünfjähriger Labradorrüde sowie ein zweijähriger Doggenrüde zur Untersuchung auf ihre gesundheitliche und geschlechtliche Zuchttauglichkeit vorgestellt. Während die Wurfzahlen des bereits 17- mal zur Zucht eingesetzten Labradorrüden nicht bekannt waren, stand der Doggenrüde noch nicht im Zuchteinsatz. Bei beiden Rüden eine Teratozoospermie festgestellt. Der Doggenrüde hatte einen erhöhten Anteil an formabweichenden Spermien (31,5 %) in Form von abgelösten Kopfkappen, Halsbrüchen und paraxialen Schwanzansätzen sowie an Samenzellen mit geschädigter Plasmamembran (20 %). Im Ejakulat des Labradors betrug der Anteil formabweichender Samenzellen 46 % (Plasmatropfen im Verbindungsstückbereich und Schwanzschleifen). Bei beiden Rüden handelte es sich vorwiegend um sekundär bei der Spermienreifung erworbene Defekte (Schwanzschleifen und Halsbrüche), die auf das Vorliegen einer Nebenhodenentzündung (Epididymiditis) hinwiesen. Die Therapie bestand aus einer vierwöchigen antibiotischen Behandlung mit Enrofloxacin (Baytril®-Tabletten (Fa. Bayer HealthCare, Leverkusen), 5 mg/kg KGW oral, einmal täglich) und einer Deckruhe, die bis zur Wiedervorstellung einzuhalten war. Vor der Therapie wurde im Ejakulat des Doggenrüden ein hochgradiger Gehalt an *M. cynos* festgestellt. Nach der Therapie erbrachte die Untersuchung auf Mykoplasmen einen mittelgradigen

Gehalt an *M. felis*. Im Ejakulat des Labradorrüden wurde zunächst ein hochgradiger Gehalt an *M. canis* und *M. edwardii* nachgewiesen. Auch in diesem Fall lag nach der Therapie ein geringgradiger Keimgehalt an *M. felis* vor. Die Ejakulatbeschaffenheit verbesserte sich bei beiden Rüden nicht. Vielmehr erhöhte sich der Anteil formabweichender Samenzellen (bei qualitativ gleich bleibenden Formabweichungen) bei dem Doggenrüden von 31,5 % auf 45 %, bei dem Labradorrüden von 46 % auf 55 %.

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es einerseits, das Vorkommen von Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum der Hündin und des Rüden zu ermitteln, um daraus eine mögliche Zugehörigkeit zur physiologischen Keimflora ableiten zu können, und andererseits festzustellen, ob bestimmte Mykoplasmenspezies in einem ursächlichen Zusammenhang mit Genitalerkrankungen und Subfertilität stehen. Darüber hinaus sollte die Vaginalflora auf zyklusabhängige Veränderungen der qualitativen und semiquantitativen Zusammensetzung untersucht werden. Für diese Fragestellungen wurden sowohl klinisch geschlechtsgesunde als auch an verschiedenen Genitalinfekten erkrankte Hunde untersucht.

In den meisten Studien zum genitalen Keimspektrum des Hundes wurden die besonderen Ansprüche der Mykoplasmen an Nährmedium und Anzuchtmilieu nicht berücksichtigt (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a, b). Es ist daher davon auszugehen, dass der Nachweis von Mykoplasmen in den Untersuchungen, die keine Spezialnährböden benutzen, nicht zwangsläufig das reale Vorkommen dieser Keimspezies im Genitale widerspiegelt. Untersuchungen, die sich ausschließlich mit dem Nachweis von Mykoplasmen im Genitaltrakt beschäftigen, gehen dagegen oft nicht auf die übrige Keimflora ein (ROSENDAL u. LABER 1973; EBERLE u. KIRCHHOFF 1976; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; BINDER et al. 1986; ZÖLDAG et al. 1992). In der vorliegenden Arbeit wurden die besonderen Ansprüche von Mykoplasmen an Kultur und Inkubationsmilieu durch Nutzung des Spezialtransport- und Nährmediums (Mycoplasma liquid bzw. Mycoplasma solid, Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) sowie durch die Einhaltung entsprechender Inkubationskriterien berücksichtigt. Gleichzeitig wurde der aerobe Keimgehalt gesondert ermittelt, um das Vorkommen von Mykoplasmen im Kontext mit anderen genitalen Keimen der Hündin und des Rüden interpretieren zu können.

4.1 Mykoplasmen im Genitale der Hündin

In der vorliegenden Arbeit konnten bei 60,9 % der untersuchten Patientenhündinnen (bzw. 73,8 % in der Beaglehündinnenpopulation) Mykoplasmen auf der Vaginalschleimhaut nachgewiesen werden. Dieser Wert liegt innerhalb der von anderen Autoren ermittelten Nachweishäufigkeiten, die innerhalb des Bereichs von 30 % (LING u. RUBY1978) bis 88 % (DOIG et al. 1981) liegen. Eine vom Reproduktionsstatus abhängige vaginale Mykoplasmenflora ließ sich übereinstimmend mit DOIG et al. (1981) und BJURSTRÖM und LINDEFORSBERG (1992a) nicht nachweisen, da Mykoplasmen gleich häufig im Vaginalsekret von Hündinnen, die noch nie gedeckt wurden und die bereits in der Zucht waren, isoliert wurden.

Hinsichtlich der Alterstruktur zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Wie von anderen Autoren bereits konstatiert, werden die eigenen Ergebnisse dahin gehend interpretiert, dass Mykoplasmen zur physiologischen Vaginalflora der Hündin gehören (ROSENDAL 1973; ROSENDAL u. LABER 1973; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; JANOWSKI et al. 2008).

Die semiquantitative Mykoplasmengehalt in Vaginaltupferproben zeigte unabhängig vom Reproduktions- und Gesundheitsstatus eine deutliche Häufung von Isolaten mit hohem Keimgehalt. Dies bezüglich sehen AMTSBERG und KRABISCH (1975) in der Technik der Entnahme, des Transports und der Aufbereitung des Probenmaterials mögliche Einflüsse auf den semiquantitativen Nachweis. Das hier verwendete kommerzielle Transport- und Nährmedium bietet den Mykoplasmen optimale Vorraussetzungen für das Wachstum. Es ist denkbar, dass Mykoplasmen in der Kultur in Abwesenheit anderer Bakterienarten bessere Bedingungen vorfinden und somit höhere Keimdichten erzielten als es unter *in vivo* Konditionen möglich wäre. Außerdem wurde die überwiegende Anzahl der Hündinnen in Zyklusphasen mit aktiver Ovarfunktion untersucht, in denen häufiger ein hoher Keimgehalt vorliegt.

In der vorliegenden Arbeit wurden Mykoplasmen insgesamt häufiger bei den an Genitalerkrankungen leidenden Hündinnen (71,4 %) festgestellt, als bei den geschlechtsgesunden Tieren (56,3 %). Auch wenn dieser Unterschied nicht statistisch absicherbar war, wurden die Beobachtungen anderer Autoren bestätigt (DOIG et al. 1981; ZÖLDAG et al. 1992). Eine Bedeutung als ätiologisches Agens bei Genitalerkrankungen kann daher nicht ausgeschlossen werden. Entgegen den Beobachtungen anderer Autoren (BARILE et al. 1970; ROSENDAL 1973; DOIG et al.

1981) wurden in der vorliegenden Arbeit Mykoplasmen häufiger in Reinkultur (75 %) als in Mischkultur mit anderen Mykoplasmen angetroffen. Diese Tendenz war bei den Tieren mit einer Genitalerkrankung nicht zu erkennen. Diese Ergebnisse müssen im Kontext mit den anderen im Vaginalsekret identifizierten Bakterien betrachtet werden. Mykoplasmen wurden fast ausschließlich in Vergesellschaftung mit anderen Vaginalkeimen gefunden. Nur bei zwei der 46 untersuchten Patientenhündinnen waren ausschließlich Mykoplasmen und zwar in Reinkultur nachweisbar. Bei Reinkulturen der fakultativ pathogenen Bakterien wie *E. coli* wird bei Vorliegen in hohem Keimgehalt häufiger eine klinisch manifeste Uteropathie beobachtet (HIRSH u. WIGER 1977; ALLEN u. DAGNALL 1982; ROUHOL-AMINE u. KAYHANI 1985; VAN DUIJKEREN 1992). Dies kann zwar in der vorliegenden Arbeit nicht für die kaninen Mykoplasmen übertragen werden, dennoch zeigen diese beiden Fälle die Möglichkeit auf, dass im Falle eines negativen Nachweises einer aeroben Bakterienflora bei fehlender Mykoplasmendiagnostik eine bakterielle Ursache für eine Genitalerkrankung fälschlicherweise ausgeschlossen werden kann. Vor diesem Hintergrund erscheint es zumindest beim Vorliegen einer klinisch manifesten Genitalerkrankung sinnvoll, die bakteriologische Diagnostik mit dem Nachweis von Mykoplasmen zu erweitern, um gegebenenfalls eine angemessene Therapie einleiten zu können.

Als dominierende **Mykoplasmenspezies** auf der Vaginalmukosa der Hündin wurde in der vorliegenden Arbeit *M. canis* isoliert. Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (ROSENDAL u. LABER 1973; EBERLE u. KIRCHHOFF 1976; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; BINDER et al. 1986). Die Partizipation von *M. canis* an Genitalinfekten der Hündin wird diskutiert, seitdem THIEMANN et al. (1972) diese Mykoplasmenspezies bei Hündinnen mit einer Endometritis isolierten. Auch ADEGEBOYE und ADDO (1978) konnten *M. canis* im Vaginalsekret einer Hündin mit offener Pyometra nachweisen. HOLZMANN et al. (1979) diagnostizierten nach experimenteller Infektion mit *M. canis* bei 3 von 10 Hündinnen eine eitrige Endometritis mit glandulärzystischer Hyperplasie des Endometriums und sahen darin einen Beweis für die Pathogenität dieser Mykoplasmenspezies. Kürzlich fanden SCHÄFER-SOMI und SPERGSER (2007) *M. canis* in Samen- und Vaginalsekretproben von neun Hunden mit Fertilitätsstörungen. Sie gingen von einer obligaten Pathogenität aus und konnten durch eine antibiotische Therapie eine Verbesserung der Fruchtbarkeit erzielen. Darüber hinaus

entwickelten sie eine Autovakzine mit sechsmonatigem Schutz vor Neuinfektion mit dem gleichen *M. canis*-Stamm. Andere Autoren wiesen *M. canis* häufig im Vaginaltrakt gesunder Hündinnen nach und rechneten diesen Keim der physiologischen Genitalflora zu (DOIG et al. 1981; JANOWSKI et al. 2008).

Auch in der vorliegenden Arbeit ergaben sich keine Hinweise auf eine obligate Pathogenität von *M. canis*, da dieser Keim gleich häufig bei gesunden und erkrankten Hündinnen nachgewiesen wurde. Allerdings wurde *M. canis* als einziger Vaginalkeim in mittelgradigem Gehalt bei einer Zuchthündin mit eitriger Endometritis isoliert, woraus in diesem Fall ein ursächlicher Zusammenhang abgeleitet wird. Insgesamt erlauben die vorliegenden Ergebnisse im Kontext mit den Beobachtungen anderer Autoren den Schluss, dass *M. canis* als Teil der kaninen Vaginalflora einzuordnen ist, aber durchaus fakultativ pathogene Eigenschaften erlangen kann. Vor diesem Hintergrund erscheint eine generelle antibiotische Therapie dieser Mykoplasmenspezies oder gar Vakzinierung nicht gerechtfertigt. Stattdessen sollten bezüglich der Therapie ähnliche Maßstäbe wie bei anderen Vaginalkeimen gesetzt werden. So zeigten GÜNZEL-APEL et al. (1999), dass das Vorliegen einer Reinkultur einer fakultativ pathogenen Bakterienart nicht zwangsläufig mit einer klinischen Erkrankung einhergehen muss. Daher sollte insbesondere bei Abwesenheit anderer fakultativ pathogener Bakterien wie *E. coli*, *Sc. canis* oder *S. intermedius* (HIRSH u. WIGER 1977; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a) im Falle einer Reinkultur von *M. canis* eine gezielte Therapie nur eingeleitet werden, wenn es das klinische Bild erfordert.

In der vorliegenden Arbeit wurden regelmäßig auch *M. felis*, *M. edwardii* sowie *M. cynos* im Vaginalsekret angetroffen. Dagegen waren nur bei einer einzigen Hündin *A. laidlawii* und *M. arginini* nachzuweisen. hingegen. Mit Ausnahme von *M. felis* und *M. arginini* wurden alle diese Spezies bereits von anderen Autoren auf der Scheidenschleimhaut des Hundes beschrieben (ROSENDAL u. LABER 1973; EBERLE u. KIRCHHOFF 1976; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981,CHALKER 2005).

M. felis, eine 1967 von COLE et al. aus dem Auge einer an Konjunktivitis leidenden Katze isolierte Mykoplasmenspezies, wurde bei Hunden bisher aus Rachen- und Trachealtupfern (ROSENDAL 1976) sowie im Präputialsekret isoliert (DOIG et al. (1981). Der Nachweis von *M. felis* im Genitale der Hündin wurde bisher nicht erbracht, was angesichts der Häufigkeit von 28,6 % bei den Patientenhündinnen und

29 % in der Beaglegruppe aus der vorliegenden Arbeit überrascht. Eine Ursache für die Präsenz von *M. felis* im kaninen Vaginalsekret kann in der Verwendung des Mycoplasma liquid- und solid-Spezialmediums (Fa. Mycoplasma experience, Reigate, England) für Transport und Kultivierung bestehen, wodurch optimale Vorraussetzungen für die Kultivierung dieser Mykoplasmenspezies geschaffen wurden.

Da *M. felis* nicht nur bei der in sich isolierten Population der Beaglehündinnen sondern ebenso häufig auch bei Hündinnen unterschiedlichster Rassen, Herkunft und Haltung nachgewiesen wurde, ist eine Zugehörigkeit zur physiologischen Vaginalflora der Hündin anzunehmen. *M. felis* wurde häufiger in der Vaginaltupfern von Hündinnen mit entzündlichen Uteropathien angetroffen als bei gesunden Tieren. Obwohl sich kein statistisch signifikanter Unterschied ergab, sollte eine mögliche Pathogenität von *M. felis* bei Genitalinfekten der Hündin in Betracht gezogen und in weiteren Studien sowie in Infektionsversuchen überprüft werden.

M. edwardii, eine bereits 1956 von EDWARD und FREUNDT auf der Vaginalschleimhaut des Hundes isolierte und von TULLY et al. (1970) identifizierte Mykoplasmenspezies, wurde in der vorliegenden Arbeit als dritthäufigste mit 25,0 % bei den Patientenhündinnen und als vierthäufigste Spezies mit 11,7 % in der Beaglepopulation nachgewiesen. Diese Häufigkeit liegt geringgradig über den von anderen Autoren beschriebenen Verhältnissen mit 5 % (ROSENDAL u. LABER 1973) bis 19,4 % (DOIG et al. 1981). Anderen Autoren, gelang dagegen der Nachweis von *M. edwardii* auf der kaninen Vaginalmukosa nicht (EBERLE u. KIRCHHOFF 1976; BRUCHIM et al. 1978). EBERLE und KIRCHHOFF (1976) isolierten diese Spezies zwar aus dem Rachen spontan geborener Welpen, nicht aber aus der kaudalen Vagina des Muttertieres. Ihre Schlussfolgerung, dass *M. edwardii* vermutlich tiefere Bereiche der Vagina besiedelt, wird von den Ergebnissen der eigenen Studie gestützt, die das Vorhandensein von *M. edwardii* im kranialen Bereich der Vagina zeigen. Dies rechtfertigt auch die Forderung von VAN DUIJKEREN (1992) und GÜNZEL-APEL (1994), Tupferproben aufgrund des Keimgefälles von kranial nach kaudal generell in der kranialen Vagina zu gewinnen. Übereinstimmend mit anderen Autoren (TULLY et al. 1970; ROSENDAL u. LABER 1973; DOIG et al. 1981) ist daher von einer Zugehörigkeit von *M. edwardii* zur physiologischen Keimflora der Hündin auszugehen. Eine mögliche Bedeutung als pathogenes Agens bei Genitalerkrankungen der Hündin wurde in der Literatur bisher

nicht diskutiert und konnte auch anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht abgeleitet werden. So war *M. edwardii* mit annähernd gleicher Frequenz bei gesunden und erkrankten Hündinnen zu finden. Darüber hinaus wurde eine Reinkultur von *M. edwardii* in hohem Keimgehalt ohne bakterielle Begleitflora bei einer klinisch geschlechtsgesunden Hündin festgestellt.

Der Nachweis von *M. cynos* mit 17,6 % bei den Patientenhündinnen und 9,7 % in der Beaglepopulation bestätigt die Ergebnisse anderer Studien (19,0 % (BRUCHIM et al. (1978), 14,9 % DOIG et al. (1981)). Daher ist eine Zugehörigkeit zur physiologischen Keimflora auch für diese Mykoplasmenspezies zu vermuten. Seit dem ersten Nachweis dieser Spezies im Respirationstrakt des Hundes (ROSENDAL 1973) wird von einer Beteiligung an infektiösen Pneumonien ausgegangen. Durch experimentelle endobronchiale Infektion mit *M. cynos* sowie durch Exposition konnten Pneumonien mit Zerstörung der Zilien sowie alveolare Infiltration mit Entzündungszellen ausgelöst werden (ROSENDAL 1973; ROSENDAL u. VINTHER 1977). Auch CHALKER und BROWNLIE (2004) entdeckten eine Beteiligung dieser Spezies an infektiösen Atemwegserkrankungen des Hundes. Trotz der fakultativen Pathogenität im Respirationstrakt ist eine solchen im Genitaltrakt nicht bekannt. berichtet. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass sowohl gesunde als auch an Genitalerkrankungen leidende Hündinnen *M. cynos* im Vaginaltrakt beherbergen. Obwohl weder in der Literatur noch in dieser Studie Hinweise auf einen ätiologischen Zusammenhang zwischen *M. cynos* und Genitalerkrankungen der Hündin gefunden wurden, sollte die Möglichkeit aufgrund der bekannten Pathogenität des Keims im Respirationstrakt des Hundes nicht vernachlässigt werden.

M. arginini, beim Hund bisher ausschließlich im Respirationstrakt und der Niere beschrieben (BARILE et al. 1968; ROSENDAL 1979; CHALKER 2005), wurde in der vorliegenden Studie erstmals im Vaginalsekret von Hündinnen nachgewiesen. Ursache für den gelungenen Nachweis von *M. arginini* im kaninen Genitaltrakt kann, wie bei *M. felis*, die Verwendung des Spezialmediums für Transport und Kultivierung sein. Überraschend ist allerdings, dass *M. arginini* nur bei einer von 46 Patientenhündinnen, jedoch bei 19,4 % der 17 geschlechtsgesunden Beaglehündinnen gefunden wurde. Hier stellte sie die dritthäufigste Mykoplasmenspezies dar. Die Diskrepanz in der Nachweishäufigkeit kann darauf beruhen, dass die in sich isolierte Tiergruppe durch Einschränkung exogener Einflüsse eine spezifische Vaginalflora ausgebildet hat. Da *M. arginini* bei

genitalgesunden Hündinnen nachgewiesen wurde, liegt eine Einstufung als Keim der physiologischen Vaginalflora der Hündin nahe. Bei der bereits erwähnten Patientenhündin war *M. arginini* mit *A. laidlawii* sowie Enterokokken vergesellschaftet. Dieses Tier litt an einer klinisch manifesten Endometritis, so dass eine mögliche Beteiligung von *M. arginini* am Infektionsgeschehen dieser Hündin nicht auszuschließen ist. Auch diesbezüglich bedarf es zur Abklärung weiterer Studien an größeren Hundepopulationen. Die zweite auf der Vaginalschleimhaut der soeben erwähnten, an Endometritis erkrankten Hündin nachgewiesene Mykoplasmenspezies wurde als *A. laidlawii* identifiziert. Obwohl bereits von ROSENDAL und LABER (1973) bei der Hündin beschrieben, gelang in der vorliegenden Studie kein weiterer Nachweis dieser Mykoplasmenspezies aus weiblichen oder männlichen Genitalsekreten. Da auch BRUCHIM et al. (1978) sowie DOIG et al. (1981) *A. laidlawii* nicht aus ihrem Probenmaterial isolieren konnten, wird eine untergeordnete Rolle dieser Spezies in der genitalen Keimflora des Hundes vermutet. Einen ätiologischen Zusammenhang dieser Spezies mit Genitalerkrankungen des Hundes anzunehmen scheint angesichts der bisher verfügbaren Daten verfrüht. Auch bei Stuten konnte keine Korrelation zwischen dem Nachweis von *Acholeplasma spp.* und Infertilität, Endometritis, Vulvitis oder mit Aborten gefunden werden (KIRCHHOFF et al. 1973, 1980; MOORTHY et al. 1977; HEITMANN et al. 1979; BERMUDEZ et al. 1988).

Weitere auf der Genitalschleimhaut des Hundes nachgewiesene Mykoplasmenspezies wie *M. bovigenitalium*, *M. feliminutum*, *M. gatae*, *M. maculosum*, *M. molare*, *M. opalescens*, *M. spumans* und *M. spp. HRC689* (ROSENDAL 1973; ROSENDAL u. LABER 1973; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981) konnten in der vorliegenden Arbeit nicht isoliert werden. Dies kann mit der Heterogenität der Mykoplasmen bezüglich des Anspruchs an das Milieu (HANNAN 2000) zusammenhängen. So ist es denkbar, dass Spezies, deren Nährstoffansprüchen das verwendete Medium nicht in optimaler Weise gerecht wurde, von Mykoplasmen, deren Bedürfnisse besser erfüllt waren, verdrängt wurden. EBERLE und KIRCHHOFF (1976) beschrieben *M. maculosum* und *M. spumans* als besonders anspruchsvoll in der Kultivierung und vermuteten, dass das Vorkommen dieser Spezies zumindest im Bereich des äußeren Genitale nicht möglich sei. Auch ein Überwuchern langsam wachsender Spezies durch schnell wachsende Mykoplasmen ist möglich. ROSENDAL (1976), der durch

immunfluoreszenzserologische Untersuchungen vermehrt *M. maculosum* in Erstisolaten nachweisen konnte, ging davon aus, dass es aufgrund der geringen Koloniegröße und des langsamen Wachstums dieser Spezies zu einer Überwucherung durch schnell wachsende Spezies kommt, wodurch *M. maculosum* bei Hunden seltener isoliert wurde, als sie tatsächlich vorkam. Denkbar ist aber auch denkbar, dass die hier nicht nachgewiesenen Spezies eine untergeordnete Rolle auf der Genitalschleimhaut des Hundes spielen. So konnte beispielsweise *M. opalsescens* zwar von BRUCHIM et al. (1978) aus dem Präputium des Rüdens nachgewiesen, aber von DOIG et al. (1981) nicht isoliert werden. Umgekehrt galt dasselbe für *M. spumans*. Da in der vorliegenden Studie das Vorkommen von *M. bovigenitalium* und *M. spp. HRC689* nicht untersucht wurde, kann eine Aussage über das Vorkommen dieser Mykoplasmenspezies im Genitale des Hundes nicht getroffen werden.

4.2 Aerobe Keimflora im Genitale der Hündin

In der vorliegenden Arbeit wurden auf der Vaginalschleimhaut von 95,9 % der untersuchten Patientenhündinnen und 98,8% der Beagle aerobe Bakterien nachgewiesen werden. Dabei dominierten *Pasteurella* spp., α- und anhämolysierende Streptokokken, *Sc. canis*, *E. coli* sowie *S. intermedius*, gefolgt von koagulasenegative Staphylokokken, Enterokokken und *Actinomyces spp.*. Alle diese Bakterien wurden auch von anderen Autoren als Hauptbestandteil der kaninen Vaginalflora beschrieben. Als potentiell pathogen werden in erster Linie *E. coli*, *Sc. canis* sowie *St. intermedius* eingestuft (HIRSH u. WIGER 1977; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a). Damit bestätigen die Ergebnisse dieser Studie, dass die Keimbesiedlung der genitalgesunden Hündin überwiegend aus fakultativ pathogenen Keimen besteht (OSBALDISTON et al. 1972; PLATT u. SIMPSON 1974; HIRSH u. WIGER 1977; OLSON u. MATHER 1978; ALLEN u. DAGNALL 1982; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a; SIESENOP et al. 1996; GÜNZEL-APEL et al. 1999). Während von anderen Autoren kein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorkommens bestimmter Bakterien bei genitalgesunden und -erkrankten Hündinnen gefunden wurde (PLATT u. SIMPSON 1974; HIRSH u. WIGER 1977; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a), konnte in dieser Studie ein solcher für *E. coli* gezeigt werden (Fisher`s exact test: p =

0,0107). So wurde *E. coli* häufiger in Vaginalsekretproben von Hündinnen mit einer Uteropathie nachgewiesen als bei genitalgesunden Tieren. Dieses Ergebnis unterstreicht die Einstufung von *E. coli* als potentiell pathogenes Agens bei entzündlichen Uteropathien und zeigt seine Sonderstellung im Bereich der fakultativ pathogenen Bakterien. So werden bei Hündinnen mit Endometritis besonders häufig Reinkulturen von *E. coli* beschrieben (OLSON et al. 1984; SCHAEFERS-OKKENS 1996). Dennoch muss der Nachweis dieser Spezies selbst in Reinkultur nicht zwangsläufig für das Vorliegen einer Genitalerkrankung sprechen (GÜNZEL-APEL et al. 1999).

Eine vom Reproduktionsstatus abhängige vaginale Keimflora wurde bisher nicht beschrieben (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a). Dem widerspricht signifikant häufigere Nachweis von *S. intermedius* bei Hündinnen vor dem ersten Zuchteinsatz im Vergleich zu Hündinnen, die bereits in der Zucht waren. Ebenso steht dieses Ergebnis im Gegensatz zu den Beobachtungen von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a), die *S. intermedius* fast ausschließlich aus der Vagina von Hündinnen post partum isolierten.

Bezüglich der bakteriellen Keimflora lag der Durchschnitt der Keimisolate je Tupferprobe bei 2,15 und damit exakt in dem Bereich des von GÜNZEL-APEL et al. (1999) erhobenen Durchschnitts von 2,2. BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) wiesen eine etwas höhere Anzahl an Keimisolaten je Tupfer auf, während SIESENOP et al. (1996) nur 1,71 Keimisolate je Tupfer gewinnen konnten. Im Anöstrus wurde eine zum Gesamtdurchschnitt deutlich verringerte Isolationshäufigkeit (1,67) festgestellt. Es wird auf die Diskussion der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung im Zyklusverlauf hingewiesen.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen von GÜNZEL-APEL et al. (1999) konnten selten hochgradige Keimgehalte isoliert werden, wobei häufig eine bakterielle Mischkultur vorlag. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung der Vaginalschleimhaut bestätigen erneut die Resultate anderer Autoren dahingehend, dass die Keimbesiedlung der Vaginalschleimhaut gesunder und klinisch erkrankter Hündinnen sehr variabel ist und aus einer Vergesellschaftung apathogener und fakultativ pathogener Bakterien besteht.

Die Frage, ob der Nachweis insbesondere von potentiell pathogenen Bakterien ohne klinische Symptome einer Genitalerkrankung eine antibiotische Therapie erfordert, kann übereinstimmend mit den Empfehlungen anderer Autoren (BJURSTRÖM u.

LINDE-FORSBERG 1992a; SIESENOP et al. 1996; GÜNZEL-APEL et al. 1999) dahingehend beantwortet werden, dass kulturell nachgewiesene Bakterien individuell unter Berücksichtigung der Anamnese, des Zyklusstandes sowie der klinischen und zytologischen Befunde interpretiert werden muss.

4.3 Vaginale Mykoplasmen und aerobe Keimflora im Zyklusverlauf

Die Mehrzahl der verfügbaren Daten zur Mykoplasmen- und bakteriellen Vaginalflora sowie der der Hündin basieren auf Einzeltupferproben (LEIBOLD 1954; PLATT u. SIMPSON 1974; HIRSH u. WIGER 1977; LING u. RUBY 1978; OLSON u. MATHER 1978; BRUCHIM et al. 1978; DOIG et al. 1981; ALLEN u. DAGNALL 1982; BABA et al. 1983). Im Hinblick auf den Zyklusverlauf wurde in erster Linie die Bakterienflora untersucht (BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992a; SIESENOP et al. 1996; GÜNZEL-APEL et al. 1999). Die von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) ebenfalls beschriebenen Mykoplasmen wurden jedoch nicht in angemessenen Nährmedien kultiviert, so dass von einem unvollständigen Nachweis auszugehen ist. Um mögliche zyklusabhängige Veränderungen der Mykoplasmenflora zu erfassen wurde eine Gruppe von Beaglehündinnenpopulation untersucht, die unter identischen Bedingungen weitestgehend isoliert von externen Hunden in Zwingern gehalten wurde. Die Wahl der Probenentnahme- und Untersuchungszeitpunkte im Zyklusverlauf wurde an die Vorgehensweise von SIESENOP et al. (1996) und GÜNZEL-APEL et al. (1999) angelehnt. Auf diese Weise war auch ein unmittelbarer Vergleich mit den Ergebnissen aus diesen Studien möglich. Alle 17 Beaglehündinnen wiesen im Zyklusverlauf die typischen äußeren Symptome (GÜNZEL u. KOIVISTO, 1984) und vaginoskopischen und vaginalzytologischen Befunde auf (HELBIG 1986). Die 17-β-Östradiol- sowie die Progesteronkonzentrationen im peripheren Blutserum (s. Tabelle im Anhang) ließen bei allen Hündinnen eine physiologische Ovarfunktion erkennen und entsprachen den in der Literatur genannten Werten (CONCANNON et al. 1975; WILDT et al. 1977). Krankhafte Befunde im Sinne einer Genitalerkrankung (Vaginitis, Endometritis) traten im gesamten Untersuchungszeitraum nicht auf.

Mykoplasmenflora im Zyklusverlauf

Die im Zyklusverlauf erhobene Nachweishäufigkeit von Mykoplasmen im Vaginalsekret liegt mit 73,8 % innerhalb des von anderen Autoren ermittelten

Bereichs (LING u. RUBY 1978; DOIG et al. 1981), so dass das Vorkommen von Mykoplasmen in der untersuchten Beaglepopulation als repräsentativ bewertet wird.
Die Mykoplasmenflora der Beagle stimmte qualitativ weitestgehend mit der bei den Patientenhündinnen erhobenen Flora überein. So war auch hier *M. canis* der dominierende und *M. felis* die zweithäufigste Spezies. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Patientenhündinnen zeigte *M. arginini* eine deutliche Präsenz, gefolgt von *M. edwardii* und *M.* cynos. Keine der Mykoplasmenspezies wurde in einer bestimmten Zyklusphase besonders häufig isoliert. Lediglich *M. canis* wurde vermehrt in der Phase höchster Gelbkörperaktivität beobachtet. Eine Häufung in der Lutealphase wurde bereits von SIESENOP et al. (1996) für *E. coli* beschrieben. Diesbezüglich stellten SANDHOLM et al. (1975) eine unter Progesteroneinfluss bevorzugte Anheftung von *E. coli* und *Sc. canis* an den Bürstensaum des Endometriums fest, was sich mit der Häufung klinisch manifester Endometritiden in der Lutealphase deckt (BLENDINGER et al. 1997). Ob und in wie weit das Vorkommen von *M. canis* auf der Scheidenschleimhaut des Hundes durch Progesteron beeinflusst wird bedarf weiterer Studien.
Eine Zuordnung einer spezifischen Zusammensetzung der Mykoplasmenflora zu einer bestimmten Zyklusphase kann nicht erfolgen. Dies steht im Einklang mit den Untersuchungsergebnissen von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a).
Mit Ausnahme von *M. cynos* wurden alle Mykoplasmenspezies am häufigsten während der Phasen der Ovaraktivität (Follikelphase, Gelbkörperanbindung (Östrus), hohe Gelbkörperaktivität) nachgewiesen. Die Anzahl der Mykoplasmenspezies pro Vaginaltupferprobe waren in der Läufigkeit (Proöstrus und Östrus) und in der frühen Lutealphase (Metöstrus 1) am höchsten. Während der ovarialen Ruhephase (Endometriumsreparation und Anöstrus) lag dagegen die Anzahl der Isolate / Probe deutlich unter dem Durchschnitt von 0,99. Ebenso wurden während der Läufigkeit und der Lutealphase deutlich öfter Mykoplasmen in hohem Keimgehalt nachgewiesen werden als während der Ovarruhe. Diese Beobachtungen anderer werden auch für die vaginale Bakterienflora geltend gemacht (ALLEN und DAGNALL 1982; BABA et al. 1983; SIESENOP et al. 1996; GÜNZEL-APEL et al. 1999). Ein ursächlicher Zusammenhang wird mit der zunehmenden Dicke der Vaginalmukosa und der damit einhergehend erschwerten Penetration von Abwehrzellen aus den tieferen Schichten mit dem Anstieg des immunsuppressiv wirkenden Progesterons diskutiert (HAWK et al. 1960; CONCANNON et al. 1975; OLSON et al. 1982;

TAMMER et al. 1994; GÜNZEL-APEL et al. 1999). Auch die in der Läufigkeit erhöhte Feuchtigkeit im Vaginaltrakt und der Blutanteil im Vaginalsekret kann die Wachstumsbedingungen von Bakterien optimieren (BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG 1992a) und möglicherweise auch für Mykoplasmen günstige Bedingungen schaffen.

Aerobe Bakterienflora im Zyklusverlauf

BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) identifizierten *P. multocida* mit 59,6 % der Isolate als häufigsten Vaginalkeim. In der vorliegenden Studie zeigten Pasteurellen eine dominierende Präsenz (48,2 %) im Vaginalsekret, wobei in keinem Fall *P. multocida* nachgewiesen wurde. In der Studie von SIESENOP et al. (1996) machten *Pasteurella spp.* lediglich 5,3 % der Keime aus. Nur die Hälfte wurde als *P. multocida* identifiziert.

Darüber hinaus konnte Pasteurella spp. häufiger in der Läufigkeit (Proöstrus und Östrus) und in der Lutealphase isoliert werden als zu anderen Zeiten im Zyklus. Dies bestätigt die von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) hinsichtlich Pasteurella multocida beobachteten Ergebnisse. Sie begründeten ihre Ergebnisse damit, dass Pasteurellen durch Serumzusatz bessere Wachstumsbedingungen haben (HOLT 1984, 1986). Im Gegensatz hierzu wiesen GÜNZEL-APEL et al. (1999) *P. multocida* etwas häufiger im Anöstrus als in der Läufigkeit nach.

Die von ALLEN und DAGNALL (1982) sowie BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) genannte Dominanz der β-hämolysierenden Streptokokken im Vaginalsekret verglichen mit anderen Streptokokken ließ sich in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigen. Hier wurden α- und anhämolysierende Streptokokken etwas häufiger als *Sc. canis* isoliert, was mit den Ergebnissen der retrospektiven Studie von GÖRZ (1996) und den Beobachtungen von GÜNZEL-APEL et al. (1999) übereinstimmt.

BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) beschrieben eine signifikante Häufung von Isolaten mit β-hämolysierenden Streptokokken im Proöstrus im Vergleich zum Östrus, zur Trächtigkeit oder zum Puerperium. Dagegen beobachteten SIESENOP et al. (1996) eine Häufung bei den präpubertalen juvenilen Hündinnen und eine stetige Abnahme Verlauf des ersten Zyklus. In der vorliegenden Studie wurde als einziger Vertreter der β-hämolysierenden Streptokokken *Sc. canis* nachgewiesen. Dieser Keim trat annähernd konstant in allen Zyklusphasen auf. Nur im Anöstrus war eine Abnahme zu verzeichnen. Allerdings bestand wie in der Studie

von SIESENOP et al. (1996) eine Häufung der Isolate mit hochgradigem *Sc. canis*-Keimgehalt während der Läufigkeit. Diese wird von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) mit dem vermehrten Blutgehalt in der Vagina während der Läufigkeit erklärt.

Für *E. coli* stellten BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) keine zyklusabhängige Häufigkeitsvertretung fest, während SIESENOP et al. (1996) diesem Keim ein vermehrtes Auftreten im frühen Metöstrus (Gelbkörperblüte) nachwiesen. Letzteres kann hinsichtlich der hämolysierenden E. coli mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit in Übereinstimmung mit GÜNZEL-APEL et al. (1999) bestätigt werden (Tabelle). Eine Erklärung hierfür ist in der von SANDHOLM et al. (1975) unter Progesteroneinfluss festgestellten verstärkten Antigenadhärens von E. coli an die Uterusmukosa zu suchen.

S. intermedius wurde dagegen häufiger im Metöstrus und Anöstrus isoliert als während der Läufigkeit. Übereinstimmend stellten SIESENOP et al. (1996) *S. intermedius* vermehrt im Anöstrus fest. BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) fanden diesen Keim fast ausschließlich während der postpartalen Phase und sahen im Lochialfluss und geburtsbedingten Verletzungen der Mukosa eine mögliche Begründung.

Eine Häufung anderer Bakterien wurde in der vorliegenden Studie übereinstimmend mit BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) sowie SIESENOP et al. (1996) nicht nachgewiesen.

Bezüglich der übrigen bakteriellen Begleitflora lag der Durchschnitt der Keimisolate je Tupferprobe bei 2,54 und damit im Bereich des von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992a) erhobenen Werts von 2,3 sowie des von GÜNZEL-APEL et al. (1999) erhobenen Werts von 2,2. Die von SIESENOP et al. (1996) ermittelte Anzahl von nur 1,71 Keimisolaten je Tupfer führten sie auf einen größeren Anteil negativer Tupferproben zurück. Letzteres hatte auch in der vorliegenden Arbeit eine unter dem Gesamtdurchschnitt liegende Anzahl an Keimisolaten in der Follikelphase zur Folge. Die relativ geringe Anzahl an Keimisolaten je Tupfer in der Phase der Endometriumsreparation und im Anöstrus bestätigt die Beobachtung von SIESENOP et al. (1996), dass der vaginale Keimgehalt in Zyklusphasen der Ovarruhe geringer ist. In diese Richtung weißt auch der ausschließliche Nachweis hochgradiger Keimgehalte während der Läufigkeit, was ebenfalls im Einklang mit den von SIESENOP et al. (1996) erhobenen Daten steht. Das überwiegende Vorliegen von

geringgradigen Keimgehalten stimmt sowohl mit den bei den Patientenhündinnen erhobenen Befunden als auch mit den Beobachtungen von GÜNZEL-APEL et al. (1999) überein.

4.4 Einfluss von Mykoplasmen auf die Fruchtbarkeit

ZÖLDAG et al. (1992) beschrieben eine durch Mykoplasmen hervorgerufene Abnahme der Wurfgröße und erhöhte Welpensterblichkeit. In der vorliegenden Studie zeigte sich, Dabei zeigte sich, dass selbst ein hoher Gehalt an Mykoplasmen bei klinisch genitalgesunden Hündinnen keinen Einfluss auf die Fruchtbarkeit hatte. BJURSTRÖM (1993) erklärte, dass der bakterielle Befund eines Vaginaltupfers bei Hündinnen mit erfolglosen Zuchteinsätzen ohne klinisch manifeste Genitalerkrankung nur von untergeordneter diagnostischer Relevanz ist. Diese Aussage kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse auf die untersuchten Mykoplasmen übertragen werden. Dasselbe kann bezüglich der Wurfgröße und der Welpensterblichkeit konstatiert werden.

4.5 Untersuchung der Plazenta auf Mykoplasmen

Bei zwei gebärenden Hündinnen, in deren Vaginalsekret Mykoplasmen zum Geburtstermin nachgewiesen worden war, wurden in der jeweiligen Plazenta keine Mykoplasmen gefunden. Dieser erhobene Befund stützt die Beobachtung von EBERLE und KIRCHHOFF (1976), wonach Mykoplasmen aus Rachentupfern spontan geborener Hundewelpen, nicht aber durch Kaiserschnitt entwickelter Welpen isoliert wurden. Dies spricht gegen eine plazentare Übertragung, aber für eine Infektion der Neonaten während der Geburt.

4.6 Mykoplasmen im Genitale des Rüden

Über den Nachweis von Mykoplasmen in Genitalsekreten des männlichen Hundes liegen bisher nur wenige Informationen vor (DOIG et al. 1981; LING et al. 1983; BJURSTRÖM u. LINDE-FORSBERG 1992b; KUSTRITZ et al. 2005; SCHÄFER-SOMI u. SPERGSER 2007). Dabei wurde häufiger nur Präputialsekretproben untersucht. Unter Verwendung eines Spezialnährbodens wiesen LING et al. (1983) Mykoplasmen nach. Das Vorkommen von Mykoplasmen im Prostatasekret wurde nur

bei einem Keimgehalt der > 2 log10 des Keimgehaltes der Urethra erwähnt, so dass die tatsächliche Inzidenz nicht charakterisiert wurde. Auch fand eine Differenzierung verschiedener Spezies nicht statt. Ein Bezug zur Fruchtbarkeit wurde ebenfalls nicht hergestellt. DOIG et al. (1981) setzten den Nachweis von Mykoplasmen im Genitaltrakt des Rüden in Bezug zur Genitalgesundheit und Fruchtbarkeit ohne bakterielle Begleitkeime zu berücksichtigen. KUSTRITZ et al. (2005) konnten in 26 von 55 mykoplasmenhaltigen Ejakulatproben keine Entzündungszellen nachweisen und schlussfolgerten, dass dem Vorhandensein von Mykoplasmen per se keine klinische Relevanz beizumessen ist. Da BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) keinen Spezialnährboden für die Mykoplasmenanzucht aus Genitalsekretproben von Rüden verwendeten, muss die von ihnen ermittelte Inzidenz von Mykoplasmen in Frage gestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden aus 75,4 % der Ejakulatproben Mykoplasmen nachgewiesen. Daraus ergibt sich eine höhere Inzidenz als von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) mit 26,7 % beschrieben wurde. Sie entspricht den Ergebnissen von DOIG et al. (1981), die aus 72,0 % der untersuchten Samenproben (n = 25) Mykoplasmen isolierten. Mykoplasmen wurden in der vorliegenden Arbeit aus 71,4 % der untersuchten Präputialtupfer nachgewiesen. Dieser Wert liegt innerhalb der von anderen Autoren ermittelten Nachweishäufigkeiten, die im Bereich von 35 % (LING u. RUBY 1978) bis zu 84 % (DOIG et al. 1981) liegen. Die Ergebnisse sind gemeinsam mit den Beobachtungen anderer Autoren (ROSENDAL u. LABER 1973; BRUCHIM et al. 1978; LING u. RUBY 1978; DOIG et al. 1981, ZÖLDAG et al. 1992) dahingehend zu interpretieren, dass Mykoplasmen der physiologischen Präputialflora des Rüden angehören.

Die Inzidenz von Mykoplasmen im Präputialtupfer und im Ejakulat war signifikant korreliert (Konkordanzindex kappa gesamt 0,9157, *M. canis* 0,9091, *M. cynos* und *M. edwardii* 0,6600, *M. felis* 0,5100, *M. arginini* 0,4200). Ähnliches beschrieben BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b), als sie im Ejakulat der untersuchten Rüden ausschließlich Bakterien nachwiesen, die sie auch auf dem Präputium der Rüden isolierten. Diese Übereinstimmung kann auf der Methode der Samengewinnung beruhen, bei welcher Kontaminationen nicht vollkommen ausgeschlossen werden können (BARSANTI u. FINCO 1979; LING et al. 1983; BARSANTI u. FINCO 1986; KUSTRITZ 2006). Nur mit Hilfe invasiver Techniken wie der Biopsie besteht eine hohe Sicherheit des organspezifischen Keimnachweises

(KUSTRITZ 2006). Nach Abwägung der Risiken und Nutzen solcher Probenentnahmen hat sich trotz der genannten Einschränkung als Mittel der Wahl für die bakteriologische Untersuchung des männlichen Genitale die fraktionierte Samengewinnung durch manuelle Stimulation durchgesetzt (KUTZLER 2005). Das Vorliegen von mehr als 10^5 koloniebildenden Einheiten pro ml wird als signifikant angesehen (BARSANTI u. FINCO 1986; KUSTRITZ et al. 2005). GÖRZ (1996) sah einen semiquantitativ hochgradigen Gehalt einer Keimspezies in Prostatasekretproben als prostataspezifisch an. Für repräsentative Ergebnisse der vorliegenden Studie hinsichtlich des Mykoplasmenvorkommens sprechen folgende Argumente. So zeigen die semiquantitativen Ergebnisse, dass sehr häufig (75,5 %) hochgradige Mykoplasmengehalte in den Ejakulatproben vorlagen. Das überwiegend untersuchte (n = 29) Nachsekret ist aufgrund der bereits durch die Ejakulation ausgeschwemmten Mikroflora der distalen Urethra einem geringeren Kontaminationsdruck ausgesetzt. Zudem ermöglicht diese Phase der Ejakulation (Hängen) eine Samengewinnung ohne Kontakt des Penis zum sterilen Auffangglasrand und somit ohne Kontamination mit der Präputialkeimflora.

Ein vom Reproduktionsstatus abhängiges Vorkommen von Mykoplasmen war übereinstimmend mit DOIG et al. (1981) sowie BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) nicht erkennbar. So konnten Mykoplasmen gleich häufig in Ejakulaten und Präputialtupfern von Rüden isoliert werden, die noch nicht gedeckt hatten oder bereits in der Zucht eingesetzt worden waren. Nur *M. canis* wurde ausschließlich bei Rüden nachgewiesen, die bereits gedeckt hatten. Dieses Ergebnis ließ sich statistisch absichern (Fisher´s exact test p = 0,0072). Der nahe liegenden Vermutung, dass die Infektion des Rüden mit *M. canis* beim Deckakt erfolgt, widersprechen die Ergebnisse von DOIG et al. (1981), die bei 18,2 % der Rüden, die nicht im Zuchteinsatz standen, *M. canis* in der Präputialhöhle nachwiesen. Ferner werden Mykoplasmenspezies regelmäßig im Rachen von Hunden regelmäßig nachgewiesen (CHALKER 2005), so dass der Keim auch durch Belecken des Penis in den Genitaltrakt gelangen kann. Die relativ kleine Stichprobe (n = 15) erfordert zudem eine kritische Bewertung errechneter Signifikanzen.

In Bezug auf das Alter ist aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie davon auszugehen, dass eine Besiedlung des Genitaltraktes beim Rüden (wie bei der Hündin) in jedem Alter stattfinden kann.

Hinsichtlich des genitalen Gesundheitsstatus weisen die eigenen Ergebnisse Unterschiede zu den Angaben anderer Autoren auf. So isolierten DOIG et al. (1981) und ZÖLDAG et al. (1992) Mykoplasmen signifikant häufiger aus Ejakulatproben bzw. Präputialsekrettupfern erkrankter Tiere. Dagegen wurden in der vorliegenden Arbeit Mykoplasmen häufiger in Ejakulatproben gesunder Rüden (89,3 %) als bei erkrankten Tieren (64,9 %) nachgewiesen. Dieser Unterschied war nicht signifikant. In Folge dessen darf wie von KUSTRITZ et al. (2005) konstatiert die Präsenz von Mykoplasmen in Ejakulatproben von Hunden nicht als Indiz für eine Genitalerkrankung gewertet werden. Somit ist von einer therapeutischen Intervention ohne eine bestehende klinisch manifeste Genitalerkrankung abzusehen. In diese Richtung deutet auch der Nachweis überwiegend hochgradiger Mykoplasmengehalte unabhängig von Reproduktions- und Gesundheitsstatus.

Als dominierende **Mykoplasmenspezies** im Genitaltrakt des Rüden wurde in der vorliegenden Arbeit *M. felis* in 55,1 % der Ejakulate und 45,0 % der Präputialabstriche nachgewiesen. Die deutliche Präsenz von *M. felis* ist insofern überraschend, als diese Spezies im Genitaltrakt des Rüden bisher nur von DOIG et al. (1981) beschrieben wurde. Sie beschränkten sich mit einer Nachweishäufigkeit von 3,9 % auf das Präputium. Die Dominanz dieser Mykoplasmenspezies im Genitaltrakt der untersuchten Rüden kann ähnlich wie bei den Hündinnen auf einer erfolgreichen Kultivierung durch Verwendung des Spezialmediums für Transport und Kultivierung beruhen. Obwohl für *M. felis* hier übereinstimmend mit DOIG et al. (1981) keine potentielle Pathogenität abgeleitet werden konnte, werden schon aufgrund der dominierenden Präsenz in dieser Studie weiterführende Untersuchungen für erforderlich gehalten.

Die zweithäufigste Mykoplasmenspezies mit 38,8 % in Ejakulaten und 30,0 % in Präputialabstrichen war *M. cynos*. Die Inzidenz entspricht den Ergebnissen DOIG et al. (1981) (35,3 % im Präputium; 38,9 % in Ejakulaten), liegen jedoch über den Angaben von BRUCHIM et al. (1978), die *M. cynos* in 13,5 % der Präputialsekretproben fanden. Ein Zusammenhang mit dem Reproduktions- und Gesundheitsstatus war in Übereinstimmung mit DOIG et al. (1981) nicht zu erkennen. Hinweise für eine obligate Pathogenität dieser Spezies im männlichen kaninen Genitaltrakt gab es wie in früheren Studien (BRUCHIM et al. 1978; DOIG et

al. 1981) keine. Allerdings kann eine fakultative Pathogenität von *M. cynos* aufgrund einer bei einem Rüden diagnostizierten Nebenhodenentzündung vermutet werden. *M. cynos* wurde in Reinkultur isoliert.

Aus 35,0 % der Präputialtupferproben und 26,5 % der Samenproben konnte *M. canis* isoliert werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den von BRUCHIM et al. (1978) und DOIG et al. (1981) ermittelten Isolationshäufigkeiten weitestgehend überein. *M. canis* wurde mehrfach im Zusammenhang mit Genitalinfekten und Samenmängeln gebracht. So wiesen HOLZMANN und LABER (1977a, b) mittels *in- vivo*-Infektionsversuchen einen signifikant höheren Anteil an formabweichenden Spermien sowie Orchititiden und Epididymiditiden nach. L'ABEE-LUND et al. (2003) ermittelten *M. canis* als Infektionsursache bei Rüden mit Urogenitalinfektionen. Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie war eine besondere Bedeutung von *M. canis* im Zusammenhang mit Samenmängeln, Prostataerkrankungen oder Hodenentzündungen nicht abzuleiten. Daher kann die Notwendigkeit einer Vakzinierung, wie sie von SCHÄFER-SOMI und SPERGSER (2007) beschrieben wurde, aufgrund der hier erhobenen Befunde nicht nachvollzogen werden. Dennoch sollte im Einzelfall wie von anderen Autoren (HOLZMANN u. LABER 1977; ZÖLDAG et al. 1992; L'ABEE-LUND et al. 2003; SCHÄFER-SOMI u. SPERGSER 2007) empfohlen von einer fakultativen Pathogenität dieser Spezies im Genitale des Rüden ausgegangen werden. So wurde hier eine diagnostizierte Nebenhodenentzündung aufgrund entsprechender Samenmängeln bei einem Rüden auf eine Infektion mit *M. canis* zurückgeführt, da eine bakterielle Begleitflora fehlte. Der hier gleichermaßen nachgewiesenen Spezies *M. edwardii* wird eine untergeordnete Rolle beigemessen, da übereinstimmend mit DOIG et al. (1981) keine pathogene Bedeutung für *M. edwardii* zu erkennen war, zu mal aus dem Präputialsekret des selben Rüden ausschließlich ein hoher Keimgehalt an *M. edwardii* isoliert wurde. Damit gilt eine Kontamination des Ejakulates als wahrscheinlich.

Insgesamt wurde *M. edwardii* mit einer Häufigkeit von 10,0 % in den Präputialtupferproben und 16,3 % in den untersuchten Ejakulaten eher selten isoliert. Gleichwohl liegen diese Werte über den Angaben anderer Autoren (BRUCHIM et al. (1978) 5,4 % im Präputialsekret bzw. DOIG et al. (1981) 2,0 % im Präputialsekret und 5,5 % in Ejakulatproben). Ein mit dem Reproduktionsstatus oder der genitalen Gesundheit zusammenhängendes Auftreten dieser Spezies war übereinstimmend mit DOIG et al. (1981) nicht zu beobachten. Darüber hinaus wurde *M. edwardii* im

Ejakulat eines geschlechtsgesunden Rüden mit Normospermie in hohem Keimgehalt als Monokultur ohne bakterielle Begleitflora isoliert. Dem zufolge wird *M. edwardii* als Genitalinfektionserreger des Hundes derzeit keine Bedeutung beigemessen.
Eine Isolation von *M. arginini* aus dem Genitaltrakt des männlichen Hundes wurde bisher nicht beschrieben (CHALKER 2005). Daher ist die Inzidenz dieser Spezies mit 20,0 % in den Präputialabstrichen und 26,5 % in den Ejakulaten unerwartet hoch. Dies kann auf der Verwendung des Spezialmediums für Transport und Kultivierung beruhen, so dass gute Vorraussetzungen für eine erfolgreiche Kultivierung dieser Mykoplasmenspezies bestanden. Da ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *M. arginini* und Samenmängeln oder Prostataerkrankungen nicht beobachtet werden konnte, wird *M. arginini* als apathogene Mykoplasmenspezies im Genitaltrakt des Rüden eingestuft.

4.7 Aerobe Bakterien im Genitale des Rüden

Der Nachweis von Bakterien in 78,5 % der untersuchten Ejakulatproben liegt deutlich über dem von BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) genannten Wert von 30,2 % und dem von GÖRZ (1996) genannten Wert von 44,3 %.
Als dominierende Keime wurden koagulasenegative Staphylokokken, Keime der Bacillus-subtilis-Gruppe, *S. intermedius*, *Sc. canis* sowie alpha- und anhämolysierende Streptokokken nachgewiesen. Seltener konnten *E. coli*, *Enterococcus spp.* und *Pasteurella spp.* isoliert werden. Vereinzelt waren *Pantoea spp.*, *Serratia spp.*, *Micrococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Moraxella spp.*, *Weeksella spp.*, *Clostridium perfringens* und coryneforme Bakterien zu beobachten. Alle genannten Keimspezies wurden bereits von anderen Autoren im Genitale des Rüden beschrieben. *E. coli* wurde in dieser Studie mit einer Häufigkeit von 6,1 % im Vergleich mit dem Schrifttum ausgesprochen selten nachgewiesen (LING et al. (1983) 45,8 %, BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG (1992b) 13,4 %, GÖRZ (1996) 56,5 %).
Auch bezüglich des bakteriellen Keimgehaltes im Ejakulat muss die Möglichkeit der Kontamination mit der Keimflora der distalen Urethra bedacht werden (BARSANTI u. FINCO 1979; LING et al. 1983; KUSTRITZ et al. 2005). Wenn die von LING et al. (1983) genannten Kriterien zur Unterscheidung einer Infektion von einer Kontamination herangezogen werden, muss teilweise von einer Kontamination ausgegangen werden. So wurden in der vorliegenden Studie fast ausschließlich

geringe Keimgehalte (92,2 %) isoliert. Da es sich vorwiegend um Nachsekretproben handelte, ist der Kontaminationsdruck geringer als bei den anderen Ejakulatphasen. Aufgrund der in der vorliegenden Studie erhobenen Anamnese und Durchführung einer klinischen Untersuchung mit spermatologischer und sonographischer Befundanalyse konnte eine Einschätzung der klinischen Relevanz des isolierten Keimgehaltes erfolgen. So wurde *E. coli* übereinstimmend mit anderen Autoren häufiger bei Rüden mit klinisch manifester Prostatitis nachgewiesen als bei genitalgesunden Tieren (LING et al. 1983; BARSANTI u. FINCO 1986).

4.8 Mykoplasmennachweis nach Therapie

Bei je zwei Hündinnen und zwei Rüden wurde aufgrund einer vorliegenden Mykoplasmeninfektion mit dem Verdacht eines ursächlichen Zusammenhangs mit einer klinischen Erkrankung eine orale antibiotische Therapie mit Enrofloxacin eingeleitet. Anlässlich der Kontrolluntersuchung (Hündinnen: 14 Tage nach Behandlungsbeginn; Rüden: 3 Monate nach Behandlungsbeginn) wurden bei beiden Hündinnen keine Mykoplasmen im Vaginalabstrich nachgewiesen, während aus den Ejakulaten beider Rüden erneut Mykoplasmen isoliert wurden. Dabei handelte es sich jeweils um eine andere Mykoplasmenspezies. Da bei den Rüden zwischen dem Ende der Therapie und der erneuten Untersuchung zwei Monate lagen, ist eine Neuinfektion trotz Deckruhe denkbar. In beiden Fällen hatten sich die klinischen Situationen verschlechtert. So ist ein Infektionswechsel als Ursache des Therapieversagens möglich (WERK 1986).

Aufgrund der geringen Tierzahl können weder die diagnostizierten Erkrankungen verlässlich auf eine Mykoplasmeninfektion als kausales Agens zurückgeführt, noch kann eine *in vivo* Sensibilität gegenüber Enrofloxacin abgeleitet werden. Dennoch spricht vieles dafür, dass die untersuchten Mykoplasmen *in vivo* ansprechbar für Enrofloxacin waren. So hält HIRSH (2000) Enrofloxacin für das einzige gegen Mykoplasmen wirkende Antibiotikum. Die Ergebnisse dieser Studie machen den Bedarf an weiteren Untersuchungen an größeren Tierpopulationen und einheitlichen Voraussetzungen für die Behandlungsdauer und Untersuchungszeitpunkte deutlich.

5 Zusammenfassung

Eschricht, Franziska Mareike (2008):
Zum Vorkommen von Mykoplasmen im genitalen Keimspektrum des weiblichen und männlichen Hundes

Ziel der vorliegenden Studie war es, das Vorkommen von Mykoplasmen im Genitale des weiblichen und männlichen Hundes im Kontext mit der aeroben Standortflora zu ermitteln, im Zyklusverlauf der Hündin zu charakterisieren und die klinische Relevanz von Mykoplasmen bei Genitalerkrankungen und Subfertilität zu erfassen.
Zu diesem Zweck wurden 46 Hündinnen und 65 Rüden aus Privatbesitz auf ihre Genitalgesundheit untersucht und Vaginalsekret-, Präputialtupfer- sowie Ejakulatproben zum kulturellen Mykoplasmennachweis und zur bakteriologischen Diagnostik gewonnen. Zusätzlich wurde bei 17 genitalgesunden Beaglehündinnen die vaginale Mykoplasmenflora in definierten Stadien des Sexualzyklus qualitativ und semiquantitativ bestimmt.
Mykoplasmen wurden bei 60,9 % der Hündinnen im Vaginalsekret, und zwar häufiger bei erkrankten Hündinnen (71,4 %) als bei genitalgesunden Tieren (56,3%), nachgewiesen ($p > 0,05$).
Als dominierende Mykoplasmenspezies im Genitale der Hündin wurde *M. canis* (50,0%) identifiziert, gefolgt von *M. felis* (Patienten 28,6 %, Beagle 29,0 %), *M. edwardii* (Patienten 25,0 %, Beagle 17,7 %), *M. cynos* (Patienten 17,6 %, Beagle 9,7 %), *M. arginini* (Patienten 3,6%, Beagle 19,4 %) und bei einer Patientenhündin *A. laidlawii* (Patienten). Das Vorkommen von *M. felis* und *M. arginini* im Genitale der Hündin wird damit erstmals beschrieben.
Eine vom Zyklusstand abhängige spezifische Zusammensetzung der Mykoplasmenflora der Hündin war nicht zu beobachten. In den Zyklusphasen mit aktiver Ovarfunktion (Läufigkeit und Gelbkörperphase) war die durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenspezies größer sowie das semiquantitative Vorkommen höher als zu Zeiten der Ovarruhe (Endometriumsreparation und Anöstrus).

Bei 71,4 % der Rüden wurden Mykoplasmen im Präputialabstrich und bei 75,4 % im Sperma nachgewiesen. Anders als bei den Hündinnen wurden Mykoplasmen häufiger bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie (89,3 %) isoliert, als bei erkrankten Rüden mit Ejakulatmängeln (64,9 %) ($p > 0,05$).

Überraschenderweise stellte *M. felis* die dominierende Mykoplasmenspezies im Genitale des Rüden dar (Präputium 45,0 %, Sperma 55,1 %), gefolgt von *M. cynos* (Präputium 30,0 %, Sperma 38,8 %), *M. canis* (Präputium 35,0 %, Sperma 26.5 %), *M. arginini* (Präputium 20,0 %, Sperma 26,5 %) und *M. edwardii* (Präputium 10,0 %, Sperma 16,3 %). Das Vorkommen von *M. felis* in Ejakulatproben und von *M. arginini* im Genitale des Rüden wurde zuvor nicht beschrieben.

Eine vom Reproduktionsstatus (vor oder im Zuchteinsatz) oder Alter der Tiere abhängige spezifische qualitative und semiquantitative Mykoplasmenflora war bei beiden Geschlechtern nicht nachweisbar.

Die bakteriologische Untersuchung bezüglich des aeroben Keimgehaltes der Vaginaltupfer und Samenproben erbrachte ähnliche Ergebnisse wie in der Literatur genannt, wobei in der vorliegenden Studie der Nachweis von *E. coli* signifikant häufiger ($p < 0,05$) bei erkrankten (61,5 %) als bei genitalgesunden Hündinnen (19,3 %) erfolgte.

6 Summary

Eschricht, Franziska Mareike (2008):
Incidence of *mycoplasma* in the genital tract of the female and male dog

The aim of the present study was to investigate the incidence of *mycoplasma* in the genital tract of the male and female dog in context with the aerobic bacterial flora and to characterize *mycoplasma* within the oestrous cycle and evaluate their clinical relevance regarding genital disease and subfertility.
Therefore 46 bitches and 65 male dogs from private owners were examined for genital health status and vaginal and prepucial swabs as well as semen samples were collected for culturing *mycoplasma* and for bacteriological diagnostics. Additionally the incidence of five *mycoplasma* species (*M. arginini, M. canis, M. cynos, M. edwardii, M. felis*) was determined in vaginal swabs of 17 genitally healthy Beagle bitches in defined stages of the oestrous cycle.
60.9 % of the bitches showed *mycoplasma* in the vaginal secretion. Bitches suffering from genital inflammation showed a higher incidence of *mycoplasma* than genitally healthy dogs (71.4 % vs. 56.3 %) ($p > 0.05$).
The main *mycoplasma* species in the female canine genital tract was *M. canis* (50%) followed by *M. felis* (patients 28.6 %, beagles 29.0 %), *M. edwardii* (patients 25.0 %, beagles 17.7 %), *M. cynos* (patients 17.6 %, beagles 9.7 %), *M. arginini* (patients 3.6 %, beagles 19.4 %) and in only one privately owned bitch *A. laidlawii*. This is the first study demonstrating the presence of *M. felis* and *M. arginini* in the genital tract of bitches.
No specific composition of the *mycoplasma* flora in relation to the stage of the oestrous cycle was found in this study. In phases of ovarian activity (follicular and luteal phase) the average number of *mycoplasma* species and their semiquantitative incidence in vaginal secretion was higher than during ovarian rest (endometrial repair and anoestrus).
Mycoplasma were found in semen of 75.4 % and in prepucial swabs of 71.4 % of the male dogs. In contrast to the bitches, *mycoplasma* were isolated to a higher degree

from semen and prepuce of genitally healthy male dogs with normospermia (89.3%) than in genitally diseased dogs with dys- or pathospermia (64.9 %) ($p > 0.05$). Surprisingly, *M. felis* was isolated as the main *mycoplasma* species from male genital secretions (ejaculate 55.1 %, prepuce 45.0 %). Moreover, *M. cynos* (ejaculate 38.8 %, prepuce 30.0 %), *M. canis* (ejaculate 26.5 %, prepuce 35.0 %), *M. arginini* (ejaculate 26.5 %, prepuce 20.0 %) and *M. edwardii* (ejaculate 16.3 %, prepuce 10.0 %) could be consistently detected. The incidence of *M. felis* in canine ejaculates and of *M. arginini* in canine male genital tract has not been described before.

A specific qualitative and semiquantitative *mycoplasma* flora related to the reproductive state (before first breeding or during breeding) or the age of the animals could not be detected in either gender.

The results concerning the aerobic bacteria in vaginal swabs and semen was mostly in accordance with the literature, whereas a cumulation of *E. coli* was found in genitally diseased compared with healthy bitches (61.5 % vs. 19,3 %) ($p < 0.05$).

7 Literaturverzeichnis

ADEGBOYE, D. S., u. P. B. ADDO (1978):
Mycoplasmas from vagina of a bitch with open Zervix pyometra.
Vet. Rec. 102, 62 – 63

AL-AUBAIDI, J. M., u. J. FABRICANT (1971):
Characterization and classification of bovine mycoplasma.
Cornell Vet. 61, Nr. 3, 490 - 518

ALLEN, W. E., u. G. J. R. DAGNALL (1982):
Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch.
J. Small Anim. Pract. 23, 325 - 335

ALLEN, W. E., u. J. P. RENTON (1982):
Infertility in the dog and bitch.
Br. Vet. J. 138, 185 -198

AMTSBERG, G., u. P. KRABISCH (1975):
Ergebnisse der bakteriologischen Zervixtupferuntersuchung von Warmblutstuten in den Jahren 1969 - 1973
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 82, 110 - 113

ARMSTRONG, D., J. G. TULLY, B. YU, V. MORTON, M. H. FRIEDMANN u. L. STEGER (1970 a):
Previously uncharacterized mycoplasma isolates from an investigation of canine pneumonia.
Infect. Immun. 1, 1 – 7

ARMSTRONG, D., u. B. YU (1970 b):
Characterization of canine mycoplasmas by polyacrylamide gel electrophoresis and immunodiffusion.
J. Bacteriol. 104, 295 – 299

ARMSTRONG, D. B. YU, A. YAGODA u. M. F. KAGNOFF (1971):
Colonization of humans by *Mycoplasma canis*.
J. Inf. Dis. 124, 607 - 609

BABA, E., H. HATA, T. FUKATA u. A. ARAKAWA (1983):
Vaginal and uterine microflora of adult dogs.
Am. J. Vet. Res. 44, 606 – 609

BACZYNSKA, A., J. FEDDER, H. SCHOUGAARD u. G. CHRISTIANSEN (2006):
Prevalence of mycoplasmas in the semen and vaginal swabs of Danish stallions and mares.
Vet. Microbiol. 121, 138 – 143

BARILE, M. F., R. A. DEL GIUDICE, T. R. CARSKI, C. J. GIBBS u. J. A. Morris (1968):
Isolation and characterisation of *Mycoplasma arginini* spec. nov.
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 129, 489 - 494

BARILE, M. F., R. A. DEL GIUDICE, T. R. CARSKI, H. M. YAMASHIROYA u. J. A. VERNA (1970):
Isolation and rapid identification of Mycoplasma species from canine tissue by plate immunofluorescence.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 134, 146 - 148

BARSANTI, J. A. (1990):
Male genital infections
in: C. E. GREENE (Hrsg.): Infectious diseases of the dog and the cat.
Verlag Saunders, Philadelphia, London, S. 158 – 169

BARSANTI, J. A., u. D. R. FINCO (1979):
Canine bacterial prostatitis.
Vet. Clin. North Am. 9, 679 – 700

BARSANTI, J. A., u. D. R. FINCO (1986):
Canine prostatic diseases.
in: D. A. MORROW (Hrsg): Current therapy in theriogenology 2
Verlag Saunders, Philadelphia, London, S. 553 – 560

BARSANTI, J. A., E. B. SHOTTS, u. K. PRASSE (1980):
Evaluation of diagnostic techniques for canine prostatic diseases.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 177, 160 - 163

BARTON, C. L. (1977):
Canine vaginitis.
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 7, 711 – 714

BAUMUELLER, A., u. P. O. MADSEN (1977):
Experimental bacterial prostatitis in dogs. Secretion of various antimicrobial substances in dogs with experimental bacterial prostatitis.
Urolog. Res. 5, 211 – 213, 215 - 218

BERCHTHOLD, M. (1993):
Andrologie
in: U. FREUDIGER, E. – G. GRÜNBAUM u. E. SCHIMKE (Hrsg.): Klinik der Hundekrankheiten.
2. Aufl. Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 665 - 677

BERMUDEZ, V., R. MILLER, S. ROSENDAL u. W. JOHNSON (1988):
In vitro cytopathic effect of *M. equigenitalium* on the equine uterine tube.

in: G. STANEK, G. H. CASSELL, J. H. TULLY u. R. F. WHITCOMB (Hrsg.): Recent Advances in Mycoplasmology.
Zentralbl. Bakteriol. 20, 419 – 428

BIDRÈ, J., u. A. DONATIEN (1923):
Le microbe de l`agalaxie contagieuse et sa cukture in vitro.
C. R. Acad. Sci. (Paris) 177, 841 - 843

BINDER, A., O. PLAGEMANN, R. VOGEL u. H. KIRCHHOFF (1986):
Nachweis einer bei Hunden bislang unbekannten Mykoplasmenspezies bei Hündinnen mit Fertilitätsstörungen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 99, 44 - 46

BJORNELIUS, E., P. LIDBRINK u. J. S. JENSEN (2000):
Mycoplasma genitalium in non-gonococcal urethritis - a study in Swedish male STD patients.
Int. J. STD. AIDS 11, 292 - 296.

BJURSTRÖM, L. (1993):
Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders.
Acta vet. scand. 34, 29 - 34

BJURSTRÖM L., u. C. LINDE-FORSBERG (1992 a):
Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in breeding bitches.
Am. J. Vet. Res. 53, 665 - 669

BJURSTRÖM L., u. C. LINDE-FORSBERG (1992 b):
Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in stud dogs.
Am. J. Vet. Res. 53, 670 - 673

BLENDINGER, K., H. BOSTEDT u. B. HOFFMANN (1997):
Hormonal state and effects of the use of an antiprogestin in bitches with pyometra.
J. Reprod. Fertil. 51, 317 - 325

BLUNDEN, A. S. (1983):
Isolation of Clostridium perfingens from the canine genital tract.
Vet. Rec. 113, 133

BOWE, P. S. , H. J. VAN KRUININGEN u. S. ROSENDAL (1982):
Attempts to produce granulomatous colitis in Boxer dogs with a mycoplasma.
Can. J. Comp. Med. 46, 430 – 433

BRUCHIM, A., J. LUTSKY u. S. ROSENDAL (1978):
Isolation of mycoplasmas from the canine genital tract: a survey of 108 healthy dogs.
Res. Vet. Sci. 25, 243 - 245

CHALKER, V. J., u. J. BROWNLIE (2004):
Taxonomy of the canine Mollicutes by 16S rRNA gene and 16S/23S rRNA intergenic spacer region sequence comparison.
Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54, Nr. 2, 537 - 542

CHALKER, V. J. (2005):
Canine mycoplasmas.
Res. Vet. Sci. 79, 1 - 8

CHALKER, V. J. u. J. BROWNLIE (2004):
Taxonomy of the canine *Mollicutes* by 16S rRNA gene and 16S/23S rRNA intergenic spacer region sequence comparison.
Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54, Nr. 2, 537 - 542

CHU, H.P., u. W. I. B. BEVERIDGE (1954):
Chronic balanoposthitis in dogs associated with pleuropneumonia-like organisms.
Symposium sur les uretretes non gonococciques. Monaco, 1954, S. 61 - 62

CLAUSEN, H. F., J. FEDDER, M. DRASBEK, P. K. NIELSEN, B. TOFT, H. J. INGERSLEV, S. BIRKELUND u. G. CHRISTIANSEN (2001):
Serological investigation of *Mycoplasma genitalium* in infertile women.
Hum. Reprod. 16, 1866 - 1874

COHEN, C. R., L. E. MANHART, E. A. BUKUSI, S. ASTETE, R. C. BRUNHAM, K. K. HOLMES, S. K. SINEI, J. J. BWAYO u. P. A. TOTTEN (2002):
Association between *Mycoplasma genitalium* and acute endometritis.
Lancet 359, 765 - 766

COLE, B. C., L. GOLIGHTLY u. J. R. WARD (1967):
Characterisation of mycoplasma strains from cats.
J. Bacteriol. 94, 1451 - 1458

CONCANNON, P. W., W. HANSEL u. W. J. VISEK (1975):
The ovarian cycle of the bitch: plasma oestrogens, LH and progesterone.
Biol. Reprod. 20, 112 - 121

CRUICKSHANK, J., u. R. CRUIKSHANK (1931):
The normal bacterial flora of man. A system of bacteriology.
Med. Res. Council. 8, His Majesty`s Stationery Office, London S. 334 - 377

DAY, F. T. (1957):
The veterinary clinician`s approach to breeding problems in mares.
Vet. Rec. 69, 1258 - 1264

DENZLER, B. (1976):
Untersuchungen über die aerobe Bakterienflora im Genitaltrakt klinisch gesunder Stuten.
München, Univ., Med.-vet. Fak., Diss.

DÍAZ-GARCÍA F. J., A. P. HERRERA-MENDOZA , S. GIONO-CEREZO u. F. M. GUERRA-INFANTE (2006):
Mycoplasma hominis attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa.
Hum. Reprod. 21 Nr. 6, 1591 - 1598

DOEDERLEIN, A. (1892):
Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Puerperalfieber.

Verlag von Eduard Besold (Athur Georgie)

DOIG, P. A., H. L. RUHNKE u. N. C. PALMER (1980a):
Experimental bovine genital ureaplasmosis I. Granular vulvitis following vulvar inoculation.
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 44, 252 - 258

DOIG, P. A., H. L. RUHNKE u. N. C. PALMER (1980b):
Experimental bovine genital ureaplasmosis II. Granular vulvitis, endometritis and salpingitis following uterine inoculation.
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 44, 259 - 266

DOIG, P. A. (1981):
Bovine genital mycoplasmosis.
Can. Vet. J. 22, 339 – 343

DOIG, P. A., H. L. RUHNKE u. W. T. K. BOSU (1981):
The genital mycoplasma and ureaplasma flora of healthy and diseased dogs.
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 45 (3), 233 - 238

DONKER-VOET, J., u. J. DE BOK (1968):
Ene oderzoek narr het voorkomen van mycoplasmas (PPLO) in het sperma van bern en hengsten.
Tijdschr. Diergeneesk 93, 912 – 916

EBERLE G., u. H. KIRCHHOFF (1976):
Untersuchungen über das Vorkommen von Mykoplasmen bei neugeborenen und durch Kaiserschnitt entwickelten Hunden.
Dtsch. tierarztl. Wochenschrift 83, 495 - 497

EBERLE G., u. H. KIRCHHOFF (1978) :
Mykoplasmen bei Hunden. 3. Serologische Untersuchungen.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 25, 363 - 372

EDWARD, D. G., J. L. HANCOCK u. S. L. HIGNETT (1947):
Isolation of pleuropneumonia-like organisms from the bovine genital tract.
Vet. Rec. 59, 329 - 330

EDWARD, D. G., u. W. A. FITZGERALD (1951):
The isolation of organisms of the pleuropneumonia group from dogs.
J. Gen. Microbiol. 5, 566 - 575

EDWARD, D. G., u. E. A. FREUNDT (1956):
The classification and nomenclature of organisms of the pleuropneumonia group.
J. Gen. Microbiol. 14, 197 – 207

ENGLAND, G. C. W., W. E. ALLEN, u. D. J. MIDDLETON (1990):
An investigation into the origin of the first fraction of the canine ejaculate.
Res. Vet. Sci. 49, 66 - 70

FARSTAD, W. (1982):

Bakteriologiske funn i kjonnsveiene hos tisper med reproduksjonsforstyrrelser.
(Bacterial findings in the genital tract of bitches with reproductive disorders).
Nord. Veterianaermed. 34, 451 - 456

FELDMAN, E. C. u. R. W. NELSON (1996):
Canine female reproduction.
in: FELDMAN, E. C. u. R. W. NELSON (Hrsg.): Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.
Philadelphia Saunders, S. 526 - 542

GÖRZ, M. (1996):
Zum Vorkommen und zur Resistenzsituation bakterieller Infektionserreger beim Hund: Auswertung der in den Jahren 1991 bis 1994 im Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen erhobenen bakteriologischen Befunde.
Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

GÜNZEL, A.-R., u. P. KOIVISTO (1984):
Aktuelles zum Sexualzyklus der Hündin – Diagnostische Möglichkeiten durch vaginalzytologische Untersuchungen mittels Testsimplets®.
Prakt. Tierarzt 65, 161 - 172

GÜNZEL-APEL, A.-R. (1994):
Fertilitätskontrolle und Samenübertragung beim Hund.
Gustav Fischer Verlag

GÜNZEL-APEL, A.-R. (1997):
Läufigkeitskontrolle und Bestimmung des Bedeckungszeitpunktes.
in: E. WIESNER (Hrsg.): Handlexikon der Tierärztlichen Praxis.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S. 500 a -h

GÜNZEL-APEL, A.-R., A. LÜBKE u. J. ROHDE (1999):
Vergleichende Untersuchung der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Sexualzyklus und Puerperium von Beaglehündinnen.
Tierärztl. Prax. 27 (K), 112 - 119

GUNNINK, J. W. (1971):
Bacteriologische bevindingen bij sectio ceasarea en hysterectomie bij de hond.
Tijdschr. Diergeneesk. 96, 45 - 49

HALL, C. E. u. K. MCENTEE (1981):
Reduced post-thawing survival of sperm in bulls with mycoplasma vesiculitis.
Cornell Vet. 71, 111 - 112

HANNAN, P. C. T. (2000):
Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentrations (MIC) testing against veterinary mycoplasma species.
Vet. Res. 31, 373 – 395

HARASAWA, R., Y. IMADA, H. KOTANI, K. KOSHIMIZU u. M. F. BARILE (1993):
Ureaplasma canigenitalium spp. nov., isolated from dogs.
Int. J. Syst. Bacteriol. 43, Nr. 4, 640 – 644

HARDY, R., u. C. OSBORNE (1974):
Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions.
J. Am. Anim. Hospp. Assoc. 10, 245 - 268

HARE, T. (1946):
Beta haemolytic streptococcus infections in dog.
Vet. Res. 58, 177 – 182

HARE, T., u. R. M. FRY (1938a):
Preliminary observations of an infection of dogs by beta haemolytic streptococci.
Vet. Res. 50, 213 – 216

HARE, T., u. R. M. FRY (1938b):
Clinical observations of the beta haemolytic streptococcal infection of dogs.
Vet. Res. 50, 1537 - 1549

HARRISON, R. A. P., u. S. E. VICKERS (1990):
Use of fluorescent probes to asses membrane integrity in mammalian spermatozoa.
J. Reprod. Fertil. 88, 343 - 352

HAWK, H. W., G. D : TURNER u. J. F. SYKES (1960):
The effect of ovarian hormones on the uterine defense mechanism during the early stages of induced infection.
Am. J. Vet. Res. 21, 644 – 648

HAYFLICK, L. (1969):
Cell cultures and mycoplasmas.
Texas Reports on Biology and Medicine 23, Nr. 1, 285 - 303

HEITMANN, J., H. KIRCHHOFF, K. PETZOLDT u. B. SONNENSCHEIN (1979):
Isolation of acholeplasmas and mycoplasmas from aborted horse fetuses.
Vet. Rec. 104, 350

HELBIG, A. (1986):
Untersuchungen zur Bestimmung des Konzeptionszeitpunktes bei der Hündin.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

HIRSH, D. C. (2000):
Mycoplasmas.
in: PRESCOTT, J. F., J. D. BAGGOT, u. R. D. WALKER (Hrsg.)
Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine
Iowa State University Press, Ames, S. 466 - 468

HIRSH, D. C., u. N. WIGER (1977):
The bacterial flora of the normal canine vagina compared with that of vaginal exudates.
J. Small Anim. Pract. 18, Nr. 1, 25 - 30

HIRTH, R. S., S. W. NIELSEN u. W. N. PLASTRIDGE (1966):
Bovine salpingo-oophoritis produced with semen containing a mycoplasma.

Pathol. vet. 3, 616 – 632

HOLT, J. G. (1984):
Bergey`s manual of systematic bacteriology.
Bd. 1, Williams & Williiams Co., Baltimore

HOLT, J. G. (1986):
Bergey`s manual of systematic bacteriology.
Bd. 2, Williams & Williiams, Baltimore

HOLZMANN, A. u. G. LABER (1977a):
Experimentally induced mycoplasmal infection in the genital tract of the male dog .II. Andrological and microbiological investigations after exposure to mycoplasms.
Theriogenology 7, 177 - 188

HOLZMANN, A., u. G. LABER (1977b):
Experimentally induced mycoplasmal infection in the genital tract of the male dog. I. Andrological-spermatological investigations before infection.
Theriogenology 7, 167 - 176

HOLZMANN, A., G. LABER u. H. WALZL (1979):
Experimentally induced mycoplasmal infection in the genital tract of the female dog.
Theriogenology 12, 355 - 370

HORNER, P. J., C. B. GILROY, B. J. THOMAS, R. O. NAIDOO u. D. TAYLOR-ROBINSON (1993):
Association of *Mycoplasma genitalium* with acute nongonococcal urethritis.
Lancet 342, 582 – 585

HORVATH, G., L. STIPKOVITZ, Z. VARGA, L. ZÖLDAG u. J. MESZAROS (1983):
Infection of cows by *Mycoplasma bovis*.
Arch. exp. Veterinärmed. 37, 401 - 403

JÄRVINEN, A. K. (1981):
Urogenital tract infection in the bitch.
Vet. Res. Commun. 4, 253 - 269

JANG, S. S., G. V. LING, R. YANAMOTO u. A. M. WOLF (1984):
Mycoplasma as a cause of canine urinary tract infection.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 45 - 47

JANOWSKI, T., S. ZDUNCZYK u. A. JURCZAK (2008):
Isolation von *Mycoplasma canis* aus der Vagina in drei Gruppen von Hündinnen.
Reprod. Dom. Anim. 43 (Suppl 1), 16 (Abstr. 43)

JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY (1981):
Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests.
Chemotherapy 29, 76 - 79

JENSEN, J. S., R. ORSUM, B. DOHN, S. ULDUM, A. M. WORM u. K. LIND (1993):

Mycoplasma genitalium: a cause of male urethritis?
Genitourin. Med. 69, 265 - 269

JONES, D. E., u. J. O. JOSHUA (1982):
Reproductive clinical problems in the dog.
Verla Wright, Bristol, London, S. 152 - 176

JOHANSSON, K. E., u. B. PETTERSSON (2002):
Taxonomy of *Mollicutes*
in: S. RAZIN u. R. HERRMANN (Hrsg.): Molecular Biology and Pathologenicity of Mycoplasmas.
Kluwer, New York, S. 1 - 27

JURMANOVA, K., u. J. STERBOVA (1977):
Correlation between impaired spermatozoan motility and mycoplasma findings in bull sperm.
Vet. Rec. 100, 157 – 158

KANAMOTO Y., H. KOTANI, M. OGATA u. Y. FUKOMOTO (1981):
Isolation of Mycoplasmas from Raccon Dog (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*), fox (*Vulpus vulpus japonica*), and japanese badger (*Meles meles anakuma*).
Jap. J. Vet. Sci. 43, 267 - 271

KANÉ, S. (1983):
Klinische Untersuchungen zur Präputialzytologie des Rüden unter Berücksichtigung von mikrobiologischen Nebenbefunden.
Gießen, Univ., Veterinärmed. Fak., Diss.

KEANE, F. E., B. J. THOMAS, C. B. GILROY, A. RENTON, u. D. TAYLOR-ROBINSON (2000):
The association of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Mycoplasma genitalium* with bacterial vaginosis: observations on heterosexual women and their male partners.
Int. J. STD. AIDS 11, 356 - 360

KIRCHHOFF, H. (1973):
Mykoplasmen bei Hunden.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 20, 466 - 473

KIRCHHOFF, H., W. BISPING u. W. FLOER (1973):
Nachweis von Acholeplasmen und Mykoplasmen in abortierten Pferdefeten.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 86, 401 – 403

KIRCHHOFF, H., J. HEITMANN u. W. BISPING (1980):
Mycoplasmas isolated from the genital tract of mares.
Zentralbl. Bakteriol. A. 246, 228 – 235

KIRCHHOFF, H., u. M. RUNGE (1998):
100 Jahre Mykoplasmen - Pathogenität für Nutz- und Haustiere.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 111, Nr. 10, 387 - 392

KLAUSNER, J. S., u. C. A. OSBORNE (1983):
Management of canine bacterial prostatitis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 182, 292 - 296

KÖHN F. M., I. ERDMANN, T. OEDA, K. F. EL MULLA, H. G. SCHIEFER u. W. B. SCHILL (1998):
Influence of urogenital infections on sperm functions.
Andrologia 30, Nr. 1, 73 - 80

KOTANI, H., u. M. OGATA (1979):
Isolation and serological grouping of ureaplasmas from dogs.
Jap. J. Vet. Sci. 41, 639 - 646

KOTANI, H., u. G. J. McGARRITY (1985a):
Identification of mycoplasma colonies by immunobinding.
J. Clin. Microbiol. 23, 783 – 785

KOTANI, H., u. G. J. McGARRITY (1985b):
Rapid and simple identification of mycoplasmas by immunobinding.
J. Immunol. Methods 85, 257 - 267

KRAUSE, D. (1965):
Zur Fertilitätsuntersuchung beim Hund.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 72, 3 - 10

KUSTRITZ, M. V. R. (2006):
Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract.
Theriogenology 66, 567 - 574

KUSTRITZ, M. V. R., S. D. JOHNSTON u. P. N. OLSON (2005):
Relationship between inflammatory cytology of canine seminal fluid and significant aerobic bacterial, anaerobic bacterial or mycoplasma cultures of canine seminal fluid: 95 cases (1987-2000).
Theriogenology 64, 1333 - 1339

KUTZLER, M. A. (2005):
Semen collection in the dog.
Theriogenology 64, 747 - 754

L`ABEE-LUND, T. M., R. HEIENE, N. F. FRIIS, P. AHRENS u. H. SORUM (2003):
Mycoplasma canis and urogenital disease in dogs in Norway.
Vet. Rec. 153, 231 - 235

LARSEN, B., A. J. MARKOVETZ u. R. P. GALASK (1977):
Quantitative alterations in the genital microflora of female rats in relation to the estrous cycle.
J. Infect. Dis. 134, 486 - 489

LEIBOLD, A. A. (1954):
Bacterial flora of the canine vaginal secretion.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 125, 231 - 233

LEIN, D. H. (1974):
Male bovine urogenital mycoplasmosis.
Conneticut, Universität von Conneticut, Ph.D.

LING, G. V., J. E. BRANAM, A. L. RUBY u. D- L. JOHNSON (1983):
Canine prostatic fluid: techniques of collection, quantitative bacterial culture, and interpretation of results.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 183, Nr. 2, 201 - 206

LING, G. V., u. A. L. RUBY (1978):
Aerobic bacterial flora of the prepuce, urethra and vagina of normal adult dogs.
Am. J. Vet. Res. 39, 695 - 698

MANILOFF, J. (1992):
Phylogeny of mycoplasmas
in: R. N. MCELHANCY, L. R. FINCH u. J. B. BASCMAN (Hrsg.) : Mycoplasmas : molecular biology and pathologenesis.
American Society for Microbiology, Washington, D. C.

MANTOVANI, A., R. RESTANI, D. SCIARRA u. P. SIMONELLA (1961):
Streptococcus L infection in the dog.
J. Small Anim. Pract. 2, 185 -194

MESSICK, J. B., P. G. WALKER, W. RAPHAEL, L. BERENT u. X. SHI (2002):
"*Candidatus mycoplasma haemodidelphidis"* spp. nov., "*Candidatus mycoplasma haemolamae"* spp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotrophic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis viriginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16s rRNA genes to other mycoplasmas.
Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52, 693 - 698

MILLER, R., A. CHELMONSKA-SOYTA, B. SMITS, R. FOSTER, u. S. ROSENDAL (1994):
Ureaplasma diversum as a cause of reproductive disease in cattle.
Vet. Cli. N. Am. Food Anim. Pract. 10, 479 - 490

MOLLER, B. R., D. TAYLOR-ROBINSON u. P. M. FURR (1984):
Serological evidence implicating *Mycoplasma genitalium* in pelvic infammatory disease.
Lancet 1, 1102 – 1103

MOORTHY, A. R. S., P. B. SPRADBROW u. M. E. D. EISLER (1977):
Isolation of mycoplasmas from the genital tract of horses.
Aust. Vet. J. 53, 167 - 169

NOCARD, E., u. E. R. ROUX (1898):
Le microbe de la pèripneumonie.
Ann. Inst. Pasteur (Paris) 12, 240 - 262

OLSON, A. C., R. A. BOWEN u. M. D. BEHRENDT (1982):

Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus.
Biol. Reprod. 27, 1196 – 1206

OLSON, P. N. S., J. D. HILGREN u. R. J. BROOKE (1978):
Beta-hemolytic Streptococcal isolates from the canine vagina.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 173, 200

OLSON, P. N., P. HUSTED, T. A. ALLEN u. T. NETT (1984):
Reproductive endocrinology and physiology of the bitch and queen.
Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. 14, 927 - 946

OLSON, P. N. S., u. E. C. MATHER (1978):
Canine vaginal and uterine bacterial flora.
J. Am. Vet. Assoc. 172, 708 - 711

OLSON, P. N. S., T. N. THOMAS, P. W. HUSTED u. T. M. NETT (1988):
Clinical evaluation of infertility in the bitch
in: R. B. Ford (Hrsg.): Clinical signs and diagnosis in small animal practice.
Verlag Churchill Livingstone, New York, S. 631 - 654

OSBALDISTON, G. W. (1978):
Bacteriological studies of reproductive disorders of bitches.
J. Am. Anim. Hospp. Assoc. 14, 363 - 367

OSBALDISTON, G. W, S. NURU u. J. E. MOSIER (1972):
Vaginal cytology and microflora of infertile bitches.
J. Am. Anim. Hospp. Assoc. 8, 93 - 101

PANANGALA, V. S., N. A. FISH u. D. A. BARNUM (1978):
Microflora of the cervico-vaginal mucus of repeat breeder cows.
Can. Vet. J. 19, 83 - 89

PANANGALA, V. S., A. J. WINTER, M. S. WIJESINKA u. R .H. FOOTE (1981):
Decreased motility of bull spermatozoa caused by *Mycoplasma bovigenitalium*.
Am. J. Vet. Res. 42, 2090 - 2093

PETTERSSON, B., J. G. TULLY, G. BÖLSKE u. K. E. JOHANSSON (2000):
Updated phylogenetic description of the *Mycoplasma hominis* cluster (Weisburg et al. 1989) based on 16S rDNA sequences.
Int. J. Syst. Evolut. Microbiol. 50, 291 - 301

PLATT, A. M., u. R. B. SIMPSON (1974):
Bacterial flora of the canine vagina.
Southw. Vet. 76, 76 - 77

PRÜFER, A. (1990):
Diagnostik und Therapie von Prostataerkrankungen.
Kleintier-Prax. 35, 633 - 643

RALPH, S. G., A. J. RUTHERFORD u. J. D. WILSON (1999):

Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study.
Br. med. J. 319, 220 - 223

RAZIN, S. u. E. A. FREUNDT (1984):
Class I. Mollicutes
in: N. R. KRIEG u. J. G. HOLT (Hrsg.): Berger´s Manual of Systematic Bacteriology.
Williiams und Wilkins, Baltimore-London, Bd. 1, S. 740

RAZIN, S., D.YOGEV u. Y.NAOT (1998):
Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas
Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 1094 - 1156

ROSE, B.I. u. B. Scott (1994):
Sperm motility, morphology, hyperactivation and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasmas.
Fertil. Steril. 61, 341 - 348.

ROSENDAL, S. (1973):
Mycoplasma cynos, a new canine mycoplasma species.
Int. J. Syst. Bacteriol. 23, 49 - 54

ROSENDAL, S. (1974a):
Canine mycoplasmas II: cultivation from conjunctivae respiratory- and genital tracts.
Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 82, 25 - 32

ROSENDAL, S. (1974b):
Mycoplasma molare, a new canine mycoplasma species.
Int. J. Syst. Bacteriol. 24, 125 - 130

ROSENDAL, S. (1975a):
Canine mycoplasmas: Cultural and biochemical studies of type and reference strains.
Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 83, 457 - 462

ROSENDAL, S. (1975b):
Canine mycoplasmas: Serological studies of type and reference strains, with a proposal for the new species, *Mycoplasma opalescens.*
Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 83, 463 - 470

ROSENDAL, S. (1976):
Canine mycoplasmas.
Institute of Medical Microbiology, University of Aarhus, Diss.

ROSENDAL, S. (1979):
Canine and feline mycoplasmas.
The Mycoplasmas.
II. Academic Press, 217 - 234

ROSENDAL, S. u. G. LABER (1973):
Identification of 38 mycoplasma strains isolated from the vagina of dogs.
Zentralbl. Bakteriol., Abt. 1, 225, 346 – 349

ROSENDAL, S., u. O. VINTHER (1977):
Experimantal mycoplasmal pneumonia in dogs: Electron microscopy of infected tissues.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. B. 85, 462 - 465

ROUHOL-AMINE, R., u. M. KAYHANI (1985):
Bacteriological studies of canine vaginitis as compared with normal flora.
Journal of veterinary Faculty, University of Teheran 40, 117 - 126

SABIN, A. B. (1941) :
The filterable microorganisms of the pleuropneumonia group.
Bacteriol. Rev. 5, 1 – 66

SANDHOLM, M., H. VASENIUS u. A.-K. KIVISTÖ (1975):
Pathogenesis of canine pyometra.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 167, 1006 - 1010

SCHAEFER, P. (1917):
Zur Frage der Selbstinfektion.
Arch. Gynäk. 106, 407 – 437

SCHAEFERS-OKKENS, A. C. (1996):
Ovaries
in: RIJNBERK, A. (Hrsg.): Clinical endocrinology of dogs and cats.
Kluwer Academic Publishers Dordrecht, Boston, London, S. 131 - 156

SCHAEFER, B., G. KIRPAL, M. PANTEL u. R. MÜLLER-PEDDINGHAUS (1978):
Die Bedeutung des Katheterisierens für das bakteriologische Ergebnis der Harnuntersuchung.
Kleintierprax. 23, 181 - 188

SCHÄFER-SOMI, S., u. SPERGSER J. (2007):
Vaccination of dogs against *Mycoplasma canis* prevented reinfection for 6 months.
Reprod. Dom. Anim. 42 (Suppl 2), 126 (Abstr. P182)

SCHOON, H.-A., D. SCHOON u. I. NOLTE (1992):
Untersuchungen zur Pathogenese des “Endometritis-Pyometra-Komplexes” der Hündin.
Zentralbl Veterinärmed A. 39, 43 - 56

SHOETENSACK, H. M. (1934):
Pure cultivation of the filterable virus isolated from canine distemper.
The Kitasato Archives of Experimental Medicine 11, 227-290

SIESENOP, U., A.-R. GÜNZEL-APEL, H. HACKBARTH, G. SPITZ u. K. H. BÖHM (1996):
Die mikrobielle Vaginalflora bei Hündinnen einer Beaglegruppe, vor und im Verlauf des ersten Sexualzyklus.
Kleintierprax. 41, Nr. 6, 449 - 455

SPERGSER, J., C. AURICH, J. E. AURICH u. R. ROSENGARTEN (2002):
High prevalence of mycoplasmas in the genital tract of asymptomatic stallions in Austria.
Vet. Microbiol. 87, 119 – 129

SVENSTRUP, H.F., J. FEDDER, J. ABRAHAM-PESKIR, S. BIRKELUND u. G. CHRISTIANSEN (2003):
Mycoplasma genitalium attaches to human spermatozoa.
Hum Reprod. 18, Nr. 10, 2103 - 2109

TAMMER, I., K. BLENDINGER, A. SOBIRAJ u. H. BOSTEDT (1994):
Über den Einsatz der exfoliativen Vaginalzytologie im Rahmen der gynäkologischen Befunderhebung bei der Hündin.
Tierärztl. Prax. 22, 199 - 207

TAYLOR-ROBINSON, D., C. MARTIN-BOURGON, T. WATANABE u. J.P. ADDEY (1971):
Isolation of T-mycoplasmas from dogs and squirrel monkeys; biological and serological comparison with those isolated from man and cattle.
J. Gen. Microbiol. 68, 97 - 107

THIEMANN, G., G. LABER u. D. LORIN (1972):
Zum Vorkommen von Mykoplasmen im Genitale der Hündin.
Zentralbl. Bakteriol. Abt. 1. 230, 380 - 381

THOMAS, S. (1928):
Doederlein´s Bacillus: Lactobacillus acidophilus.
J. Infect. Dis. 43, 218 - 221

TICER, J. W. (1965):
Canine infertility associated with *Pseudomonas aeruginosa* infection.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 146, 720 - 722

TILLMANN, H. (1973):
Klinische Erkenntnisse zu der Paarungsinfektion mit Klebsiellen beim Pferd.
Prakt. Tierarzt 53, 191 - 196

TOTTEN, P. A., M. A. SCHWARTZ, K. E. SJOSTROM, G. E. KENNY, H. H. HANDSFIELD, J. B. WEISS u. W. L. WHITTINGTON (2001):
Association of *Mycoplasma genitalium* with nongonococcal urethritis in heterosexual men.
J. Infect. Dis. 183, 269 - 276

TULLY, J. G., M. F. BARILE, R. A. DEL GIUDICE, T. R. CARSKI, D. ARMSTRONG u. S. RAZIN (1970):
Proposal for classifying strain PG-24 and related canine mycoplasmas as *Mycoplasma edwardii* spp. n.
J. Bacteriol. 101, 346 - 349

TULLY, J. G., J. B. BOVÈ, F. LAIGRET, R. F. WHITCOMB (1993):

Revised taxonomy of the class *Mollicutes*: proposed elevation of a monophyletic cluster of arthropod-associated *Mollicutes* to ordinal rank (*Entomoplasmatales* ord. nov.), with provision for familial rank to separate species with nonhelical morphology (*Entomoplasmataceae* fam. Nov.) from helical species (*Spiroplasmataceae*), and emended descriptions of the order *Mycoplasmatales*, family *Mycoplasmataceae*.
Int. J. Sys. Bacteriol. 43, 378 - 385

TULLY, J. G., D. TAYLOR-ROBINSON, D. ROSE, D.L. COLE u. J.M. BOYE (1983):
Mycoplasma genitalium, a new species from the human urogenitaltract.
Int. J. Syst. Bacteriol., 33, 387-396.

UNO, M., T. DEGUCHI, H. KOMEDA, M. HAYASAKI, M. IIDA, M. NAGATANI u. Y. KAWADA (1997):
Mycoplasma genitalium in the cervices of Japanese women.
Sex. Transm. Dis. 24, 284 – 286

VAN DUIJKEREN, E. (1992):
Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review.
Vet. Rec. 131, 367 - 369

VERSTEGEN, J. P. (1998):
Conditions of the Male
In: SIMPSON, G. M., G. C. W. ENGLAND u. M. HARVEY (1998):
Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, S. 75

WAITES, K. B., B. KATZ u. R. L. SCHELONKA (2005):
Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens.
Clin. Microbiol. Rev. 18, 757 - 789

WEISBURG, W. G., J. G. TULLY, D. L. ROSE, J. P. PETZEL, H. OYAIZU, D. YANG, L. MANDELCO, J. SECHREST, T. G. LAWRENCE, J. VANETTEN, J. MANILOFF u. C. R. WOESE (1989):
A phylogenetic alalysis of the mycoplasmas – basis for their classification.
J. Bacteriol. 171, 6455 - 6467

WEITZE, K.-F. (2001):
Spermatologische Untersuchung.
in: Busch, W. u. A. HOLZMANN (Hrsg.):
Veterinärmedizinische Andrologie.
Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 87 - 118

WERK, R. (1986):
Diagnostische Routinemethoden in der medizinischen Mikrobiologie.
pmi-Verlag, Frankfurt, S. 15 - 49

WILDT, D. E., C. J. LEVINSON u. S. W. J. SEAGER (1977):
Laparoscopic exposure and sequential observation of the ovary of the cyclic bitch.
Anat. Rec. 189, 443 - 449

WOESE, C. R. (1987):

Bacterial evolution.
Microbiol. Rev. 51, 221 - 271

WRIGHT, P. J., u. J. R. WATTS (1998):
The infertile female
In: SIMPSON, G. M., G. C. W. ENGLAND u. M. HARVEY (1998):
Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, S. 30

YOSHIDA, T., T. DEGUCHI, M. ITO, S. MAEDA, M. TAMAKI u. H. ISHIKO (2002):
Quantitative detection of *Mycoplasma genitalium* from first-pass urine of
men with urethritis and asymptomatic men by real-time PCR.
J. Clin. Microbiol. 40, 1451 - 1455

ZÖLDAG, L., L. STIPKOVITS u. J. THUROCZY (1992):
Mycoplasma isolation from genital tract of healthy dogs and of animals with genital disorders.
in: Proceedings of the 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, 1992, Vol. 4, S. 1832 - 1834

8 Anhang

Material für die andrologische Untersuchung

Auffanggläser für Bullensperma, graduiert, tulpenförmig	Fa. Eickemeyer, Tuttlingen
Röhrenspekulum aus Metall, Modell Hannover (Ø 0,8 cm)	Fa. Eickemeyer, Tuttlingen
Wärmeschrank	
Schieblehre	
Wattestieltupfer (Länge 25-30 cm)	Fa. Johnson & Johnson

Material für die spermatologische Untersuchung

Deckgläser (18 x 18 mm)	Interessengemeinschaft der Laborfachhändler GmbH & Co. KG, (IDL), Nidderau
Eppendorf-Reaktionsgefäße	Fa. Greiner, Frickenhausen
Fluoreszensmikroskop mit Phasenkontrast, Axioskop	Fa. Zeiss, Jena
Objektträger (76 x 26 mm)	Interessengemeinschaft der Laborfachhändler GmbH & Co. KG, (IDL), Nidderau
Phasenkontrastmikroskop mit und ohne Heiztisch	Fa. Zeiss, Jena
Pipette, einstellbar (2 – 20 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipette, einstellbar (10- 200 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipette, einstellbar (200 - 1000 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen, gelb und blau	Fa. Eppendorf, Hamburg
Polystyrolröhrchen, steril, 10 ml	Fa. Greiner, Solingen
Zählkammer nach Thoma	Fa. Jürgens, Hannover
Strömberg-Mika Cell Motion Analyser	Fa. Strömberg-Mika, Bad Feilnbach
Phasenkontrastmikroskop Olympus BH2	Fa. Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo, Japan
Heiztisch HT 100	Fa. Minitüb, Tiefenbach
MTM Mika chamber	Fa. Minitüb, Tiefenbach
Kamera	Fa. Strömberg-Mika, Bad Feilnbach
Cell Motion Analyser® 2,0;© 1993	Fa. Medical Technologies, Montreaux, Schweiz

Chemikalien und Reagenzien für die Spermatologie

Citronensäure Monohydrat DAB ($C_6H_8O_7H_2O$)	Fa. Roth (5110.1), Karlsruhe
Formaldehyd ≥ 35 % DAB, f. d. Histologie	Fa. Roth (4980.2), Karlsruhe
D(-)-Fruktose 99 %	Fa. Roth (4981.2), Karlsruhe
Glycerin ≥ 86 %, Ph. Eur., reinst	Fa. Roth (7533.1), Karlsruhe
Propidium Iodide, Minimum 95 % (HPLC)	Fa. Sigma (P-4170), Steinheim
Tris-(hydroxymethyl) aminomethan Pufferan® ≥ 99,7 % p.a.	Fa. Roth (4855.2), Karlsruhe
tri- Natriumcitrat-Dihydrat	Fa. Merck (1.06448.1000), Darmstadt

Rezepturen für die Spermatologie
Formolcitrat

- 2,9 g tri- Natriumcitrat x $2H_2O$
- 100 ml Aqua bidest.

Davon 4 ml verwerfen und durch 4 ml 37 %ige Formalinlösung ersetzen. Diese Lösung eignet sich zur Flüssigfixation von Spermien.

TRIS-Stammlösung

- Tris-(hydroxymethyl) aminomethan	30,28 g
- Citronensäure Monohydrat	17,8 g
- D(-)-Fruktose	12,5 g
- Aqua dest.	Ad 1000 ml

Diese Lösung wurde für die Verdünnung der spermienreichen Phase zur Lebend-Tot-Färbung mittels Propidiumiodid und für die computergestützte Motilitätsanalyse verwendet.

Material für die gynäkologische Untersuchung

Bakteriette® mit modifiziertem Amies-Medium	Fa. EM-TE Vertrieb, Hamburg
Eukitt® Kleber	Fa. Kindler GmbH & Co., Freiburg
Kochsalzlösung, steril, isotonisch	
Lichtquelle	
Merkofix® Spray	Fa. Merck, Darmstadt
Phasenkontrastmikroskop	Fa. Zeiss, Jena
Röhrenspekulum aus Metall, Modell Hannover	Eickemeyer
Testsimplets®	Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
Wattestieltupfer (Länge 25-30 cm)	Fa.Johnston & Johnston

Zellstoff	FA. Lehnecke

Material für die Mykoplasmenuntersuchung

4-Chlor-1-Naphtol	Aldrich GmbH, Steinheim
GAR/IgG (H+L)/PO Immunoconjugate, (Ziege-anti-Kaninchen-Immunglobulin), Peroxidase-konjugiert	Nordic Immunological Laboratories, Tilburg, Niederlande
Methanol, reinst	Fa. Merck, Darmstadt
Wasserstoffperoxid (H_2O_2)	Aldrich GmbH, Steinheim
Kaninchen-Hyperimmunseren	Institut für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Chemikalien ohne besondere Angaben wurden mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“ verwendet

Instrumente und Verbrauchsmaterial für die Mykoplasmen-Untersuchung

Akkuboy	Integra Biosciences Tecnorama, Fernwald
Brutschrank Heraeus CO_2-Auto-Zero	Heraeus-Christ, Osterode
Bunsenbrenner Gasprofi 1	WLD-TEC
Drigalski-Glasspatel	
Etest	Ab Biodisk, Solna, Schweden
Falcon-Röhrchen, 50 ml	Becton Dickinson, Heidelberg
Gefriertruhe, Sanyo	Fa. Ewald GmbH
Kryobox	Omnilab
Kryoröhrchen	Nalgene
Kühlschrank profi line	Liebherr
Makrowellplatte	Fa. Greiner, Solingen
Nährmedien (MS-Medium, ML-Medium)	
Nitrocellulose-Plättchen BA 85 Porengröße 0,45 µm, Ø 1 cm, (mit Stanze und Hammer selbstgestanzt)	Schleicher & Schuell, Dassel
Pipette, einstellbar (2 – 20 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipette, einstellbar (10- 200 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipette, einstellbar (200 - 1000 µl)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Fa. Greiner, Frickenhausen
Polystyrolröhrchen, steril, 10 ml	Fa. Greiner, Solingen
Rüttler	
Stereoleuchte KL 1500 electronic	Fa.Schott, Hofheim
Stereomikroskop	Fa. Wild, Heerbrugg
Sterilwerkbank Biowizard Kojair	KOJAIR TECH, Vilppula

Rezepturen für die Mykoplasmen-Untersuchung

Universelle Pufferlösungen

PBS, modifiziert nach DULBECCO und VOGT (1954)

NaCl	8,0 g
KH_2PO_4	0,2 g
Na_2HPO_4 x 12 H_2O	2,9 g
KCl	0,2 g
Aqua dest. ad	1000,0 ml

Substratlösung

4-Chlor-1-Naphtol	12,0mg
Methanol	4,0ml
PBS	20,0ml
H_2O_2, 30%ig (v/v)	20,0µl

Hormonkonzentrationen im peripheren Blutserum

Tabelle 43: Progesteron- und Östrogenkonzentrationen im peripheren Blutserum zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten im Zyklus

Zyklusphase	Progesteron (ng/ml)				17-beta-Östradiol (pg/ml)			
	x	± SD	min	max	x	± SD	min	max
Proöstrus	0,83	0,56	0,15	2,1	9,03	7,73	2,2	28,1
Östrus	20,56	7,54	8,5	35,1	10,16	5,81	1,7	24,1
Metöstrus 1	17,94	4,81	11,3	24,6	11,18	6,29	5,6	25,8
Metöstrus 2	0,70	0,42	0,19	1,7	7,04	4,31	1,0	17,0
Anöstrus	0,34	0,19	0,14	0,84	8,07	5,00	1,0	19,3

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Literaturangaben über Lokalisationen der bisher aus dem kaninen Genitale isolierten Mykoplasmen 12
Tabelle 2: Literaturangaben zur physiologischen Vaginalflora des Hundes 16
Tabelle 3: Literaturangaben zur bakteriellen Präputialflora beim klinisch gesunden Rüden 23
Tabelle 4: Präputialflora bei Rüden mit Präputialausfluss nach KANÉ (1983) 24
Tabelle 5: Literaturangaben über Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit in Ejakulaten 26
Tabelle 6: Untersuchungszeitpunkte (U) im Zyklusverlauf der Beaglehündinnen 30
Tabelle 7: Beschaffenheit des äußeren Genitale 31
Tabelle 8: Vorkommen kaniner Mykoplasmenspezies in Vaginaltupferproben von 28 Hündinnen 41
Tabelle 9: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur 42
Tabelle 10: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Vaginaltupferprobe 43
Tabelle 11: Vorkommen von Mykoplasmenspezies bei Hündinnen vor des ersten Zuchteinsatzes und nach einem oder mehrerer Zuchteinsätze 44
Tabelle 12: Vorkommen verschiedener Bakterienarten und semiquantitative Nachweishäufigkeit in Vaginaltupferproben (n = 44) 46
Tabelle 13: Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit bei geschlechtsgesunden Hündinnen und bei Hündinnen mit Uteropathie 47
Tabelle 14: Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit bei Hündinnen vor und im Zuchteinsatz 48
Tabelle 15: Durchschnittliche Anzahl der Keimisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen 49
Tabelle 16: Vorkommen von Bakterien und Mykoplasmen bei genitalgesunden Hündinnen und bei Hündinnen mit Uteropathien und Fertilitätsstörungen 50
Tabelle 17: Nachweishäufigkeit von fünf Mykoplasmenspezies aus 62 Vaginaltupferproben von 17 genitalgesunden Beaglehündinnen 51
Tabelle 18: Qualitative Zusammensetzung der Mykoplasmenflora von genitalgesunden Beaglehündinnen in verschiedenen Zyklusphasen 51
Tabelle 19: Anzahl (n) genitalgesunder Beaglehündinnen mit Isolaten einer Mykoplasmenspezies in x Zyklusphasen 52
Tabelle 20: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Mykoplasmenspezies in x aufeinander folgenden Zyklusphasen 52
Tabelle 21: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur 53

Tabelle 22: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen 54
Tabelle 23: Vorkommen verschiedener Bakterienspezies und semiquantitative Nachweishäufigkeit in Vaginaltupferproben (n = 83) von genitalgesunden Hündinnen 55
Tabelle 24: Qualitative Zusammensetzung der Keimflora der Vaginalschleimhaut genitalgesunder Beaglehündinnen (n = 17) in verschiedenen Zyklusphasen 56
Tabelle 25: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Bakterienart in x Zyklusphasen 57
Tabelle 26: Anzahl (n) der genitalgesunden Beaglehündinnen mit Isolaten einer Bakterienart in x aufeinander folgenden Zyklusphasen 57
Tabelle 27: Durchschnittliche Anzahl der Bakterienisolate pro Vaginaltupfer in verschiedenen Zyklusphasen genitalgesunder Beaglehündinnen 58
Tabelle 28: Mykoplasmenspezies in Ejakulatproben von 49 Rüden 61
Tabelle 29: Häufigkeit des Mykoplasmennachweises in Rein- und Mischkultur 61
Tabelle 30: Mykoplasmenspezies bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie (n = 25) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängeln (n = 24) 62
Tabelle 31: Durchschnittliche Anzahl der Mykoplasmenisolate pro Ejakulatprobe 63
Tabelle 32: Mykoplasmenspezies bei prostatagesunden Rüden (n = 41) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 24) 63
Tabelle 33: Mykoplasmenspezies bei Rüden vor (n = 19) und während des Zuchteinsatzes (n = 46) 64
Tabelle 34: Mykoplasmenspezies in Präputialtupferproben von 20 Rüden 66
Tabelle 35: Mykoplasmennachweis in Rein- (n = 14) und Mischkultur (n = 6) 67
Tabelle 36: Mykoplasmenspezies bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie (n = 10) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängeln (n = 10) im Präputialsekret 68
Tabelle 37: Mykoplasmenspezies bei prostatagesunden Rüden (n = 19) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 9) im Präputialsekret 68
Tabelle 38: Mykoplasmenspezies auf der Präputialschleimhaut bei Rüden vor (n = 8) und während des Zuchteinsatzes (n = 20) 69
Tabelle 39: Vorkommen verschiedener Bakterienarten und deren Nachweishäufigkeit in Ejakulatproben (n = 51) 71
Tabelle 40: Nachweishäufigkeit verschiedener Bakterienarten in Ejakulatproben bei gesunden Rüden mit Normospermie (n = 18) und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängel (n = 33) 72
Tabelle 41: Nachweishäufigkeit verschiedener Bakterienarten in Ejakulatproben bei prostatagesunden Rüden (n = 29) und bei Rüden mit Prostataerkrankungen (n = 22) 73
Tabelle 42: Vorkommen von Bakterien und Mykoplasmen bei genitalgesunden Rüden mit Normospermie und bei Rüden mit Genitalerkrankung und Samenmängel 74
Tabelle 43: Progesteron- und Östrogenkonzentrationen im peripheren Blutserum zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten im Zyklus 121

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei gesunden und genitalerkrankten Hündinnen 45
Abbildung 2: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei Hündinnen vor und während des Zuchteinsatzes (ZE) 45
Abbildung 3: Häufigkeitsverteilung der semiquantitativen Befallsstärke in unterschiedlichen Zyklusphasen bei 17 genitalgesunden Beaglehündinnen 54
Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung der semiquantitativen Befallsstärke in unterschiedlichen Zyklusphasen bei 17 genitalgesunden Beaglehündinnen 59
Abbildung 5: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei gesunden und genitalerkrankten Rüden 65
Abbildung 6: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen bei Rüden vor und während des Zuchteinsatzes (ZE) 65
Abbildung 7: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen auf der Präputialschleimhaut gesunder und genitalerkrankter Rüden 69
Abbildung 8: Semiquantitatives Vorkommen von Mykoplasmen auf der Präputialschleimhaut von Rüden vor und während des Zuchteinsatzes (ZE) 70

Danksagung

Meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Anne-Rose Günzel-Apel danke ich für ihr Vertrauen und die Überlassung dieses aufregenden Themas. Besonders bedanke ich mich für die jederzeit gewährte fachliche Betreuung, konstruktive Kritik und Unterstützung, die zum Gelingen dieser Arbeit geführt haben. Ihre Erfahrungen und ihr Wissen auf dem Gebiet der Reproduktionsmedizin wiesen mir immer wieder den Weg.

Rosemarie Schmidt danke ich von Herzen für die Begeisterung für unsere Mykoplasmen, mit der sie mich infiziert hat, und für all ihre fachliche Kompetenz ohne die diese Studie nicht funktioniert hätte. Ich wünsche Dir alles Liebe.

Vielen Dank an all die anderen Mitarbeiter der Diagnostik des Instituts für Mikrobiologie für die freundliche Aufnahme und fachliche Unterstützung sowie die Bereitstellung des Materials und der Geräte.

Ich danke Herrn Prof. H.- O. Hoppen und Frau H. Niederstucke für die endokrinologische Auswertung meiner Serumproben.

Ein großes Dankeschön an alle Mitarbeiter der Reproduktionsmedizinischen Einheit, sowie Marta Strotmann und Anja Seefeldt für ihre fachliche und moralische Unterstützung und den Spaß, den wir in unserer Zeit in der Repro hatten.

Ich bedanke mich für die hoffentlich lebenslangen Freundschaften mit Sandra Nottorf und Carola Ursachen, die während unserer Promotionszeit in der Repro entstanden. Caro, ich danke dir für deine Energie, dich immer für das Gute einzusetzen und deine tatkräftige Unterstützung bei dieser Arbeit.

Peter, vielen Dank für deinen unermüdlichen Einsatz als mein bester Freund und die ständige Motivation, ohne die diese Dissertation oft nicht zustande gekommen wäre.

Besonders bedanken möchte ich mich bei allen meinen Freunden sowie dem gesamten Praxisteam aus der Kleintierpraxis Dr. Renner in Wassenberg. Vielen Dank für Euer Verständnis, die Freundschaft und die Hilfsbereitschaft, ohne die diese Arbeit nicht fertig geworden wäre. Verena, vielen Dank für deine tatkräftige Hilfe.

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. B. Meinecke für erfrischende Gespräche und solide Anregungen aus reproduktionsbiologisch-medizinischer Sicht.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern Gabriele und Niels Eschricht, die mich mein ganzes Leben sowohl seelisch und moralisch als auch finanziell in einzigartiger Weise unterstützt haben. Ich danke euch für alles! Meiner Oma danke ich als

meinem größten Fan für ihr Verständnis und die ständige Aufmunterung. Ohne meine Familie wäre ich nicht dort, wo ich jetzt bin.

Mein besonderer Dank gilt Carlos, der stets an meiner Seite war.