

Aus dem Department für Kleintiere und Pferde der Veterinärmedizinischen
Universität Wien

Station für Besamung und Embryotransfer

(Leiterin: Ao. Univ.-Prof. Dr. med. vet. Christine Aurich Dipl. ECAR)

**Retrospektive Datenauswertung: Einfluss ausgewählter Parameter auf die
Vaginalflora bei Hündinnen im Proöstrus und Östrus**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

Vorgelegt von

Florian Renner

Wien, im Jänner 2020

Begutachter:

Priv.-Doz. Dr. med. vet. Joachim Spergser Dipl. ECVM

Betreuerin:

Ao. Univ.-Prof. Dr. med. vet. Sabine Schäfer-Somi Dipl. ECAR

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Die physiologische Vaginalflora der Hündin.....	3
1.2. Der Einfluss des Sexualzyklus auf die Vaginalflora	4
1.3. Der Einfluss medikamentöser Behandlungen auf die Vaginalflora.....	5
2. Tiere, Material und Methoden.....	6
2.1. Auswertung der Datenblätter	6
2.2. Statistische Auswertung.....	7
3. Ergebnisse	8
3.1. Vergleich Haarlänge – mikrobiologische Untersuchungsergebnisse	8
3.1.1. Nachgewiesene Bakterien	8
3.1.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien	11
3.1.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen	12
3.2. Vergleich Körpergewicht - mikrobiologische Untersuchungsergebnisse.....	13
3.2.1. Nachgewiesene Bakterien	13
3.2.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien	16
3.2.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen	17
3.3. Vergleich Hunderassen - mikrobiologische Untersuchungsergebnisse	18
3.3.1. Nachgewiesene Bakterien	18
3.3.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien	22
3.3.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen	23
4. Diskussion	24
5. Zusammenfassung.....	27
6. Summary.....	28
7. Literaturverzeichnis.....	29
8. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	31

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	=	Abbildung
AS	=	American Staffordshire Terrier
<i>E. coli</i>	=	Escherichia Coli
et al.	=	et altera
GR	=	Golden Retriever
LR	=	Labrador Retriever
n	=	Anzahl
p	=	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	=	Polymerase-Kettenreaktion
sp.	=	species
spp.	=	species pluralis
Tab.	=	Tabelle

1. Einleitung

Die Vaginalflora der Hündin ist physiologischerweise eine Mischflora, die sich aus verschiedenen Bakterien zusammensetzt, deren Menge im Laufe des Sexualzyklus variiert.

Im Rahmen von Deckzeitbestimmungen an der klinischen Abteilung für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien, in deren Zusammenhang auch routinemäßige bakteriologische Untersuchungen der Vaginalschleimhaut durchgeführt werden, fällt immer wieder auf, dass bestimmte Hündinnen vermehrt hochgradig verkeimt sind als andere.

Bis jetzt existiert keine Studie zu diesem Thema, daher wurde von RUMLER (2018) ermittelt, welche Faktoren eine Rolle für die Vaginalflora der Hündin im Proöstrus und Östrus haben können und darauf basierend der Fokus auf die Länge des Haarkleids gelegt.

Ziel dieser Studie ist es, Faktoren, die das Eindringen und die Vermehrung von Bakterien in der Vagina begünstigen können, zu untersuchen. Diese beinhalten vor allem die Länge des Haarkleids, wobei angenommen wurde, dass bei langem Haarkleid durch dessen Kontakt mit der Vulva vermehrt exogene Bakterien in die Vagina eindringen können.

Es existiert keine Studie in der relevanten Literatur, die die Länge der Vagina berücksichtigt, beziehungsweise einen möglichen Einfluss dieser auf die Vaginalflora der Hündin. Daher wurde im Laufe der Datenerhebung entschieden, die Studie durch diesen Parameter zu ergänzen.

Da keine Messungen der Länge der Vagina vorlagen, wurde angenommen, dass sich das Körpergewicht direkt proportional zu dieser verhält und daher das Körpergewicht im Zusammenhang mit der Vaginalflora verglichen.

Eine Besiedelung der Vaginalschleimhaut mit einer bakteriellen Mischflora hat grundsätzlich keine negative Auswirkung auf die Geschlechtsgesundheit. Auch bei der Zusammensetzung der Mischflora konnte kein Unterschied zwischen Hündinnen mit und ohne Vaginitis festgestellt werden (ROOT KUSTRITZ et al. 2006).

Ebenso konnten auch GROPETTI et. al. (2012) keine Beeinträchtigung der Fruchtbarkeit durch eine physiologische Mischflora feststellen.

Was sich hingegen negativ auswirken kann, ist das vermehrte Wachstum eines Bakteriums in Form einer Monokultur, sowie eine allgemeine Erhöhung der Bakterienanzahl (GROPETTI et al. 2012 und ROOT KUSTRITZ et al. 2006).

Monokulturen und daraus entstehende Infektionen des Urogenitaltrakts entstehen meistens durch eine Schwächung der lokalen Immunität und dadurch Überwucherung opportunistischer Erreger, wie vor allem *E. coli*, Beta hämolysierende Streptokokken, Staphylokokken und Mykoplasmen (VAN DUIJKEREN 1992 und GRAHAM und TAYLOR 2012).

Prädisponierende Faktoren können primäre virale Infektionen, Medikamente, angeborene anatomische Anomalien (z.B. Stenosen), systemische Erkrankungen (z.B. Diabetes mellitus), Neoplasien oder auch Traumata sein (GRAHAM und TAYLOR 2012).

Weitere prädisponierende Faktoren könnten die Länge des Haarkleids, sowie das Körpergewicht sein, was mit dieser Studie untersucht werden soll.

1.1. Die physiologische Vaginalflora der Hündin

Die physiologische Vaginalflora der Hündin setzt sich aus mehreren Keimen zusammen, dabei kommen laut Literatur hauptsächlich aerobe, aber auch fakultativ anaerobe und anaerobe Bakterien sowie Mykoplasmen vor. Die in Tab. 1 aufgelisteten Erreger konnten in verschiedenen Studien nachgewiesen werden.

Tab. 1: In der caninen Vaginalflora nachgewiesene Keime (ROOT KUSTRITZ 2006, GROPETTI et al. 2011, GRAHAM und TAYLOR 2012)

<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Moraxella</i> spp.
Alpha-hämolyisierende Streptokokken	<i>Mycoplasma</i> spp.
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Neisseria</i> spp.
<i>Bacteroides</i> spp.	<i>Pasteurella multocida</i>
Beta-hämolyisierende Streptokokken	<i>Peptostreptococcus</i> spp.
<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Prevotella</i> spp.
<i>Clostridium</i> spp.	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> sp.
<i>Fusobacterium</i> spp.	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Haemophilus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> sp.
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Ureaplasma</i> spp.
	<i>Trueperella pyogenes</i>

Die in der Literatur am häufigsten vorkommenden Bakterien sind Pasteurellen, Streptokokken, *Escherichia coli* (*E. coli*), Staphylokokken und Mykoplasmen (OLSON und MATHER 1978, ALLEN und DAGNALL 1982, BJURSTRÖM und LINDE-FORSBERG 1992, MELCHARDT 2010). CHALKER (2005) vermutet, dass Mykoplasmen bei der Diagnostik oft nicht erfasst werden, da sie komplexe und teure Nährmedien zur Anzucht benötigen und der Nachweis aufwendig ist. Daher werden sie von vielen Labors nicht routinemäßig untersucht. Außerdem ist es bei Anzucht auf Nährmedien und Nachweis mit dem Lichtmikroskop normalerweise nicht möglich, verschiedene Mykoplasmenarten zu unterscheiden, dafür benötigt es spezielle PCR – Nachweisverfahren (CHALKER 2005, SPERGSEER und ROSENGARTEN 2007).

Bei Untersuchungen wurden Mykoplasmen bei 23 – 75 % der untersuchten Hündinnen in der Vaginalschleimhaut nachgewiesen, wobei am häufigsten Mischinfektionen verschiedener Mykoplasmenarten vorkommen (CHALKER, 2005; BINDER et al., 1986).

Vor allem mit *Mycoplasma canis* werden bei der Hündin Entzündungen des Urogenitaltraktes und Infertilität assoziiert (DOIG et al. 1981, L'ABEE-LUND et al. 2003). Obwohl im Rahmen hochgradiger Entzündungen Mykoplasmen isoliert wurden, fehlt bisher der Beweis des kausalen Zusammenhangs. Interessant sind die Ergebnisse von MELCHARDT (2010), der nur bei 53 % der untersuchten Hündinnen mit Trächtigkeitsverlust und Infertilität Mykoplasmen nachweisen konnte.

Der kaudale Anteil der Vagina weist aufgrund eindringender Haut- und Darmbakterien einen höheren Keimgehalt als ihr kranialer Anteil auf. (OLSON et al. 1978, JÄRVINEN 1981, ALLEN und DAGNALL 1982).

Es kann außerdem davon ausgegangen werden, dass die Vaginalflora im Bereich der kranialen Vagina ident mit der Flora des Uterus ist (WATTS et al. 1996).

Dies sollte vor allem bei der Probenentnahme berücksichtigt werden und es sollten Tupferproben der Vaginalflora aus dem Bereich unterhalb der Dorsalfalte der kranialen Vagina entnommen werden.

1.2. Der Einfluss des Sexualzyklus auf die Vaginalflora

Normalerweise ist der Keimgehalt der Vagina im Anöstrus am niedrigsten und steigt während der Läufigkeit an. Am höchsten ist er im Östrus, was auf pH-Wert Änderungen durch erhöhte Muzin-Sekretion des Uterus aufgrund des steigenden Östrogen und Progesteron-Einflusses zurückgeführt wird. (NOGUCHI et al. 2003)

Das im Proöstrus durch Diapedese in die Vagina gelangende blutige Sekret kann als Nährboden fungieren und dadurch das Bakterienwachstum fördern. (WATTS et al. 1996)

Zusätzlich kommen auch bestimmte Bakterien unterschiedlich vor. Zum Beispiel wird *Pasteurella multocida* öfter im Proöstrus, Östrus, Metöstrus und in der Trächtigkeit, als im

Anöstrus und postpartum diagnostiziert, während beta-hämolisierende Streptokokken häufiger im Proöstrus als im Östrus vorkommen. Bei *E. coli* hingegen konnten keine zyklusabhängigen Schwankungen festgestellt werden. (BJURSTRÖM und LINDEFORSBERG 1992)

Ebenfalls kein Zusammenhang konnte zwischen vaginaler Verkeimung und der Anzahl der vorangegangenen Trächtigkeiten, Fehlgeburten oder Resorptionen festgestellt werden (GROPETTI et al. 2012)

1.3. Der Einfluss medikamentöser Behandlungen auf die Vaginalflora

Behandlungen mit Antibiotika können, vor allem wenn ohne direkte Indikation angewendet, negative Auswirkungen auf die Vaginalflora haben, da sie zu einem Ungleichgewicht und damit zu einer Vermehrung von pathogenen Keimen führen können. (ROTA et al. 2011 und GROPETTI et al. 2012)

Außerdem fördert ein unsachgemäßer Einsatz von Antibiotika die Resistenzentwicklung. So fanden ROTA et al. (2011) signifikant häufiger multi-resistente *Staphylococcus pseudintermedius* in Vaginaltupfern, die von Hündinnen aus Kennels entnommen wurden, in denen häufig mehrere Breitspektrumantibiotika ohne Antibiogramm appliziert wurden. Antibiotikaresistenzen sind bei Bakterien der Vaginalflora nicht selten und stellen immer mehr ein Problem dar. Dabei ist vor allem wichtig zu erwähnen, dass multiresistente Bakterien auch unabhängig von Antibiotikagaben auf andere Hunde, aber auch auf Menschen übertragen werden können (KÖCK und CUNY 2018).

Ein positiver bakterieller Befund ohne klinische Symptome rechtfertigt daher keinen Einsatz von Antibiotika (MELCHARDT 2010). Eine Antibiotikagabe nach Antibiogramm ist nur dann gerechtfertigt, wenn hochgradige Monokulturen vorliegen und/oder klinische Symptome einer Infektion bestehen.

2. Tiere, Material und Methoden

2.1. Auswertung der Datenblätter

Untersucht wurden Datenblätter von 349 Zucht-Hündinnen, die zwischen 2001 und 2017 an der klinischen Abteilung für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien zur Deckzeitbestimmung vorstellig waren und bei denen mittels Scheidentupfers eine bakteriologische Untersuchung der Vaginalflora durchgeführt wurde. Die Hündinnen waren zwischen 2 und 7 Jahre alt, vorberichtlich gesund und hatten bisher regelmäßige Zyklen; der Patientenpool enthielt sowohl nulli- als auch primi- und multipare Tiere.

Die Untersuchungen wurden nicht selbst durchgeführt, sondern im angegebenen Zeitraum an der klinischen Abteilung für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

Alle Hündinnen waren klinisch und speziell gynäkologisch untersucht worden und hatten keine klinischen Symptome, von denen auf eine Vaginitis geschlossen werden konnte, gezeigt. Die Probenentnahme zur bakteriologischen Untersuchung der Scheide war mittels eines sterilen Tupfers (Transwab®; Medical Wire, Corsham, UK) durchgeführt worden, der durch ein steriles Röhrenspekulum geführt wurde. Die Beprobung war stets aus dem Bereich unterhalb der Dorsalfalte der kranialen Vagina entnommen worden.

Alle Proben waren am Institut für Mikrobiologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien qualitativ und quantitativ mittels Routineverfahren untersucht worden.

Die für diese Studie untersuchten Bakterien waren *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus*, *E.coli* und Anaerobier.

Der jeweilige Grad der Verkeimung wurde in nicht nachweisbar (=0), gering- (=1), mittel- (=2), bzw. hochgradig nachgewiesen (=3) angegeben.

Die Hündinnen gehörten 93 verschiedenen Rassen an.

Die am häufigsten vertretenen Rassen waren: Golden Retriever (n = 45), Labrador Retriever (n = 42) und American Staffordshire Terrier (n = 23).

Bei den Hündinnen wurde zwischen kurzem Haarkleid ($n = 154$) und langem Haarkleid ($n = 195$) unterschieden.

Zusätzlich wurden sie in 3 Körpergewichtsklassen eingeteilt, und zwar: < 10 kg ($n = 58$), $10-30$ kg ($n = 232$) und > 30 kg ($n = 74$). Für die Zuordnung wurden die Normgewichte für weibliche Tiere gemäß Federation Cynologique International (FCI) herangezogen. Diese Unterteilung soll die unterschiedliche Scheidenlänge dieser Gruppen berücksichtigen.

2.2. Statistische Auswertung

Mithilfe der Software IBM SPSS Statistics wurden die Daten ausgewertet.

Dabei wurden Kreuztabellen erstellt und jeweils Chi-Quadrat und der p – Wert zur Ermittlung der statistischen Signifikanz berechnet. Hierbei wurde ein p – Wert von $< 0,05$ als signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Vergleich Haarlänge – mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

3.1.1. Nachgewiesene Bakterien

In nachfolgender Tabelle sind die Ergebnisse des Vergleichs der Bakterien zwischen der Gruppe mit kurzem und der Gruppe mit langem Haarkleid dargestellt. Es sind sowohl die jeweilige Anzahl an Hündinnen und der jeweilige Prozentsatz innerhalb der Gruppe aufgeführt. Bei diesem Vergleich konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Tab. 2: Nachgewiesene Bakterien – Vergleich zwischen den Gruppen verschiedener Haarlänge

	kurzes Haarkleid	langes Haarkleid
<i>Pasteurella spp.</i>		
nicht nachweisbar	53 (34,4 %)	68 (34,9 %)
geringgradig	16 (10,4 %)	20 (10,3 %)
mittelgradig	20 (13,0%)	42 (21,5 %)
hochgradig	65 (42,2 %)	65 (33,3 %)
p - Wert	0,147	
<i>Streptococcus spp.</i>		
nicht nachweisbar	108 (70,1%)	140 (71,8 %)
geringgradig	13 (8,4 %)	14 (7,2%)
mittelgradig	6 (3,9 %)	12 (6,1%)
hochgradig	27 (17,5 %)	29 (14,9 %)
p – Wert	0,696	

<i>Mycoplasma spp.</i>		
nicht nachweisbar	36 (23,4 %)	64 (32,8 %)
geringgradig	29 (18,8 %)	40 (20,5 %)
mittelgradig	49 (31,8 %)	47 (24,1 %)
hochgradig	40 (26 %)	44 (22,6 %)
p – Wert	0,166	
<i>Staphylococcus spp.</i>		
nicht nachweisbar	140 (90,9 %)	176 (90,3 %)
geringgradig	11 (7,1 %)	10 (5,1 %)
mittelgradig	1 (0,6 %)	5 (2,6 %)
hochgradig	2 (1,3 %)	4 (2,1 %)
p – Wert	0,44	
<i>Enterococcus spp.</i>		
nicht nachweisbar	153 (99,4 %)	191 (97,9 %)
geringgradig	0	4 (2,1 %)
mittelgradig	1 (0,6 %)	0
hochgradig	0	0
p – Wert	0,108	

<i>E. coli</i>		
nicht nachweisbar	120 (77,9 %)	158 (81 %)
geringgradig	10 (6,5 %)	17 (8,7 %)
mittelgradig	6 (3,9 %)	5 (2,6 %)
hochgradig	18 (11,7 %)	15 (7,7 %)
p – Wert	0,459	
<i>Anaerobier</i>		
nicht nachweisbar	145 (94,2 %)	198 (96,9 %)
geringgradig	0	0
mittelgradig	3 (1,9 %)	1 (0,5 %)
hochgradig	6 (3,9 %)	5 (2,6 %)
p – Wert	0,35	

3.1.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien

Aus den erhobenen Daten wurde ermittelt, bei wie vielen Hündinnen ein oder mehrere Keime hochgradig waren und dabei wieder kurzhaarige mit langhaarigen verglichen (Abb. 1).

Bei den kurzhaarigen Hündinnen war bei 45 (29,2 %) kein Keim hochgradig, bei 70 (45,5 %) einer, bei 29 (18,8 %) zwei und bei 10 (6,5 %) drei.

Bei den langhaarigen Hündinnen war bei 81 (41,5 %) keiner, bei 71 (36,4 %) einer, bei 39 (20 %) zwei, bei 3 Hündinnen (1,5 %) drei und bei einer (0,5%) vier Keime hochgradig. In Abb 1 ist die Verteilung innerhalb der Gruppen grafisch dargestellt.

Der hier beim Kreuztest statistisch errechnete p-wert betrug 0,018, somit bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

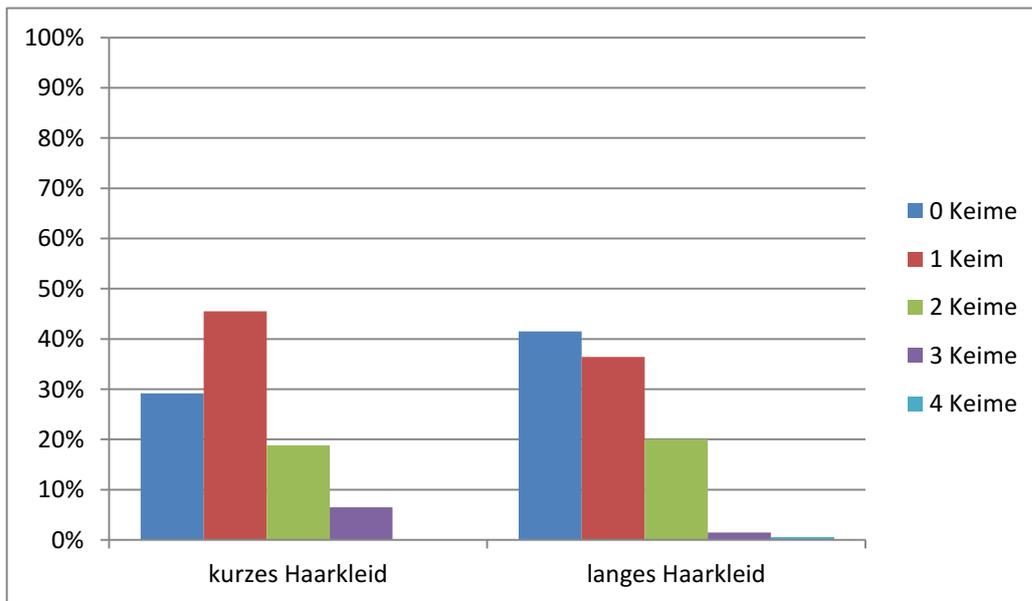


Abb. 1: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen verschiedener Haarlänge

3.1.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen

Hierbei wurden Tiere gezählt, bei denen nur ein Keim isoliert werden konnte, dieser also in Monokultur vorkam, und hochgradig eingestuft wurde.

Bei den Hündinnen mit kurzem Haarkleid wiesen ähnlich viele wie bei den Hündinnen mit langem Haarkleid eine hochgradige Monokultur auf (Abb. 2).

Der statistisch errechnete p-wert betrug 0,531 und war somit nicht signifikant.

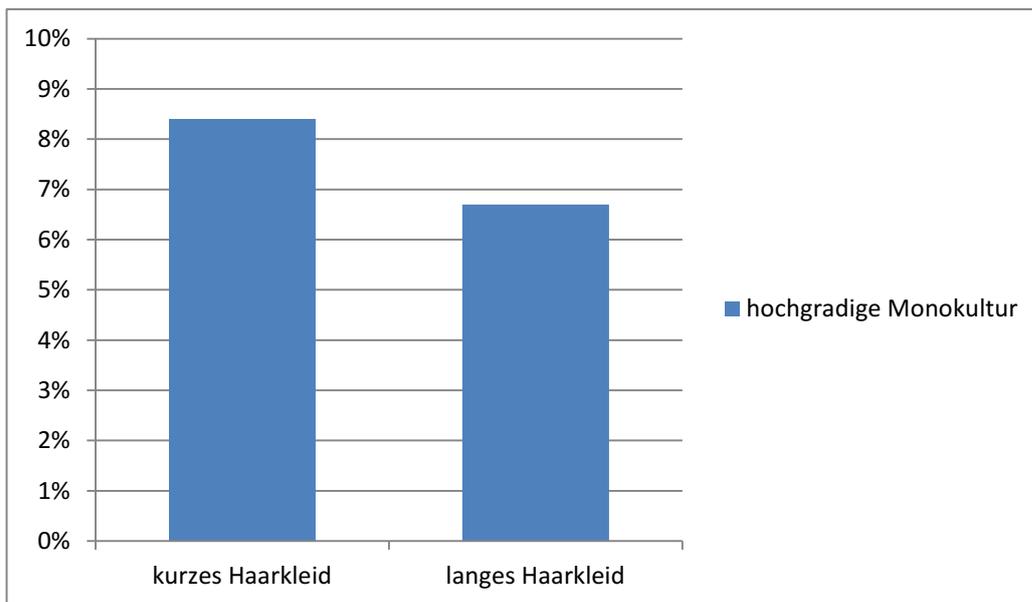


Abb. 2: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Gruppen verschiedener Haarlänge

3.2. Vergleich Körpergewicht - mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

3.2.1. Nachgewiesene Bakterien

In nachfolgender Tabelle 3 sind die Ergebnisse des Vergleichs der Bakterien zwischen den drei Körpergewichtsgruppen < 10 kg, 10 – 30 kg und > 30 kg dargestellt. Es sind sowohl die jeweilige Anzahl an Hündinnen und der jeweilige Prozentsatz innerhalb der Gruppe aufgeführt.

Bei diesem Vergleich konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Tab. 3: Nachgewiesene Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts

	< 10 kg	10 – 30 kg	> 30 kg
<i>Pasteurella spp.</i>			
nicht nachweisbar	20 (35,7 %)	74 (33,9 %)	27 (36 %)
geringgradig	6 (10,7 %)	24 (11 %)	6 (8 %)
mittelgradig	11 (19,6 %)	38 (17,4 %)	13 (17,3 %)
hochgradig	19 (33,9 %)	82 (37,6 %)	29 (38,7 %)
p - Wert	0,988		
<i>Streptococcus spp.</i>			
nicht nachweisbar	44 (78,6 %)	161 (73,9 %)	43 (57,3 %)
geringgradig	2 (3,6 %)	15 (6,9 %)	10 (13,3 %)
mittelgradig	1 (1,8 %)	11 (5 %)	6 (8 %)
hochgradig	9 (16,1 %)	31 (14,2 %)	16 (21,3 %)
p – Wert	0,078		

<i>Mycoplasma spp.</i>			
nicht nachweisbar	19 (33,9 %)	65 (29,8 %)	16 (21,3 %)
geringgradig	10 (17,9 %)	44 (20,2 %)	15 (20 %)
mittelgradig	16 (28,6 %)	62 (28,4 %)	18 (24 %)
hochgradig	11 (19,6 %)	47 (21,6 %)	26 (34,7 %)
p – Wert	0,309		
<i>Staphylococcus spp.</i>			
nicht nachweisbar	50 (89,3 %)	196 (89,9 %)	70 (93,3 %)
geringgradig	4 (7,1 %)	15 (6,9 %)	2 (2,7 %)
mittelgradig	1 (1,8 %)	4 (1,8 %)	1 (1,3 %)
hochgradig	1 (1,8 %)	3 (1,4 %)	2 (2,7 %)
p – Wert	0,387		
<i>Enterococcus spp.</i>			
nicht nachweisbar	58 (100 %)	213 (97,7 %)	74 (100 %)
geringgradig	0	4 (1,8 %)	0
mittelgradig	0	1 (0,5 %)	0
hochgradig	0	0	0
p – Wert	0,55		

<i>E. coli</i>			
nicht nachweisbar	53 (94,6 %)	170 (78 %)	55 (73,3 %)
geringgradig	1 (1,8 %)	20 (9,2 %)	6 (8 %)
mittelgradig	1 (1,8 %)	6 (2,8 %)	4 (5,3 %)
hochgradig	1 (1,8 %)	22 (10,1 %)	10 (13,3 %)
p – Wert	0,073		
Anaerobier			
nicht nachweisbar	52 (92,9 %)	211 (96,8 %)	71 (94,7 %)
geringgradig	0	0	0
mittelgradig	1 (1,8 %)	3 (1,4 %)	0
hochgradig	3 (5,4 %)	4 (1,8 %)	4 (5,3 %)
p – Wert	0,126		

3.2.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien

Aus den erhobenen Daten wurde ermittelt, bei wie vielen Hündinnen ein oder mehrere Keime hochgradig waren und dabei die drei Gewichtsklassen verglichen (Abb. 3).

Bei den Hündinnen < 10 kg war bei 22 (39,3 %) kein Keim hochgradig, bei 26 (46,4 %) einer, bei 6 (10,7 %) zwei und bei 2 (3,6 %) drei.

Bei den Hündinnen von 10 – 30 kg war bei 83 (38,1 %) keiner, bei 87 (39,9 %) einer, bei 42 (19,3 %) zwei, bei 6 Hündinnen (2,8 %) drei Keime hochgradig.

Bei den Hündinnen > 30 kg war bei 21 (28 %) keiner, bei 28 (37,3 %) einer, bei 20 (26,7 %) zwei, bei 5 Hündinnen (6,7 %) drei und bei einer (1,3 %) vier Keime hochgradig.

Der statistisch errechnete p-wert betrug 0,126 und war somit nicht signifikant.

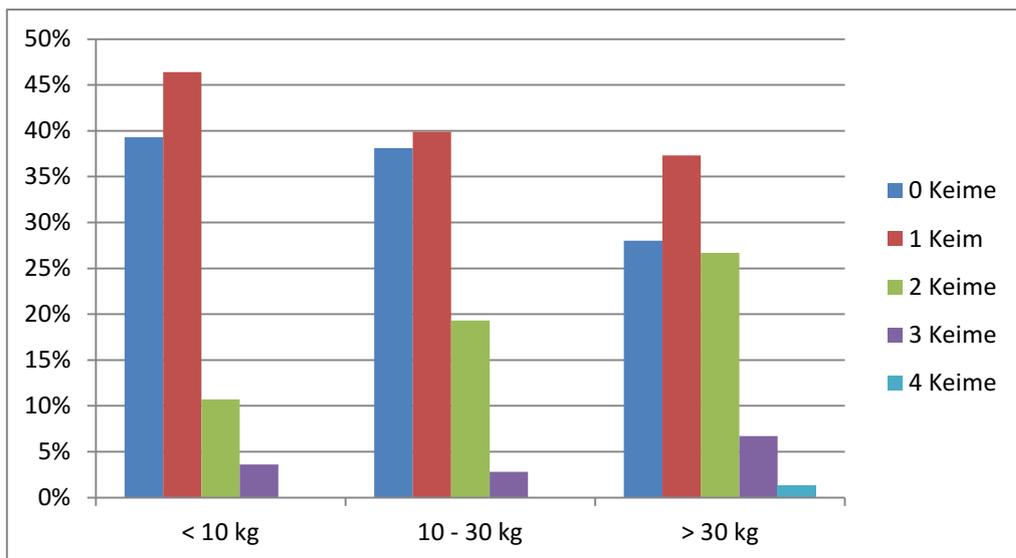


Abb. 3: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts

3.2.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen

Wieder wurden die Tiere gezählt, bei denen nur ein Keim isoliert werden konnte, dieser also in Monokultur vorkam und hochgradig eingestuft wurde, wobei hier die drei Gewichtsklassen verglichen wurden (Abb. 4).

Der statistisch errechnete p-wert betrug 0,264 und war somit nicht signifikant.

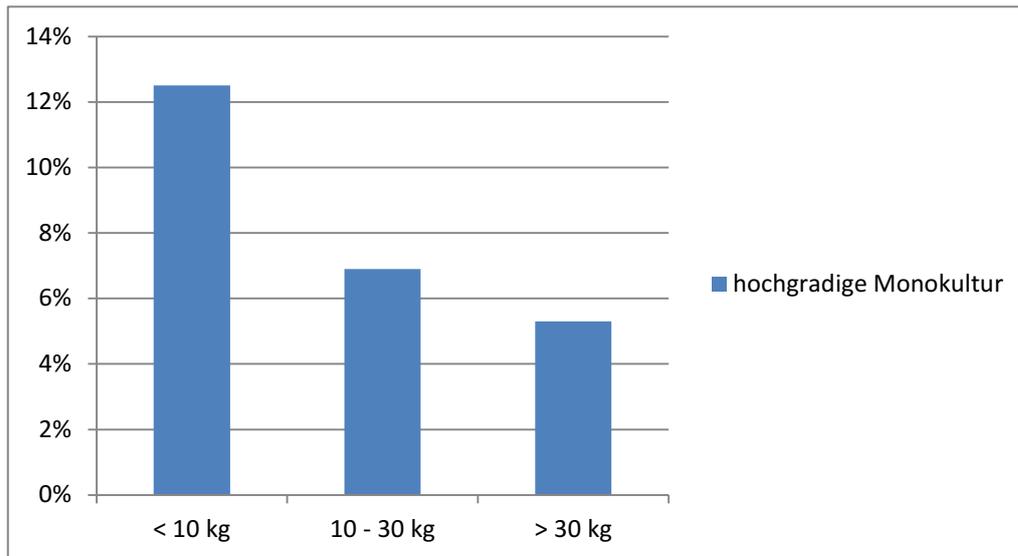


Abb. 4: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts

3.3. Vergleich Hunderassen - mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

Hier wurden die am häufigsten in der untersuchten Population vorkommenden Hunderassen miteinander verglichen: Golden Retriever (n = 45), Labrador Retriever (n = 42) und American Staffordshire Terrier (n = 23).

Dabei untersuchte man mögliche Unterschiede in der vaginalen Verkeimung zwischen einer Lang – und einer Kurzhaarrasse (Golden Retriever und Labrador Retriever), sowie zwischen zwei Kurzhaarrassen (Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier)

3.3.1. Nachgewiesene Bakterien

In nachfolgender Tabelle 4 sind die Ergebnisse des Vergleichs der Bakterien zwischen den drei oben genannten Rassen dargestellt. Es sind sowohl die jeweilige Anzahl an Hündinnen und der jeweilige Prozentsatz innerhalb der Gruppe aufgeführt.

Die p – Werte wurden jeweils für den Vergleich von Golden Retriever (GR) und Labrador Retriever (LR) und Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier (AS) berechnet.

Bei *Streptococcus* spp. wurde aufgrund wahrscheinlicher Signifikanz noch zusätzlich der p – Wert für den Vergleich zwischen Golden Retriever und American Staffordshire Terrier berechnet.

Eine signifikante Differenz konnte ausschließlich bez. *Streptococcus* spp. zwischen den Rassen LR und AS (p=0,017) sowie zwischen GR und AS (p=0,009) nachgewiesen werden. Diese bezog sich auf die Parameter nicht nachweisbar (bei AS jeweils sign. weniger) und hochgradig nachweisbar (bei AS jeweils sign. mehr).

Tab. 4: Nachgewiesene Bakterien – Vergleich zwischen den Hunderassen

	Golden Retriever	Labrador Retriever	American Staffordshire Terrier
<i>Pasteurella</i> spp.			
nicht nachweisbar	12 (26,7 %)	10 (23,8 %)	16 (24,6 %)
geringgradig	8 (17,8 %)	6 (14,3 %)	10 (15,4 %)
mittelgradig	14 (31,1 %)	6 (14,3 %)	10 (15,4 %)
hochgradig	11 (24,4 %)	20 (47,6 %)	29 (44,6 %)
p - Werte	GR – LR: 0,103 LR – AS: 0,928		
<i>Streptococcus</i> spp.			
nicht nachweisbar	35 (77,8 %)	34 (81 %)	10 (43,5 %)
geringgradig	2 (4,4 %)	3 (7,1 %)	4 (17,4 %)
mittelgradig	5 (11,1 %)	2 (4,8 %)	2 (8,7 %)
hochgradig	3 (6,7 %)	3 (7,1 %)	7 (30,4 %)
p – Wert	GR – LR: 0,706	LR – AS: 0,017	GR – AS: 0,009
<i>Mycoplasma</i> spp.			
nicht nachweisbar	11 (24,4 %)	7 (16,7 %)	1 (4,3 %)
geringgradig	10 (22,2 %)	7 (16,7 %)	7 (30,4 %)
mittelgradig	15 (33,3 %)	17 (40,5 %)	4 (17,4 %)
hochgradig	9 (20 %)	11 (26,2 %)	11 (47,8 %)
p – Wert	GR – LR: 0,65 LR – AS: 0,054		

<i>Staphylococcus spp.</i>			
nicht nachweisbar	41 (91,1 %)	36 (85,7 %)	23 (100 %)
geringgradig	3 (6,7 %)	5 (11,9 %)	0
mittelgradig	0	1 (2,4 %)	0
hochgradig	1 (2,2 %)	0	0
p – Wert	GR – LR: 0,436 LR – AS: 0,164		
<i>Enterococcus spp.</i>			
nicht nachweisbar	44 (97,8 %)	42 (100 %)	23 (100 %)
geringgradig	1 (2,2,%)	0	0
mittelgradig	0	0	0
hochgradig	0	0	0
p – Wert	GR – LR: 0,331		
<i>E. coli</i>			
nicht nachweisbar	34 (75,6 %)	32 (76,2 %)	14 (60,9 %)
geringgradig	8 (17,8 %)	2 (4,8 %)	4 (17,4 %)
mittelgradig	1 (2,2 %)	2 (4,8 %)	2 (8,7 %)
hochgradig	2 (4,4 %)	6 (14,3 %)	3 (13 %)
p – Wert	GR – LR: 0,117 LR – AS: 0,327		

Anaerobier			
nicht nachweisbar	43 (95,6 %)	39 (92,9 %)	23 (100 %)
geringgradig	0	0	0
mittelgradig	1 (2,2 %)	1 (2,4 %)	0
hochgradig	1 (2,2 %)	2 (4,8 %)	0
p – Wert	GR – LR: 0,808 LR – AS: 0,423		

3.3.2. Hochgradiger Nachweis von Bakterien

Aus den erhobenen Daten wurde ermittelt, bei wie vielen Hündinnen ein oder mehrere Keime hochgradig waren und hier drei Rassen verglichen.

Bei den Golden Retriever Hündinnen war bei 25 (55,6 %) kein Keim hochgradig, bei 13 (28,9 %) einer, bei 7 (15,6 %) zwei und bei keiner drei Keime hochgradig.

Bei den Hündinnen der Rasse Labrador Retriever war bei 12 (28,6 %) keiner, bei 20 (47,6 %) einer, bei 8 (19 %) zwei und bei 2 Hündinnen (4,8 %) drei Keime hochgradig.

Bei den American Staffordshire Terrier Hündinnen war bei 7 (30,4 %) keiner, bei 7 (30,4 %) einer, bei 4 (17,4 %) zwei und bei 5 Hündinnen (21,7 %) drei Keime hochgradig.

Beim Vergleich zwischen Golden Retriever und Labrador Retriever betrug der p – Wert beim Kreuztest 0,045, somit besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Rassen.

Beim Vergleich zwischen Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier war der Kreuztest mit einem p – Wert von 0,166 nicht signifikant.

Beim Vergleich zwischen Golden Retriever und American Staffordshire Terrier war der Kreuztest mit einem p – Wert von 0,008 signifikant.

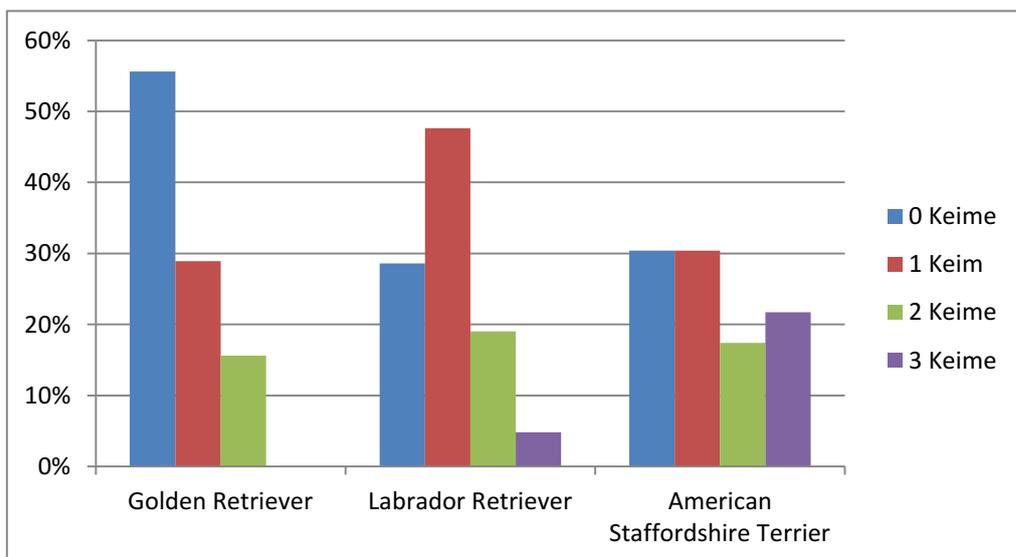


Abb. 5: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Hunderassen

3.3.3. Hochgradiger Nachweis von Monokulturen

Bei den Hündinnen der Rasse Golden Retriever wiesen 1 (2,2 %), bei den Hündinnen der Rasse Labrador Retriever 4 (8,9 %) und bei den Hündinnen der Rasse American Staffordshire Terrier keine eine hochgradige Monokultur auf.

Beim Vergleich zwischen Golden Retriever und Labrador Retriever war der Kreuztest mit einem p – Wert von 0,16 nicht signifikant.

Beim Vergleich zwischen Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier war der Kreuztest mit einem p – Wert von 0,141 ebenfalls nicht signifikant.

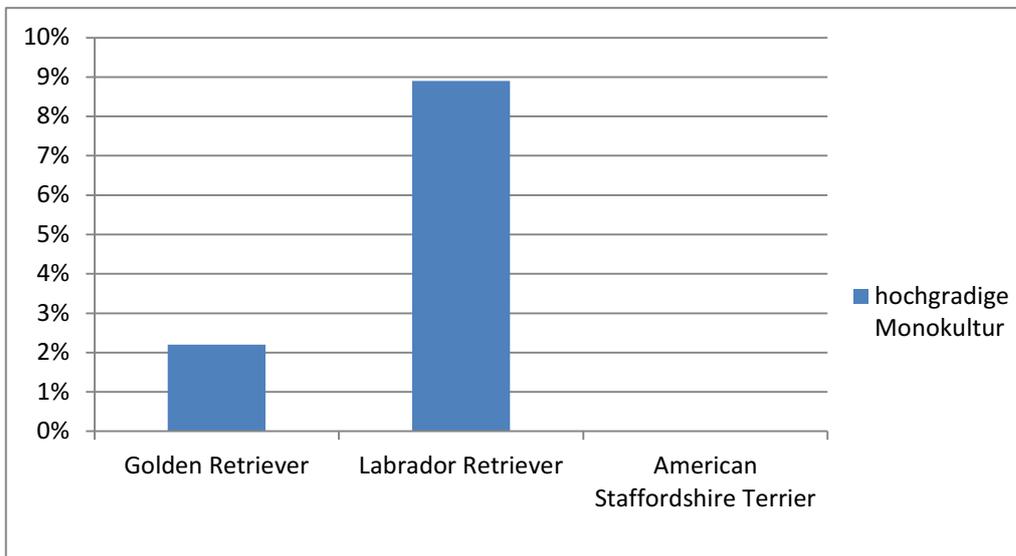


Abb. 6: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Hunderassen

4. Diskussion

In der vorgelegten retrospektiven Studie wurde die Vaginalflora zum Zeitpunkt des Proöstrus und Östrus von 154 Hündinnen mit kurzem Haarkleid und 195 Hündinnen mit langem Haarkleid miteinander verglichen. Dabei wies keine einzige Hündin klinische Anzeichen einer Infektion auf.

Außerdem wurden die Hündinnen in drei unterschiedliche Körpergewichtsklassen eingeteilt. Das Körpergewicht sollte hierbei die Länge der Vagina repräsentieren, da keine tatsächlichen Messungen der Vaginallänge vorlagen.

Zusätzlich wurde noch die Vaginalflora der drei am häufigsten im Datenpool vorkommenden Hunderassen Golden Retriever (n = 45), Labrador Retriever (n = 42) und American Staffordshire Terrier (n = 23) miteinander verglichen.

Eine vaginale Mischflora hat grundsätzlich keinen negativen Einfluss auf die Geschlechtsgesundheit oder Fruchtbarkeit von Hündinnen. (ROOT KUSTRITZ et al. 2006 und GROPETTI et. al. 2012) Zu einer Beeinträchtigung der Geschlechtsgesundheit bis hin zu einer Infektion kann es jedoch dann kommen, wenn mehrere Keime hochgradig vorkommen, oder vor allem dann, wenn nur ein Keim, dieser also in Monokultur vorliegt. (ROOT KUSTRITZ et al. 2006 und GROPETTI et. al. 2012)

Damit das physiologische Gleichgewicht der Vaginalflora so weit gestört wird, dass sich opportunistische Keime vermehren und die anderen Keime verdrängen können, benötigt es oft äußerer Einflüsse.

Die grundsätzliche Idee dieser Studie war, dass es bei Hündinnen mit langem Haarkleid öfter zu Verschmutzungen der Vulva kommt und so vermehrt Bakterien in die Vagina eindringen können. Dies konnte im Rahmen dieser Studie nicht bestätigt werden.

Vielmehr gab es bei den kurzhaarigen Hündinnen öfter Bakterien, die hochgradig vorhanden waren. (70,8 % mit mindestens einem hochgradigen Keim gegenüber 58,5 % bei den langhaarigen Hündinnen). Außerdem hatten mehr kurzhaarige Hündinnen mindestens drei hochgradige Keime. (6,5 % gegenüber 2 % bei den langhaarigen)

Bei den hochgradigen Monokulturen gab es zwischen den beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied, allerdings war die Anzahl der Hündinnen mit jeweils 13 gering.

Trotzdem ist es interessant, dass bei insgesamt 26, also 7,45 % der ausgewerteten Hündinnen ein Keim in hochgradiger Monokultur vorlag, ohne dass diese Hündinnen klinische Symptome gezeigt hatten.

Unterschiede bei den einzelnen Keimen konnten keine festgestellt werden, was darauf schließen lässt, dass die Haarlänge hauptsächlich Einfluss auf die Besiedelung, beziehungsweise das Wachstum von Keimen im Allgemeinen und wenig Einfluss auf bestimmte Bakterien hat.

Unterstrichen wird dieses Ergebnis durch den Vergleich der drei untersuchten Hunderassen.

Hier konnte ein signifikanter Unterschied bei den Streptokokken festgestellt werden, wobei die Anzahl der Hündinnen mit einer hochgradigen Besiedelung bei den American Staffordshire Terrier, einer Rasse mit kurzem Haarkleid deutlich höher war als bei den Golden Retriever Hündinnen, einer Rasse mit langem Haarkleid. (30,4 % gegenüber 6,7 %)

Beim Vergleich der Rassen zur Anzahl an Hündinnen mit hochgradigen Keimen hatten sowohl Labrador Retriever als auch American Staffordshire Terrier, also beide Kurzhaarrassen eine signifikant höhere Keimbelastung als die Golden Retriever Hündinnen. Alle 3 Gruppen gehören der höchsten Gewichtsklasse an, daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Größe beziehungsweise die Scheidenlänge keine wesentliche Bedeutung für Zusammensetzung und Menge der Vaginalflora hat.

Für einen sinnvollen Vergleich zwischen den Rassen zu hochgradigen Monokulturen war die Anzahl der Hündinnen viel zu gering um daraus eine Erkenntnis zu gewinnen.

Eine mögliche Erklärung für die häufigere vaginale Verkeimung von kurzhaarigen Hündinnen ist, dass die Haare eine mechanische Barriere bilden, die das Eindringen von Bakterien in die Vagina erschweren und dieser Schutz bei Hündinnen mit kurzem Haarkleid fehlt. Zu untersuchen bleiben spezifische Einflüsse bestimmter Rassen und Individuen, wie der lokalen Immunabwehr oder der Menge und Zusammensetzung des Vaginalfluors. Hierzu existiert derzeit keine Studie in der internationalen Literatur.

Der Vergleich zwischen den Körpergewichtsgruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede auf und somit kann davon ausgegangen werden, dass das Körpergewicht keinen Einfluss auf die vaginale Bakterienflora von Hündinnen hat. Auch die Länge der Vagina ist offenbar ohne besonderen Einfluss. Von Interesse wäre der Verlauf der Vagina, denn bei einzelnen Individuen ist der Verlauf nach rostral zunächst ansteigend, dann abfallend (up and over), sodass sich im rostralen Abschnitt Sekret ansammeln kann. Die Selbstreinigung ist erschwert.

Es kann mit Hilfe der vorliegenden Datenanalyse nicht gesagt werden, ob die bei vielen Hündinnen vorkommende vaginale Verkeimung im weiteren Verlauf einen Einfluss auf Fruchtbarkeit, Trächtigkeiten und Geburten genommen hat. Dies war auch nicht das Ziel der vorliegenden Studie und kann nur mit Hilfe eines größeren Datenpools abgeklärt werden.

Schlussfolgerung

Hündinnen mit kurzem Haarkleid wiesen generell häufiger eine hochgradige Verkeimung auf, was auch bei bestimmten Rassen deutlich wurde. Es lässt sich daher schlussfolgern, dass bei kurzhaarigen Hündinnen im Proöstrus und Östrus eher eine hochgradige Verkeimung zu erwarten ist. Die Größe beziehungsweise Scheidenlänge ist nicht von Bedeutung. Eine klinische Relevanz haben vor allem hochgradige Monokulturen, allerdings war dafür in dieser Untersuchung die Anzahl der Daten zur Evidenzfindung zu gering.

5. Zusammenfassung

In dieser retrospektiven Studie wurde der Einfluss von mehreren Faktoren auf die vaginale Bakterienflora von Hündinnen untersucht, die im Rahmen einer Deckzeitbestimmung an der Veterinärmedizinischen Universität Wien vorstellig wurden.

Verglichen wurden die Daten von 349 Hündinnen, die einerseits in die Gruppen kurzes Haarkleid und langes Haarkleid, andererseits in drei Körpergewichtsklassen eingeteilt wurden. Alle Hündinnen waren in den Datenblättern als klinisch gesund, sowie geschlechtsgesund befundet worden und es war eine bakteriologische Untersuchung der Vaginalschleimhaut durchgeführt worden.

Zusätzlich verglich man die drei am häufigsten vorkommenden Rassen Golden Retriever, Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier hinsichtlich ihrer vaginalen Keimflora miteinander.

Die quantitativ miteinander verglichenen Bakterien waren *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* und Anaerobier.

Es konnte festgestellt werden, dass die Vaginalschleimhaut von Hündinnen mit kurzem Haarkleid signifikant mehr Keime, die als hochgradig eingestuft wurden, aufweist als die von Hündinnen mit langem Haarkleid.

Dies konnte auch der Vergleich der Rassen bestätigen, wobei die Hündinnen der Rasse Labrador Retriever und American Staffordshire Terrier, zwei Kurzhaarrassen, öfter und mehr hochgradige Keime aufwiesen als Hündinnen der Rasse Golden Retriever, einer Langhaarrasse. Dabei gab es nur Unterschiede in der allgemeinen Verkeimung und kein vermehrtes Auftreten bestimmter Bakterien. Der Vergleich der Körpergewichtsklassen und damit der Scheidenlänge zeigte keinen Einfluss des Körpergewichtes auf die vaginale Keimflora auf. Wie auch in der Literatur beschrieben ist fraglich, ob ein oder mehrere hochgradig vorkommende Keime einen Einfluss auf die Geschlechtsgesundheit haben, solange sie im Rahmen einer Mischflora vorkommen. Klinische Relevanz haben vor allem hochgradige Monokulturen, um hier einen Einfluss der untersuchten Parameter ausschließen zu können, werden aber mehr Daten benötigt.

6. Summary

Retrospective data analysis: influence of selected parameters on the vaginal flora of bitches in proestrus and estrus

In this retrospective study, the influence of several factors on the vaginal bacterial flora of bitches was investigated. All bitches were introduced to the Clinic for Obstetrics, Gynaecology and Andrology, Vetmeduni Vienna, for a cover time determination. All bitches were clinically and gynaecologically healthy and a bacteriological examination of the vaginal mucosa was performed.

The data of 349 bitches were allotted to groups of short hair coat and long hair coat on the one hand, and three body weight classes on the other hand.

In addition, the three most common breeds, Golden Retriever, Labrador Retriever and American Staffordshire Terrier, were compared with each other in terms of their vaginal germ flora.

The examined bacterial strains were *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* and Anaerobes.

It was found that the vaginal mucosa of bitches with a short hair coat has significantly more bacteria detected as high grade than that of bitches with a long hair coat.

The comparison of the breeds confirmed this. The bitches of the breed Labrador Retriever and American Staffordshire Terrier, two breeds with short hair coat, had more often and more high detected bacteria than bitches of the breed Golden Retriever, a long haired breed. There were only differences in the general bacterial contamination and no increased occurrence of certain bacterial strains.

No influence of the body weight on the vaginal germ flora could be shown by the comparison of the body weight classes.

As described in the literature, it is questionable whether one or more high grade bacteria have an influence on the gynaecological health, as long as they occur in the context of a mixed flora. Above all, high grade monocultures are clinically relevant. In order to exclude an influence of the investigated parameters it would require more data.

7. Literaturverzeichnis

- ALLEN WE, DAGNALL GJR. 1982. Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch. *J. Small Anim. Pract.* 23, 325–335.
- BJURSTRÖM L, LINDE-FORSBERG C. 1992. Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in breeding bitches. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 53, 665-669.
- CHALKER VJ. 2005. Canine mycoplasmas. *Res. Vet. Sci.* 79, 1-8.
- DOIG PA, RUHNKE HL, BOSU WTK. 1981. The genital *Mycoplasma* and *Ureaplasma* flora in healthy and diseased dogs. *Can. J. Comp. Med.* 45, 233-238.
- GRAHAM EM, TAYLOR DJ. 2012. Bacterial Reproductive Pathogens of Cats and Dogs. *Vet. Clin. Small Anim.* 42, 561-582.
- GROPETTI D, PECILE A, BARBERO C, MARATINO PA. 2012. Vaginal bacterial flora and cytology in proestrous bitches: role on fertility. *Theriogenology.* Vol. 77, 1549-56.
- KÖCK R, CUNY C. 2018. Multiresistente Erreger bei Tier und Mensch. *Med Klin Intensivmed. Notfmed.* <https://doi-org.ezproxy.vetmeduni.ac.at/10.1007/s00063-018-0487-x>
- L'ABEE-LUND TM, HEIENE R, FRIIS NF, AHRENS P, SORUM H. 2003. *Mycoplasma canis* and urogenital disease in dogs in Norway. *Vet. Rec.* 153, 231-235.
- MELCHARDT A. 2010. Bakteriologische Befunde an caninen Vaginaltupfern. Diplomarbeit, *Vet. Med. Univ. Wien*, pp. 45.

NOGUCHI K, TSUKUMI K, URANO T. 2003. Qualitative and quantitative differences in normal vaginal flora of conventionally reared mice, rats, hamster, rabbits and dogs. *Comp. Med.* Vol. 53, 404-412.

OLSON PNS, MATHER EC. 1978. Canine vaginal and uterine bacterial flora. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* Vol. 172, 708-710.

ROOT KUSTRITZ MV. 2006. Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology* 66, 567-574.

ROTA A, MILANI C, CORRÓ M, DRIGO I, BÖRJESSON S. 2012. Misuse of Antimicrobials and Selection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Strains in Breeding Kennels: Genetic Characterization of Bacteria After a Two-year Interval. *Reprod. Dom. Anim.* Doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02012.x.

RUMLER R. 2018. Zur Ursache der individuellen Zunahme der Vaginalflora bei Hündinnen im Proöstrus und Östrus. Diplomarbeit, Vet. Med. Univ. Wien, pp. 26.

SPERGSER J, ROSENGARTEN R. 2007. Identification and differentiation of canine *Mycoplasma* isolates by 16S-23S rDNA PCR-RFLP. *Vet. Microbiol.* 125, 170-174.

VAN DUIJKEREN E. 1992. Significance of the vaginal bacterial flora in the bitch: a review. *Veterinary Record* 1992, 131, 367-369.

WATTS JR, WRIGHT PJ, WHITHEAR KC. 1996. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J. Small Anim. Pract.* 37, 54-60.

8. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tab. 1: In der caninen Vaginalflora nachgewiesene Keime (ROOT KUSTRITZ 2006, GROPETTI et al. 2011, GRAHAM und TAYLOR 2012).....	3
Tab. 2: Nachgewiesene Bakterien – Vergleich zwischen den Gruppen	8
verschiedener Haarlänge	8
Abb. 1: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen verschiedener Haarlänge	11
Abb. 2: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Gruppen verschiedener Haarlänge	12
Tab. 3: Nachgewiesene Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts	13
Abb. 3: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts	16
Abb. 4: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Gruppen unterschiedlichen Körpergewichts.....	17
Tab. 4: Nachgewiesene Bakterien – Vergleich zwischen den Hunderassen.....	19
Abb. 5: Hochgradiger Nachweis von Bakterien - Vergleich zwischen den Hunderassen	22
Abb. 6: Hochgradiger Nachweis von Monokulturen - Vergleich zwischen den Hunderassen.....	23