

2. LITERATUR

2.1. ZYKLUSVERLAUF DER HÜNDIN

Die klassischen Zyklusstadien werden nach Heape (1900) eingeteilt in

- Proöstrus, den Beginn des Sexualzyklus,
- Östrus, die Periode der sexuellen Akzeptanz,
- Metöstrus, die Periode absinkender sexueller Aktivität und
- Anöstrus, die Periode sexueller Ruhe.

2.1.1. PROÖSTRUS

2.1.1.1. Verhalten im Proöstrus

Der Proöstrus ist definiert als der Teil des Reproduktionszyklus, der dem Östrus vorangeht (Olson et al., 1988). Bei Hunden zeigt sich der behavioristische Proöstrus zumeist so, dass die Hündin für Rüden attraktiv ist, sie aber keinen Sexualakt duldet (Olson et al., 1984). Diese Phase ist im Verhalten der Hündin dadurch charakterisiert, dass sie immer mehr die Werbung des Rüden akzeptiert (Romagnoli, 1992). Der Deckversuch wird noch abgewiesen und die Hündin ist zu Beginn dieser Phase sehr entschieden und manchmal sogar aggressiv in ihrer Zurückweisung. Gegen Ende des Proöstrus wird die Nähe des Rüden geduldet, auch wenn er allgemein am Besteigen gehindert wird (Romagnoli 1992).

2.1.1.2. Hormonveränderungen im Proöstrus

Das FSH, produziert in der Hypophysenvorderlappen-Region, erreicht seine niedrigsten Werte im Sexualzyklus der Hündin zum Ende des Proöstrus (Olson et al., 1988). Die Regulationsmechanismen der Sekretion des FSH (Follikel stimulierendes Hormon) im Zyklus der Hündin sind noch nicht vollständig geklärt (Günzel-Apel, 1993). Die Anbildung und das zehn bis zwölf Tage dauernde Wachstum der Ovarialfollikel mit zum Teil erheblichen individuellen Unterschieden geht mit einer zunehmenden Östrogenproduktion einher. Die durchschnittliche Dauer des Proöstrus beträgt neun Tage, variiert aber von drei bis zu 17 Tagen. Die meisten Berichte stimmen darin überein, dass die höchsten 17- β -Östradiol-

Konzentrationen ein bis zwei Tage vor dem Ende des Proöstrus auftreten und danach absinken (Linde, Karlsson 1984). Noch vor dem Sistieren der folliculären Östrogensynthese gegen Ende des Proöstrus kommt es über einen positiven Rückkopplungsmechanismus („feedforward“) (Döcke 1994) zur Ausschüttung von Luteinisierungshormon aus der Adenohypophyse. Die LH-Sekretion geht mit der präovulatorischen Luteinisierung folliculärer Granulosazellen einher (Günzel-Apel 1993).

Die Progesteron-Serum-Konzentration bleibt vor und während des frühen Proöstrus niedrig. Während eines Zeitraumes von zwei bis drei Tagen vor dem LH-Peak und bevor der Rüde akzeptiert wird, steigt die Progesteron-Konzentration leicht an. Dieser Anstieg steht in Beziehung zur präovulatorischen Luteinisierung der Ovarialfollikel (Olson et al., 1984). Testosteron-Konzentrationen im späten Proöstrus und im Östrus der Hündin können Werte erreichen, die bei Zuchtrüden gefunden wurden (Concannon, 1977, Olson et al., 1984). Ob dieses Testosteron jedoch nur ein intermediäres Produkt bei der vermehrten Steroidhormon-Synthese ist oder Bedeutung für normale physiologische Begebenheiten wie den Verhaltens-Östrus oder die Zellproliferation im Ovar hat, ist noch unklar (Olson, et al., 1988). Die Serum-Konzentrationen des LH verbleiben nach diesen Autoren während des Proöstrus auf einem Basalniveau.

2.1.1.3. Vaginalzytologische Befunde im Proöstrus

Während des Proöstrus steigt die Östrogen-Konzentration im Serum an. Daraus resultieren auch eine Proliferation des Vaginalepithels und eine Diapedesis von Erythrozyten durch die Uterus-Kapillaren, nach Olson et al. (1988) auch durch die der Vagina. Das Blut aus den Uterusgefäßen gelangt in das Gebärmutterlumen und vermischt sich dort mit dem Uterussektret (Günzel-Apel, 1993).

Im frühen und mittleren Proöstrus werden noch einzelne Parabasal- und Basalzellen, vorwiegend aber Erythrozyten und Superficialzellen im Ausstrich gefunden (Arnold, 2001, Mialot, 1993). Im Proöstrus vermehren sich schrittweise die Intermediär- und Superficialzellen auf Kosten der Zahl der Parabasalzellen.

Im späten Proöstrus dominieren die Superficialzellen. Die neutrophilen Granulozyten sind bei physiologischen vaginalen Befunden zum Ende des Proöstrus nicht oder nur mehr gering präsent (Waberski, Günzel-Apel 1990, Wright, Parry 1989).

Erythrozyten sind zu diesem Zeitpunkt im Ausstrich reichlich vorhanden. Wenn sie fehlen, dann bei sogenannter weißer Hitze (Wright, Parry 1989) oder verdeckter Läufigkeit (Günzel-Apel 1993). Bakterien im Ausstrichbild des Proöstrus sind normal (Romagnoli 1992).

2.1.2. ÖSTRUS

2.1.2.1. Verhalten im Östrus

Der Östrus ist die Periode des Sexualzyklus, in der die meisten Hündinnen paarungsbereit sind. Auch dieser Zeitraum dauert im Durchschnitt neun Tage, variiert aber von drei bis zu 21 Tagen (Olson et al., 1984).

Die Vulva verliert etwas an Turgor, der Ausfluss besteht weiter, wird aber weniger und klarer. Vielfach erkennt der Besitzer den Beginn des Östrus an einer deutlichen Veränderung des Verhaltens: Die Hündin wirkt zuwendungsbedürftiger und anhänglicher. Sie wendet sich schon bei Beginn der Annäherung und Werbung eines Rüden zu diesem hin; sie akzeptiert den Deckakt und verharrt im Vierfüßlerstand mit erhobener oder zur Seite abgewinkelter Rute.

Bei der Berührung durch den Rüden wird eine lordotische Haltung eingenommen und dem Rüden die Vulva präsentiert und die Rute beiseite gelegt (Romagnoli 1992). Häufig wird auch eine sogenannte T-Stellung eingenommen: Der Rüde besteigt die Hündin seitlich, die Längsachsen der Körper stehen wie die Balken eines T zueinander (Feddersen-Petersen, 2000).

Es gibt keine Phase des Verhaltens im Östrus, die direkt mit der Ovulation korreliert. Das erste Akzeptieren des Rüden kann schon am elften Tag vor der Ovulation eintreten und bis zum dritten Tag danach andauern (Romagnoli 1992, Concanon 1977).

2.1.2.2. Hormonveränderungen im Östrus

Das Akzeptieren des Rüden, der Abfall der 17- β -Östradiol-Werte und der Anstieg der Progesteron-Konzentration fallen im Östrus zeitlich zusammen (Olson et al. 1984). Die Östradiol-Werte, die im Proöstrus stark angestiegen waren, erreichen ihren Höchstwert ein bis zwei Tage vor dem Ende des Proöstrus. Erst danach steigen die Progesteron-Werte allmählich an (Linde, Karlsson 1984; Concannon 1977).

Bei ovariectomierten Hündinnen kann durch exogene Östrogen-Applikation ein Östrus-Verhalten nachgeahmt werden, das jedoch dann am besten synchronisiert ist, wenn gleichzeitig mit dem Absetzen der Östradiol-Gaben die Progesteron-Zufuhr gesteigert wird (Olson et al. 1984, Romagnoli 1992, Concannon 1977). Ähnlich scheint auch der präovulatorische LH-Anstieg mit dem Abfall der 17- β -Östradiol-Konzentration im Blut verknüpft zu sein. Die Dauer des präovulatorischen LH-Anstiegs bei der Hündin variiert zwischen 24 und 96 Stunden (Olson et al. 1984).

Der FSH-Gipfel liegt normalerweise ein bis zwei Tage nach dem LH-Peak. Die Ovulation erfolgt schließlich durchschnittlich 24 bis 72 Stunden nach dem LH-Peak (Olson et al. 1984). Serum-Progesteron-Werte, die während des LH-Peaks erstmals nachweisbar sind, steigen auch nach dem LH-Abfall weiterhin kontinuierlich über etwa zehn Tage an (Romagnoli 1992).

2.1.2.3. Vaginalzytologische Befunde im Östrus

Im Östrus vorgenommene Vaginalabstriche bei gesunden Hündinnen enthalten keine neutrophilen Granulozyten. Die Erythrozyten haben an Zahl abgenommen oder fehlen ganz (Thrall, Olson 1989). Mehr als 90 Prozent der Epithelzellen sind vom Superficial-Typ (Dreier 1975). Während die Ausstriche von einigen Hündinnen zu fast 100 Prozent kernlose Zellen enthalten, sind bei anderen weiterhin Intermediärzellen nachweisbar (Thrall, Olson 1989). Nach diesen Autoren ist das Maximum der Keratinisierung variabel vom sechsten Tag vor bis zum dritten Tag nach dem LH-Peak. Aber auch das Maximum der Keratinisierung schwankt von Tier zu Tier, was mit den unterschiedlichen Höchstwerten der 17- β -Östradiol-Konzentration erklärt werden kann (Linde, Karlsson 1984).

Große Zahlen von Bakterien, jedoch ohne das Auftreten von neutrophilen Granulozyten, können in Ausstrichen im Östrus gefunden werden. In den meisten Fällen ist der Hintergrund jedoch sehr klar und frei von Bakterien oder Zell-Detritus (Thrall, Olson 1989). Vor dem geschätzten Ovulationstermin, während Proöstrus und Östrus, verklumpen die Zellen leicht, in Ovulationsnähe liegen die Zellen einzeln und plan (Bell et al. 1973, Waberski, Günzel-Apel, 1990).

Einen Tag vor Beginn des zytologischen Metöstrus liegen die Superficialzellen gewöhnlich in Haufen verklumpt vor, mit nur schlecht abgegrenzten Zytoplasmasäumen oder umgeschlagenen Zellrändern (Waberski, Günzel-Apel 1990).

2.1.3. METÖSTRUS

2.1.3.1. Verhalten im Metöstrus

Der Beginn des Metöstrus wird im verhaltensbiologischen Sinne definiert als der erste Tag nach dem Östrus, an dem die Hündin den Rüden abweist. Die Beobachtung des Verhaltens allein erlaubt jedoch keine exakte Bestimmung des Metöstrus, da einige Hündinnen auch noch im Beginn des Metöstrus den Rüden akzeptieren (Arnold 2001, Romagnoli 1992). Die Dauer des Metöstrus beträgt zwischen 90 und 120 Tagen (Concannon 1985).

2.1.3.2. Hormonveränderungen im Metöstrus

Die Serum-Konzentration des Progesteron steigt weiter gleichmäßig an und verbleibt auf einem Plateau bis etwa zum 28. - 30. Tage des Metöstrus. Danach fällt sie über einen Zeitraum von vier bis fünf Wochen allmählich ab (Olson et al. 1984). Das Progesteronprofil ist sehr ähnlich bei nichttragenden und tragenden Hündinnen (Olson et al. 1988), nur dass bei tragenden Hündinnen der Progesteronspiegel 24 bis 48 Stunden vor der Geburt abrupt abfällt, während er bei den fertilen, aber nicht tragenden Hündinnen um den 60. bis 70. Tag post ovulationem den Basalwert allmählich erreicht (Romagnoli 1992).

Das 17- β -Östradiol erreicht während des Metöstrus wieder seine Ausgangswerte.

2.1.3.3. Vaginalzytologische Befunde im Metöstrus

Mit Beginn des Metöstrus kommt es zu einem abrupten Umschwung im zytologischen Bild: Die Anzahl der Superficialzellen fällt unter 90 Prozent; innerhalb weniger Tage ist ein Verteilungsmuster erreicht, bei dem die Parabasal- und Intermediärzellen, die vorher vollständig fehlten oder unter fünf Prozent lagen, auf mehr als zehn Prozent, manchmal mehr als 50 Prozent, ansteigen (Dore 1978, Dore 1978a).

Damit einher geht gewöhnlich das erneute Auftreten von neutrophilen Granulozyten in unterschiedlich großer Anzahl (Günzel-Apel 1993). Ihre Präsenz kann als Hinweis für den Beginn des zytologischen Metöstrus gewertet werden. Erythrozyten können noch in Ausstrichen des frühen Metöstrus vorhanden sein. Daher ist es oft unmöglich, Proöstrus und Metöstrus anhand eines einzigen Ausstriches einer Hündin zu unterscheiden (Olson 1988; Waberski, Günzel-Apel 1990).

2.1.4. ANÖSTRUS

2.1.4.1. Verhalten im Anöstrus

Das Verhalten des Rüden zur Hündin und umgekehrt ist im Anöstrus nicht von sexuellen Handlungen geprägt. Diese Phase der sexuellen Erholung dauert je nach Rasse, Umweltbedingungen und Gesundheit der Hündin zwei bis zehn Monate. Während des Anöstrus hat der Rüde kein sexuelles Interesse an der Hündin und betrachtet sie nur als Nahrungskonkurrentin, während die Hündin jeden sexuellen Annäherungsversuch des Rüden abwehrt (Feddersen-Petersen 2000).

2.1.4.2. Hormonveränderungen im Anöstrus

Obwohl der Anöstrus als die Ruhephase des sexuellen Zyklus der Hündin beschrieben wird, gibt es doch Hinweise, dass weder Ovar noch Hirnanhangdrüse während des Anöstrus inaktiv sind. Die Serumkonzentration des 17- β -Östradiol ist im Anöstrus konstant, sinkt aber einige Tage vor Beginn des Proöstrus ab. Zum gleichen Zeitpunkt scheint die LH-Konzentration anzusteigen, etwa um den zehnten bis 15. Tag vor dem LH-Peak im Östrus. Die FSH-Konzentration ist bereits einige Wochen vor Beginn des Proöstrus, den Zykluseintritt vorbereitend,

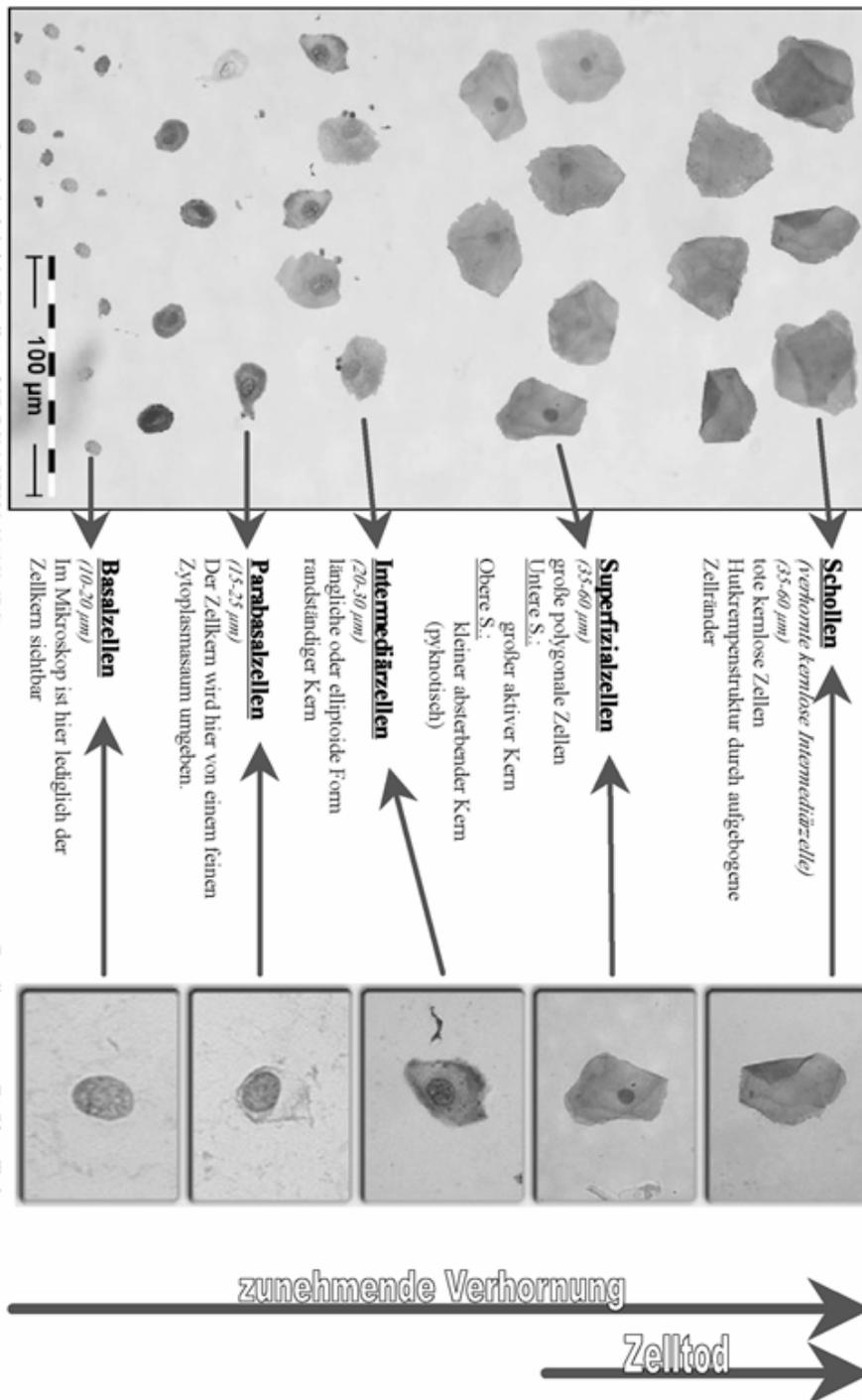
leicht erhöht. Die Progesteron-Werte und Östrogen-Werte bleiben auf Basalniveaus (Olson 1984, Concannon 1977).

2.1.4.3. Vaginalzytologische Befunde im Anöstrus

Parabasalzellen und Intermediärzellen sind die vorherrschenden Zelltypen im vaginalzytologischen Ausstrich dieser Periode. Leukozyten können vorhanden sein (Barret 1976), sind aber generell seltener als im frühen Metöstrus. Erythrozyten fehlen im physiologischen Zellbild des Anöstrus vollständig, der Ausstrich ist generell zellarm (Olson et al. 1984).

Viele Autoren haben schematisierende Zeichnungen von der Entwicklung der Zellen des Vaginalepithels angefertigt (Laznicka, 1994; Maneke, 2002, Prabhakar et al.1991; Arnold 1994). Theise (2002) entwickelt die in Abb. 1 dargestellte Synopse anhand von zytologischen Präparaten.

Übersicht über die Zelltypen des Vaginalepithels bei der Hündin



entnommen aus: „Gynäkologie bei der Hündin“ auf CD-ROM (ISBN 3-931253-67-8)
http://www.vetion.de
these@bigfoot.de

Erstellt von:
TA Björn These
Tierklinik für Fortpflanzung
Freie Universität Berlin

Abbildung 1: Entwicklung des Vaginalepithels im Zyklusverlauf (nach Theise,2002).

2.2. BESONDERHEITEN IM SEXUALZYKLUS DER HÜNDIN

Die Hündin ist saisonal monöstrisch, d.h. dass während jeder Reproduktionsperiode nur ein Zeitabschnitt der Konzeptionsbereitschaft in Erscheinung tritt (Siegel, 1982). Zwischen zwei Läufigkeiten besteht eine mehrmonatige Regenerationsphase, der Metöstrus, gefolgt von einer Ruhephase, dem Anöstrus (Heape, 1900). Die individuelle physiologische Schwankungsbreite zwischen zwei Zyklen ist gering, doch können innerhalb der Rassen Variationen vorkommen. Studien an streunenden Hündinnen in Mexiko legen eine Art Hochphase sexueller Aktivität zum Ende des Kalenderjahres nahe (Miramontes-Vidal, 1987). Einige Wildhund-Rassen, afrikanische Basenji und gewisse russische Laika-Rassen, werden nur einmal jährlich läufig (Gehring, 1989). Manche Autoren haben den Zyklus beim Hund als saisonal monöstrisch mit bestimmten Fortpflanzungsabschnitten im Jahresverlauf beschrieben (Lorin 1991, Arnold 2001). Obwohl Hündinnen mancher Rassen häufiger im Winter oder zeitigen Frühjahr läufig werden, zeigen viele Rassen eine gleichmäßige Verteilung des ovariellen Zyklus über den gesamten Zeitraum eines Kalenderjahres. Wahrscheinlich ist der jahreszeitliche Einfluss auf die Reproduktionsperiode mit zunehmender Domestikation des Hundes modifiziert worden (Siegel 1982). Der monöstrische Zyklus unterscheidet die Hündin von anderen Haussäugetieren.. Bei anderen, polyöstrischen Spezies, wie beispielsweise beim Pferd, kommt es während einer Reproduktionsperiode dadurch zu mehreren Östruszyklen. Nach Östrus und Metöstrus tritt ein kurzer Diöstrus auf, dem rasch wieder Proöstrus und Östrus folgen (Heape 1900).

Bei der Hündin aber tritt der Sexualzyklus nur ein bis maximal drei mal pro Jahr auf. Wegen einer Verlängerung der Phase des Anöstrus, die pharmakologisch vorsichtig unterbrochen oder verkürzt werden kann, tritt die Hündin nicht wieder wie die weiblichen Vertreter anderer Spezies in einen strikten jahreszeitlichen Rhythmus oder einen ununterbrochenen sogenannten diöstrischen Zyklus ein (Romagnoli 1992). Infolgedessen ist bei größeren Hundepopulationen mit Zyklen gleichmäßig über das ganze Jahr zu rechnen (Christie, Bell, 1973; Lorin, 1991). Eine weitere Besonderheit des Zyklus bei der Hündin ist, dass der Eintritt des Östrus nicht direkt mit der Ovulation korreliert. Dies führt dazu, dass bei der Begattung die Aufnahmefähigkeit der Hündin schon begonnen hat oder aber durch

die Reifung der Oozyten nach der Ovulation so verzögert ist, dass die gewöhnliche Bedeckung am zwölften Tag nach Beginn der Proöstruszeichen erfolglos bleibt. Im Allgemeinen wird die Überlebenszeit der Gameten der Spezies *canis familiaris* mit sechs bis sieben Tagen für die Spermien und fünf bis sechs Tage für die Oozyten angegeben, so dass mit einem einzigen Deckakt zum richtigen Zeitpunkt befriedigende Fruchtbarkeitserfolge entstehen können. Die Langlebigkeit der Oozyten erklärt sich daraus, dass Hündinnen primäre Oozyten ovulieren, die erst eine zweite Polarisierungsteilung durchlaufen müssen, um erfolgreich befruchtet werden zu können. Im Gegensatz dazu ovulieren domestizierte Wiederkäuer sowie Pferd, Schwein und Katze sekundäre Oozyten (Romagnoli 1992).

Der intensive Prozess der Keratinisierung der Zellen des Vaginalepithels während des Proöstrus und Östrus, den man bei entsprechender Färbetechnik im kolpozytologischen Präparat gut erkennen kann und der die Bestimmung der verschiedenen Zyklusphasen zulässt, hat bei der Hündin diagnostische Bedeutung erlangt, während bei anderen Haustieren diese Praktikabilität nicht gegeben ist (Romagnoli 1992, Mialot 1983). Die Theka-Luteinzellen der reifen Follikel beginnen schon ein bis zwei Tage vor dem LH-Peak und somit drei bis vier Tage vor der Ovulation Progesteron zu sezernieren. Vermutlich infolge der extensiven präovulatorischen Luteinisierung wird bei der Hündin bei der Ovulation kein Corpus hämorrhagicum gebildet (Romagnoli 1992).

Schließlich gibt es im Gegensatz zu anderen Spezies keinen Unterschied in der Dauer und der Intensität der Progesteron-Sekretion während des Metöstrus oder der Gravidität. Durch diese im Verlauf von Gravidität und Metöstrus sehr ähnlichen Progesteron-Werte gibt es keine Möglichkeit bei der Spezies *Canis familiaris*, die Gravidität durch die Funktionswerte des Corpus luteum zu erkennen (Romagnoli 1992).

2.3. NOMENKLATORISCHE PROBLEME MIT DEN BEGRIFFEN METÖSTRUS UND DIÖSTRUS

Der protrahierte Zyklusverlauf und die von anderen Spezies abweichende hormonelle Steuerung haben zu uneinheitlichen Definitionen der Zyklusphasen im internationalen Schrifttum geführt (Waberski, Günzel-Apel, 1990).

Der Begriff des Metöstrus wurde vor allem in der neueren englischsprachigen Literatur, im Gegensatz zur französischen, weitgehend durch den Terminus Diöstrus ersetzt, um den Zyklusstand nach dem Östrus zu beschreiben.

Da jedoch diese Phase – die Corpus-luteum-Phase – sicherlich keine Periode absinkender Aktivität ist, sondern die Zeit, in welcher die Corpora lutea aktiv sind, soll der Begriff Diöstrus diesen Abschnitt des Sexualzyklus der Hündin beschreiben. Ob der Begriff Diöstrus, der allgemein die Lutealphase beschreibt, bei der Hündin, die schon im Östrus Progesteron in quantifizierbaren Mengen sezerniert, besser gewählt ist, soll dahingestellt sein.

Es mag durchaus sinnvoll erscheinen, einen Terminus einzuführen, der die Leukozyteninvasion in das Vaginalepithel beschreibt, die zum Anfang dieses Zyklusstadiums stattfindet. Hierfür einen durch den Wortsinn absinkende Aktivität anzeigenden Begriff einzubringen, erscheint nicht zielführend.

Eine glücklichere Wortwahl ist mit dem Begriff Diöstrus jedoch auch nicht gefunden, denn hält man sich an die alten Definitionen von Heape (1900), die dieser auch für andere Spezies eingeführt hatte, so gibt es bei der Hündin keinen Diöstrus, weil dieser unmittelbar dem Proöstrus vorangeht und nur wenige Tage andauert – eine Phase, die bei der monöstrischen Hündin jedoch vom mehrwöchigen Anöstrus unterbrochen wird (Olson et al. 1984; Heape, 1900). Eine zusätzliche Verwirrung bringt die Unterscheidung der Gelbkörperbildungsphase, die etwa zwei Tage andauert – genannt Metöstrus – von der Gelbkörperblütephase – genannt Diöstrus (Waberski, Günzel-Apel 1990; Siegel, 1982).

In einer anderen Variante wird der progressive Metöstrus (Dore 1978) oder Metöstrus 1 (Spitz 1997), bei dem im zytologischen Präparat neben Parabasal- und kleinen Intermediärzellen noch große Intermediärzellen und Superficialzellen

auftreten, vom regressiven Metöstrus oder Metöstrus 2 unterschieden, in welchem die letztgenannten Zellen verschwunden sind und die Anzahl der neutrophilen Granulozyten abgenommen hat (Dore 1978, Laznicka 1994).

Spaniel-Borowski et al. (1984) differenzieren den sekretorischen vom regressiven Metöstrus.

Marchevsky et al. (1979) unterscheiden nach dem kolpozytologischen Befund zwischen

- Metöstrus mit Superficial-, Intermediärzellen und Leukozyten und
- Diöstrus mit den Zelltypen Parabasal-, Intermediär- und Superficialzellen, letztere in Zellhaufen.

Da jedoch im semantischen Wortsinn Diöstrus und Metöstrus durchaus eine voneinander unterschiedliche Sinnbeziehung zum Zustand nach dem Östrus haben:

- Diöstrus = zwischen zwei Östren und
- Metöstrus = noch im Bereich des Östrus

sollte im Sinne der Einheitlichkeit und Verständlichkeit Metöstrus synonym für Diöstrus ohne weitere Unterscheidungen benutzt werden (Heape 1900, Romagnoli 1992, Wright, Parry 1989, Olson et al. 1984, Olson et al. 1988).

2.4. METHODEN ZUR BESTIMMUNG DES ZYKLUSSTANDES

2.4.1. ZÄHLMETHODE UND DULDUNGSPROBE

Beide Methoden gehen von äußerlich leicht ablesbaren Merkmalen im Zyklus der Hündin aus und gehören so in die Gruppe der nicht-invasiven Methoden.

Das unter Züchtern allgemein übliche Belegen der Hündin am zwölften Tag des Zyklus (England, 1992) ergibt zwar befriedigende Fruchtbarkeitsresultate auch bei nur einem Deckakt (Romagnoli, 1992). Diese empirische, sogenannte Zähl-

methode, die auf der Beobachtung des behavioristischen Östrus beruht, kann jedoch versagen, da Hündinnen eine besonders große individuelle Variationsbreite in der Länge des Verhaltens-Östrus haben können, so dass einige Hündinnen schon am dritten oder vierten Tag der „Hitze“, andere erst am 21. Tag oder sogar später belegt werden sollten (Linde, Karlsson 1984).

Andere Hündinnen zeigen keine offensichtlichen Östrus-Anzeichen und lassen sich nicht decken. Dies ist aber wohl eher eine psychologische Aberration, als eine hormonelle (Linde, Karlsson 1984).

Die läufige Hündin zeigt durchaus Vorlieben oder Abneigung für den ihr präsentierten Sexualpartner. Und stimuliert man die Vulva einer nach der Zählmethode deckbereiten Hündin, oder führt ihr versuchsweise einen Rüden als vermeintlichen Deckpartner in der sogenannten Duldungsprobe zu, so kann auch hier das Resultat irreführend sein: Das eventuelle Zurückweisen eines Deckrüden durch die an sich läufige Hündin kann so missverständlich als ein Ausbleiben der Paarungsbereitschaft im Östrus interpretiert werden. Obwohl die Hündin eigentlich aus behavioristischen Gründen diesen Deckpartner ablehnt verschiebt man das Bedecken noch einige Tage und lässt so die Zeit, in der die Hündin am fruchtbarsten ist, ungenutzt verstreichen lässt (Romagnoli, 1992).

Die Abneigung für einen speziellen Partner mag auch ein Atavismus sein: Unter Wölfen ist es in der Regel der Alpha-Rüde, der während der Zeit der größten Empfängnisbereitschaft andere Rüden verdrängt, mit der Hündin kopuliert und Nachwuchs zeugt. Es kommt jedoch auch vor, dass die Alpha-Wölfin den Beta-Rüden vorzieht und sich dann von diesem decken lässt, während das Rudeloberhaupt mit Imponiergehabe und Verjagen der Konkurrenz beschäftigt ist. Auffällig ist, dass die Initiative der Partnerwahl bei Wölfen wie bei Hunden häufig vom Weibchen ausgeht (Feddersen-Petersen 2000).

So lässt also der behavioristische Östrus nur ungenaue Schätzungen zur Vorhersage des LH-Peaks, der folgenden Ovulation und somit des günstigsten Bedeckungszeitraumes zu (Linde, Karlsson 1984).

2.4.2. HORMONKONZENTRATIONSBESTIMMUNGEN

Zur Praxisreife gelangt sind quantitative Progesterontests als RIA und ELISA oder semiquantitative Schnelltests (Waberski, Günzel-Apel 1990, Laiblin 1991).

Hier wird zur Vorhersage des Ovulationszeitpunktes die zu erwartende Überschreitung des Schwellenwertes für die Auslösung der Ovulation von 5,4ng Progesteron (16,85 nmol) / ml Serum benutzt, der von Concannon (1977) ermittelt wurde. Helbig (1986) hat Werte von 3 bis 11 ng Progesteron (9,36 – 34,3 nmol) / ml bei Eintritt der Ovulation gemessen. Die Ovulation tritt 24 bis 48 Stunden nach dem Überschreiten des Schwellenwertes ein (Laiblin 1991). Nachteilig an diesen Verfahren ist, dass bei den Hündinnen oft mehrfach Abstriche und Blutentnahmen vorgenommen werden müssen.

Eine Progesteronbestimmung aus dem Kot mittels EIA zeigt eine hohe Korrelation zwischen Plasma-Progesteronwerten, klinischem Erscheinungsbild und Faeces-Progesteronwerten (Münnich, Gilich 1995). Eine praktikable Anwendung ist jedoch nicht gelungen.

Alle anderen Hormonkonzentrationsbestimmungen (FSH und LH) sind aufwendig, teuer und obendrein umständlich für den Besitzer, denn sie erfordern mehrere Blutentnahmen in kurzen Abständen, was ihren praktischen Wert stark einschränkt.

2.4.3. MESSUNG DES ELEKTRISCHEN WIDERSTANDES IM VAGINALSEKRET

Hormonabhängige Variationen der bioelektrischen Zelleigenschaften sind als veränderter elektrischer Widerstand im Scheidensekret mittels Ohmmeter messbar. Ausgehend von niedrigen Basalwerten im Proöstrus ergibt sich ein Plateau (Helbig 1986) während des gesamten Östrus, das im Mittel fünf bis zehn Tage bestehen bleibt. So ist eine Terminierung des Ovulationszeitpunktes und Beginn des Konzeptionsoptimums allein mit diesem Verfahren nicht möglich.

Allerdings geht das rapide Absinken der Widerstandswerte dem Zellumschwung und dem Östrusende um zwei bis vier Tage voraus, so dass damit frühzeitig das Ende des Konzeptionsoptimums angezeigt wird (Waberski, Günzel-Apel 1990).

In der Praxis hat sich dieses Verfahren wegen der damit verbundenen Reizung der Vaginalschleimhaut bis hin zu Entzündungen und auch wegen falsch positiver Resultate nicht durchsetzen können.

2.4.4. FARNKRAUTPHÄNOMEN

England (1992) hat für die Hündin beschrieben, dass der Vaginalschleim, lässt man ihn auf einem Objektträger trocknen, in Farnblattform auskristallisiert. Der von ihm entwickelte *ferning-index* erreicht die Mitte eines Plateaus etwa zwei Tage nach dem errechneten LH-Peak, also vermutlich zum Zeitpunkt der Ovulation. In Kombination mit dem von ihm entwickelten Anukleär-Zellen-Index ergaben sich deutlich bessere Nachzuchtergebnisse als mit der Zählmethode (England 1992).

Das Verfahren ist aus der Humanmedizin bekannt und beruht auf der sich bei der Frau stark verändernden Viskosität des Cervixsekretes, dort auch im Englischen „Spinnbarkeit“ genannt, das dann beim Trocknen unterschiedliche Kristallisationsformen unter wechselnden pH-Werten erzeugt (Insler 1992).

Insler unterscheidet den wässrigen Typ-E-Mucus, der bei der Frau präovulatorisch um den Zeitpunkt der Ovulation unter hoher Östrogen-Stimulation sezerniert wird und die Spermien-Wanderung begünstigt vom dickflüssigeren Typ-G-Mucus, der stark quervernetzte Mucin-Proteine enthält, deren Maschen für die Spermatozoen undurchlässig sind. Dieser Typ-G-Mucus wird während der Corpus luteum-Phase unter Gestagen-Einfluss sowie während der frühen Schwangerschaft erzeugt.

Es bleibt zu prüfen, ob diese Methode, die sich bisher bei der Hündin nicht durchgesetzt hat, Praxisrelevanz erreichen wird.

2.4.5. PH-WERT-MESSUNG

Angaben über den pH-Wert in der Vagina der Hündin, zumal in verschiedenen Zyklusstadien, wurden in der Literatur vor 1998 nicht gefunden. Die allgemein geäußerte Vermutung, der pH-Wert liege um den Normalwert, wird durch die Besiedlung mit der entsprechenden aeroben Keimflora gestützt. Allein Hoyme et al. (1978) berichten in einer experimentellen Arbeit über den von ihnen ermittelten vaginalen pH-Wert. In dieser Arbeit wurden Hündinnen artifiziell mit *E. coli* infiziert. Dies geschah durch Injektion von 0,2 ml einer Bakteriensuspension mit etwa 100.000 Keimen pro ml in das transurethrale Gewebe der mit Penthotal narkotisierten Hündinnen. Die pH-Wert-Messung geschah elektrisch, oder bei kleinen Flüssigkeitsmengen durch pH-Papier. Hoyme et al. (1978) fanden, dass die durch pH-Wert-Papier ermittelten Werte im Vergleich zur elektrische Messung befriedigend genau waren. Ihre Messungen an 15 Hündinnen ergaben einen vaginalen pH-Wert von durchschnittlich 6,95 vor und 7,10 nach der artifiziellen Infektion. Die Autoren selbst folgern, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den pH-Werten infizierter und nicht infizierter Hündinnen gibt. Ström und Lindforsberg (1993) gehen von individuell unterschiedlichen pH-Werten aus. De Oliveira (1998) gibt den vaginalen pH-Wert im Proöstrus mit 5,5 bis 6,5, sowie im Metöstrus mit 7,0 bis 8,5 an. Nach ihren Angaben sind die Werte im Anöstrus klar alkalisch mit pH 7,8 bis 8,5. Schulz (2002) hat dagegen den pH-Wert bei 15 Hündinnen im Proöstrus und Östrus mit einer Ausnahme (pH = 7,0) mit Werten zwischen 7,5 und 8,5 bestimmt. Schulz (2002) hat eine direkte Korrelation zweier gering invasiver Parameter zur Bestimmung des Östrus und des optimalen Decktermins gefunden. Dies sind die Verlaufsbestimmungen von Körpertemperatur und vaginalem pH-Wert. Es ist zu hoffen, dass sich dieses einfache Vorgehen in der Praxis bewähren wird.

2.4.6. SONOGRAPHIE

Nach Günzel-Apel (1993) stellt die Sonographie das einzige praxisreife Verfahren zur direkten, nicht-invasiven Verlaufskontrolle der Follikelreifung, Ovulation und Gelbkörperanbildung dar. Danach besitzen Follikel zunächst Stecknadelkopfgröße. Ihr Durchmesser nimmt zum Zeitpunkt des LH-Peaks, also ein bis zwei Tage vor der Ovulation kontinuierlich zu. Einhergehend mit der präovulatorischen Folli-

kelluteinisierung tritt eine Zunahme der Echogenität im Follikelwandbereich ein. Im Zuge der Ovulation verwandeln sich die echoarmen folliculären Strukturen innerhalb von zwölf Stunden in echogene Gebilde, die sich kaum vom umliegenden Eierstockgewebe abgrenzen lassen. Zur sicheren sonographischen Erkennung der Ovulation muss, beginnend mit dem präovulatorischen Progesteronanstieg die Untersuchungsfrequenz auf zweimal pro Tag (Zwölf-Stunden-Intervall) gesteigert werden.

Diagnostische Schwierigkeiten sind bei großen Rassen und korpulenten Hündinnen zu erwarten. Eine befriedigende Bildqualität ist nur mit hochfrequenten Schallköpfen (7,5 MHz und höher) zu erreichen (Lorin 1991).

2.4.7. VAGINOSKOPIE

Der vaginoskopische Befund erlaubt eine Zuordnung zu den einzelnen Zyklusphasen nach den Kriterien Farbe und Oberflächenbeschaffenheit der Vaginalschleimhaut sowie mögliche Sekretion (Ehlers, 2000). Im frühen Proöstrus ist die Vaginalschleimhaut rosa, sie bildet Längs- und Querfalten und es findet sich reichlich blutiges Sekret. Im Verlauf des Proöstrus wird die Schleimhaut blasser, die Sekundärfaltung nimmt zu und der Ausfluss wird fleischwasserähnlich. Im Östrus ist die Schleimhaut blass, ihre Sekundärfaltung maximal, es entsteht die sogenannte Blockmalzbildung bei nur noch geringem Ausfluss. Die Farbe der Vaginalschleimhaut im Metöstrus ist blassrosa, die Schleimhaut ist flach und nur in Längsfalten gelegt. Der Ausfluss ist zäh-klebrig und gelblich. Im Anöstrus ist die Schleimhaut rosa, eventuell spiegelnd und zeigt leichte Längsfalten (Arnold, 2001).

Fehler in der Interpretation des vaginoskopischen Befundes durch Ovarialtumore oder Ovarialzysten, persistierende Follikel, eitrig oder blande Endometritiden, Hämometren oder Vaginitiden sind möglich. Die Vaginoskopie erlaubt im allgemeinen eine Bestimmung des Zyklusstandes, aber keine Ovulationsterminbestimmung (Arnold, 2001).

2.4.8. VAGINALZYTOLOGIE

Die Bestimmung des Zyklusstandes der Hündin durch das Zellbild im Vaginalausstrich ist oft beschrieben (Mialot 1983; Linde, Karlsson 1984; Farstadt 1984; Taradach 1980, Marchevsky et al. 1979, Dore 1978, Kubicek 1978a, de Micheluzzi, Ostrowski 1976, Dreier 1975, Bell et al. 1973, Christie und Bell 1973, Laznicka 1994, Prabhakar et al. 1992, Romagnoli 1992, Laiblin 1991, Guyant 1988, Wright 1990, Thrall, Olson 1989, Tekin et al. 1986, Dumon, Morel 1989, Wickham, 1978).

Die Vaginalzytologie kann sich auch als eine nützliche Hilfe für den praktizierenden Tierarzt erweisen, der die Zyklusstadien differenzieren will (Christie, Bell 1973, Laiblin 1991). Die Bedeutung des Ausstriches liegt hauptsächlich in der Zyklusdiagnostik, aber auch in der Evaluation von pathologischen Befunden, von der Vaginitis und Metritis bis zur Diagnostik von Vaginaltumoren oder metastasierenden Mammasarkomzellen (Kubicek 1978, Roszel 1974, Ledesma-Martinez 1992, Guyant 1988, Wey 1998). Zur Bestimmung des optimalen Deckzeitpunktes allein ist die Zytodiagnostik nicht ausreichend, da das Zellbild über mehrere Tage konstant ist und deshalb keinen Schluss auf den Ovulationstermin zulässt.

2.4.8.1. Entnahme der zytologischen Proben

Zur Probengewinnung wird die Vulva mit einem trockenen Zellstofftuch gereinigt. Anschließend wird ein sterilisiertes Röhrenspekulum zwischen die gespreizten Schamlippen gebracht und anfangs in craniodorsaler Richtung mehrere Zentimeter, je nach Rasse und individueller Größe der Hündin, ins dorsale Scheidengewölbe eingeführt (Wright und Parry 1989, Günzel-Apel 1993, Wrobel et al. 1975).

Der Winkel sollte zunächst etwa 45° nach dorsal betragen, um das Gebiet der Fossa clitoridis, wo fast ausschließlich keratinisierte Zellen gewonnen werden, auszusparen (Wright, Parry 1989). Tiefer im Scheidengewölbe wird das Spekulum fast horizontal gehalten (Wright und Parry 1989). Durch das Spekulum hindurch (Günzel-Apel, 1993) wird ein steriler mit isotonischer Kochsalzlösung angefeuchteter Tupfer unter leichtem Druck nach dorsal zwischen den Fingern gerollt (Thrall und Olson 1989, Olson et al. 1984), wobei Zellen der Vaginalschleimhaut vom Tupfer aufgenommen werden. Als Hilfsmittel für die Entnahme der obersten Zellschichten der Vagina eignen sich auch kleine Spatel, Ösen, Glasstäbchen

(Olson et al. 1984) oder über Nacht in isotonischer Kochsalzlösung aufgequollene Lolli-Stäbe (Christie und Bell 1973, Osbaldiston et al. 1972, Wickham, 1978).

Auch der Einsatz von Pipetten, die, mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllt, zur Spülung der Scheide und anschließender Aspiration der Spülflüssigkeit benutzt werden, um abgestoßene Schleimhautzellen zu gewinnen, ist beschrieben worden (Olson et al. 1988). Die Spülflüssigkeit wird danach auf einem Objektträger an der Luft getrocknet. Obwohl diese Methode eigentlich die schonendste Entnahmetechnik sein sollte, verändert sich manchmal dennoch die Zellmorphologie, und es werden geringere absolute Zellzahlen gemessen (Guyant 1988, Olson et al. 1984).

Der Einsatz eines Spreizspekulums oder eines Röhrenvaginostops vermeidet nach Dreier (1975) den Kontakt des Entnahmemediums mit eventuell kontaminierten Bereichen des Vorhofes, die vorwiegend keratinisierte Zellen absondern und auch Erreger enthalten.

Präparate von Objektträgern, die, wie bei Post (1985) beschrieben, zwischen den Schamlippen als Abklatschpräparate abgenommen werden, enthalten – wie oben erwähnt – vorwiegend keratinisierte Zellen und repräsentieren die hormonabhängigen Zyklusphasen nicht korrekt (Buckrell et al. 1985, Wright, Parry 1989). Ebenso sollte die Entnahme von Zellen aus dem Vestibulum der Vagina vermieden werden (Roszel 1974). Der gesamte Untersuchungsgang ist auch bei Tammer et al. (1994), Allen und Dagnall (1982) Stockner et al. (1979) und anderen beschrieben worden.

2.4.8.2. Färbemethoden

Es gibt zwei Hauptgruppen von Färbemethoden, die sich in der Färbbarkeit von Keratin und seinen Vorstufen unterscheiden. Diejenigen älteren Färbemethoden, die Keratinvorstufen markieren, sind Abwandlungen der Trichrom-Färbung nach Schorr oder der Färbung nach Papanicolaou. Diese Färbung ist heute Allgemeingut in Human- und Veterinärgynäkologie (Papanicolaou 1942). Der Ausstrich wird nach der Fixierung über 20 Minuten in einem Äther-Ethanol-Gemisch durch die absteigende Alkoholreihe geführt. Die erste Färbung ist eine Kernfärbung mit Hämatoxylinlösung. Nach Wasch- und Bläuungsschritten wird der Aus-

strich durch die aufsteigende Alkoholreihe geführt, danach in Orange G und anschließend in Polychromlösung gefärbt, woran sich noch mehrere Alkoholfixierungen anschließen. Andere Autoren haben diese Methode durch Reduktion der einzelnen Schritte und damit des Zeitaufwandes weiter vereinfacht (Kubicek 1978a, Barrett 1976, Dumon, Morel 1989).

Keratinvorstufen befinden sich vorzugsweise in Zellausstrichen des Östrus und färben sich orangerot. Methoden, die solche Differentialfärbungen erlauben, sind zeitaufwendiger und erfordern nach Wright und Parry (1989) mehr Vorsicht bei der Fixierung der Zellen im Vergleich zu anderen Techniken.

Sich allein auf die Zellfärbung zu verlassen, kann zu Irrtümern führen, wenn der Ausstrich sich nicht korrekt färben lässt: Falls der Ausstrich nicht im feuchten Zustand fixiert wurde, sind beispielsweise alle Zellen rot gefärbt (Wright und Parry 1989). Kubicek (1978a) beschreibt eine vereinfachte Hämatoxyllin-Schorr-Färbung, die nur 15 Minuten dauert und in Farbintensität und Klarheit des Bildes nur unwesentlich schlechtere Ergebnisse liefert.

Bei monochromen Färbemethoden werden die Zellen allein nach morphologischen Kriterien klassifiziert. Zu dieser Gruppe gehören Färbungen nach Wright, Giemsa, May-Grünwald, die Methylenblau-Färbung und präparierte Objektträger wie Diff-Quick®, Dade Diagnostics Inc., Aguada, USA oder Testsimplets®, Boehringer-Mannheim sowie die panoptische Färbung nach Pappenheim. Eine Auswertung des Vaginalabstrichs auf handelsüblichen Testsimplets® wurde von Günzel-Apel und Koivisto (1984) beschrieben.

2.4.8.3. Klassifikation der Vaginalzellen im zytologischen Ausstrich

Es gilt als allgemein anerkannt, dass das Verhältnis der Zellen im Vaginalabstrich untereinander in Relation zum Zyklusstand der Hündin steht (Bell et al. 1973). Die Vaginalzytologie ist nach Christie und Bell (1973) eine wertvolle Ergänzung der klinischen Diagnostik zur Bestimmung der Zyklusstadien (Ehlers, 2000) und kann insbesondere im Verhältnis des Keratinisierungsgrades eine genaue Bestimmung des Zyklusstandes ermöglichen (Schutte 1967, Farstadt 1984). Wie auch bei der Einteilung der Zyklusstadien ist die Nomenklatur bei der Bestimmung der vorliegenden Zellbilder nicht einheitlich (Ehlers, 2000). Im deutschen,

spanischen, lateinamerikanischen und türkischen Schrifttum werden Basalzellen von Parabasalzellen im Ausstrich differenziert (siehe Abbildung 2).

In der deutschsprachigen Literatur werden danach fünf Zelltypen unterschieden:

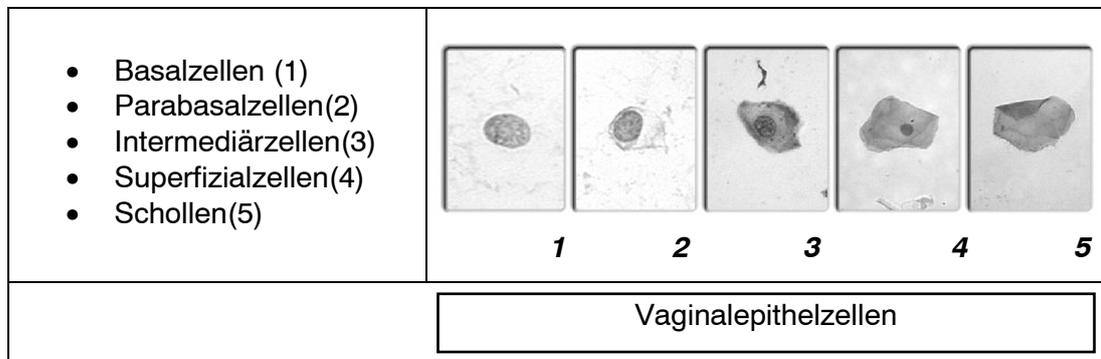


Abbildung 2: Einteilung der Zyklusstadien nach deutscher Literatur (modifiziert und ergänzt nach Theise 2002).

Die in Balken gefassten Bezeichnungen in der nun folgenden Abbildung 3, geben die Nomenklatur im englischen und französischen Sprachraum an:

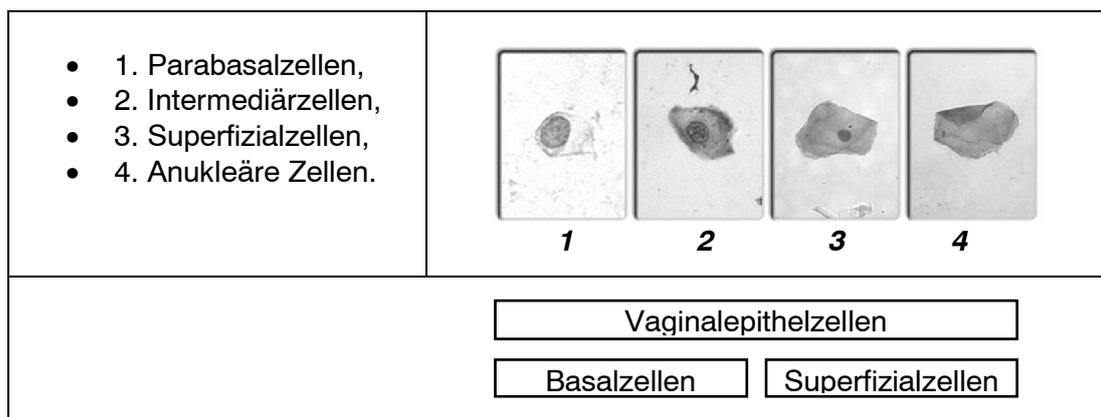


Abbildung 3: Einteilung der Zyklusstadien nach französischer/ britischer Literatur (modifiziert nach Theise 2002).

Die Schule um Bell, Christie (1973) sowie Berdah (1993) unterscheiden vier Zelltypen (vgl. Abbildung 3):

- Parabasalzellen (Parabasales) } Basalzellen
- Intermediärzellen (Intermédiaire), } Basalzellen
- Superfizialzellen (A noyau picnotique) und } Superfizialzellen
- Anukleäre Zellen (Anuclée).

Diese Klassifizierung baut auf einer Einteilung aus der Humanmedizin nach Wachtel (1969) auf und fügt dieser die Gruppe der Anukleären=Kernlosen

(=Schollen) hinzu. In einer Gegenüberstellung von Taradach (1980) zu dieser Klassifizierung nach Wachtel (1969) gibt er auch parallel die Einteilung nach Schutte an: Alle keratinisierten Zellen der obersten Schichten der Vaginalmukosa werden Superfizialzellen genannt, kernlos oder mit pyknotischen Kernen; die Intermediärzellen werden in große und kleine eingeteilt.

Olson et al. (1984), Wright, Parry (1989), Wright (1990) teilen in fünf Zelltypen ein:

- Basalzellen,
- Parabasalzellen,
- Intermediärzellen,
- Superfizial-Intermediär-Zellen und
- Superfizialzellen.

Dore (1978a und b) folgt einer Einteilung nach Roszel (1974) in:

- kernlose Zellen,
- Superfizialzellen,
- Intermediärzellen, die er zusätzlich in große und kleine Intermediärzellen aufteilt,
- Parabasalzellen inklusive Metöstrus- und Schaumzellen,
- Würfel- und Säulenzellen – dies sind kleine längliche oder spitzwinkelige Zellen mit randständigen Kernen sowie
- zytolytische Zellen.

Laznicka (1994) erwähnt zwar die Existenz der Basalzellen, benutzt zur Differenzierung der Zyklusstadien aber lediglich

- Parabasalzellen
- Intermediärzellen und
- Superfizialzellen, die er in kernhaltige und kernlose einteilt.

Die neutrophilen Granulozyten werden im Vaginalausstrich oft nur allgemein Leukozyten genannt. Die Basalzellen sind die kleinsten Zellen im Ausstrichbild. Sie werden fast ausschließlich vom Zellkern ausgefüllt. Im angloamerikanischen Sprachraum werden Basalzellen nur in Ausnahmefällen im Ausstrich benannt (Wright, Parry 1989, Olson et al. 1984).

Die Parabasalzellen haben das höchste Verhältnis von Kern zu Plasma aller abgeschilferten Zellen. Es sind kleine, ovale Zellen mit randständigen Nuklei. Gelegentlich enthalten Parabasalzellen Zytoplasma-Vakuolen, sie werden dann Schaumzellen genannt. Parabasalzellen mit eingeschlossenen neutrophilen Gra-

nulozyten im Zytoplasma heißen Metöstrus-Zellen, obwohl sie auch in anderen Zyklusstadien auftreten können (Wright und Parry 1989). Die nächsthöhere Zellschicht des Vaginalepithels wird von den Intermediärzellen gebildet. Sie haben polygonale Umrisse und sind nicht keratinisiert (Dore 1978, 1978a und b).

Die nächste Schicht wird von Superfizialzellen gebildet. Diese sind die größten Zellen im Ausstrich. Sie haben ebenfalls polygonale Form. Die Zellgrenzen sind eckig, die Zellränder teilweise durch den Turgorverlust umgefaltet. Ihre Nuklei werden pyknotisch oder befinden sich in Lysis, weshalb sie oft dem letzten Zelltyp in der Entwicklungs- und Reifungsreihe der Vaginalmukosazellen, den Anukleären, zugerechnet werden. Ihre Keratinisierung nimmt mit der Alterung zu (Dore 1978a), sie werden auch Superfizial-Intermediär-Zellen genannt.

Die Bezeichnung der Zellen der obersten Zellschicht erfolgt mit den Synonyma

- Schollen,
- kernlose Superfizialzellen oder
- Anukleäre (Dore 1978b).

In jedem Fall handelt es sich um rein azidophile, keratinisierte und degenerierte Zellen.

2.5. MIKROBIELLE VAGINALFLORA DER HÜNDIN

2.5.1. PHYSIOLOGISCHE KEIMBESIEDLUNG

2.5.1.1. Aerobe Flora

Die Mehrzahl der Untersuchungen zur Vaginalkeimflora der Hündin beschäftigt sich mit der aeroben Flora. Van Duijkeren (1992) hat die folgenden Erreger angegeben:

Aerobe und fakultativ anaerobe Keime:

- Streptokokken spp.,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Staphylococcus epidermidis*,
- *Escherichia coli*,
- *Proteus* spp.,
- *Enterobacter* spp.,
- *Klebsiella*,
- *Pasteurella* spp.,
- *Haemophilus* spp.,
- *Moraxella*,
- *Flavobakterium*,
- *Pseudomonas* spp.,
- *Corynebakterium*,
- *Bacillus* spp.,
- *Neisseria*
- *Ureaplasmataceae*.

Eine spezifische Pathogenität dieser Keime konnte nach van Duijkeren (1992) in keinem Fall nachgewiesen werden. Allein *Brucella canis* wird für das Auftreten von Infertilität und Welpensterben verantwortlich gemacht (van Duijkeren 1992, Samaille 1992).

Nach Böhm et al. (1995) lassen sich Pasteurellen, β -hämolyisierende Streptokokken und *Pseudomonas aeruginosa* häufiger bei gesunden Hündinnen als bei erkrankten nachweisen und sind daher als Teil der physiologischen Keimflora zu bewerten. Die in der Vergangenheit als Verursacher des Welpensterbens inkriminierten β -hämolyisierenden Streptokokken scheinen Teil der physiologischen Keimflora der Vagina zu sein (van Duijkeren 1992, Samaille 1992, Bjurström, 1993). Hingegen hat Spira (1993) β -hämolyisierende Streptokokken der Lancefield-Gruppen G und F für das Phänomen des Welpensterbens in Zusammenhang mit einem verkürzten oder verlängerten Zyklus der Hündin, respektive vorangegangener Infertilität verantwortlich gemacht. Bei allen anderen Keimen ist nicht so sehr die Präsenz, wie die absolute Keimzahl ein Kriterium für die Pathogenität (Rouhol-Amine und Kayhani 1985, van Duijkeren 1992, Hirsh und Wiger 1977, Osbaldiston et al.1978, Moreno et al.1973). Erst moderates bis kräftiges Wachstum einer Bakterienart wird als signifikant erachtet (Bjurström 1993).

Die Proben sollten jedoch vorzugsweise aus der kranialen Scheide genommen werden, da die Anzahl positiver Keimproben nach van Duijkeren (1992) und auch bei Olson und Mather (1978) in der kranialen Scheide immer geringer ausfällt als im Scheidenvorhof. Nach van Duijkeren (1992) wurde ein Prozentsatz positiver

Kulturen zwischen 91 und 100 Prozent in der kaudalen Vagina gefunden, aber nur zwischen 63 und 97 Prozent positive Proben in der kranialen Vagina.

2.5.1.2. Anaerobe Flora

Anaerobe Keime der Vagina sind *Bacteroides* spp. und *Peptostreptococcus* spp. sowie Corynebakterien, Lactobazillen und fakultativ anaerobe Mykoplasmen (Baba et al. 1983, van Duijkeren 1992, Bruchim et al. 1978).

Einer Literaturlauswertung von Kowitz (1998) ist zu entnehmen, dass die außerhalb der Routineuntersuchung auf aerobe Keime gefundenen Mykoplasmen sowohl im Genitalsekret gesunder, wie gynäkologisch auffälliger Hündinnen auftreten und wohl eher der physiologischen Keimflora der Scheide der Hündin zuzurechnen sind.

Direkte Zusammenhänge zwischen dem Keimgehalt an Anaerobiern und der Keimzahl einerseits sowie pathologischen Auffälligkeiten im Genitalapparat der Hündin andererseits konnten nicht ermittelt werden (Osbaldiston et al. 1972, van Duijkeren 1992).

Mit anderen Worten: Ein Keimnachweis anaerob wachsender Bakterien im weiblichen Genitalapparat beweist nicht zwingend, dass eine Genitalerkrankung vorliegt. Es bleibt natürlich die allgemeine Erfahrung, dass der Zusammenbruch lokaler Immunität erst hohe Keimzahlen ermöglicht und eine klinische Erkrankung wahrscheinlich macht (Spitz 1997).

2.5.1.3. Mykologische Flora

Die mykologische Untersuchung der Scheidenflora erbrachte bei Spitz (1997) und Siesenop et al. (1996) keine Ergebnisse. Nur bei zwei von 132 Tupferproben bei Beagle-Hündinnen vor und im Verlauf des ersten Sexualzyklus gelang Böhm et al. (1993) in geringem Maße der Nachweis von Schimmelpilzen und Hefen der Gattung *Malassezia*. *Penicillium* sp. und ebenfalls *Malassezia pachydermatis* wurden auch von de Oliveira (1991) nachgewiesen.

2.5.2. ZYKLUSABHÄNGIGKEIT DES PHYSIOLOGISCHEN KEIMGEHALTES

Nach Baba et al. (1983) ist die absolute Keimzahl im Östrus und Proöstrus (diese Zyklusphasen wurden nicht unterschieden) signifikant höher als in anderen Zyklusstadien. Ähnlich wie bei Ratten mag es sein, dass auch bei der Hündin hohe Bakterienzahlen im Östrus mit erhöhter Zahl von verhornten Epithelzellen der Vagina korrelieren. Baba et al. (1983) sowie Dore (1978) konnten jedoch keine statistisch relevanten Unterschiede in der Anzahl der identifizierten Bakterienarten während der verschiedenen Zyklusphasen beobachten. Hingegen gibt es bei anderen Autoren (Szemerédi, 1989; Siesenop, 1996) Ergebnisse, die nachweisen, dass die verschiedenen Zyklusphasen in auffälliger Weise unterschiedliche Keimbesiedlungen der Vagina nach sich ziehen. So finden sich bei Szemerédi (1989) folgende Angaben:

Tabelle 1: Keimhäufigkeit in Prozent während var. Zyklusphasen (Szemerédi 1989).

	Östrus	Diöstrus	Anöstrus
<i>E. coli</i>	-	8,7	10,5
Staphylokokken	15,5	13	22,3
Streptokokken	20,7	17,3	26,6
Pasteurellen	12,1	10,5	10,5
Keine Keime	34,5	45,8	30,5

Nach Szemerédi (1989) ist es folglich typisch für den mikrobiologischen vaginalen Befund im Östrus, dass keine *E. coli* nachweisbar sind. Ferner sind über alle von ihm beobachteten Zyklusphasen bei etwa 30 bis 45 Prozent der untersuchten Tiere keine vaginalen Keimbesiedlungen zu beobachten. Dies steht in deutlichem Widerspruch zu den Ergebnissen von Allen, Dagnall (1982). Sie beschreiben die Keimverteilung von 74 gesunden Hündinnen im Östrus folgendermaßen (mit Doppelnennungen):

Tabelle 2: Häufigkeit von Bakterienspezies im Östrus in Prozent (nach Allen und Dagnall 1982).

	Östrus n = 74		Östrus n = 74
<i>Past. Multocida.</i>	26	<i>E. Coli</i>	47
<i>Streptokokken, α-hämolyt.</i>	20	<i>Staph. aur.</i>	19
<i>Proteus spp.</i>	20	<i>Diphtheroide</i>	12
keine Keime	14	<i>Streptokokken, β-hämolyt.</i>	23

Hiernach sind nur bei 14 Prozent der 74 Hündinnen, also bei zehn Tieren, keine Keimnachweise gelungen, während bei 47 Prozent der Hündinnen, also 35 Tieren im Östrus *E.coli* nachgewiesen wurden. Siesenop et al. (1996) haben 22 Beagle-Hündinnen vom fünften Lebensmonat bis zum Ende des ersten Sexualzyklus untersucht. Sie fanden in den verschiedenen Zyklusstadien folgende Keime (in Prozent):

Tabelle 3: Keimhäufigkeit in verschiedenen Phasen des ersten Sexualzyklus (nach Siesenop 1996).

Bakterien	juvenile Phase	Proöstrus	Östrus	früher Metöstrus	später Metöstrus	Anöstrus
β-hämolytische Streptokokken, Gr. G	12	9	4	6	3	6
Streptokokken, α-hämolytisch	4	4	7	4	3	4
anhämolytische Streptokokken	8	3	4	4	1	-
<i>Staphylococcus intermedius</i>	8	5	2	1	2	9
Koagulase-negative Staphylokokken	-	1	-	1	-	1
<i>Mikrococcus sp.</i>	-	1	-	-	-	2
coryneforme Bakterien	-	5	2	2	2	1
Bacillus subtilis Gruppe	1	4	7	3	5	2
<i>E. coli</i>	4	4	4	9	2	1
hämolytische <i>E. coli</i>	-	1	1	1	-	1
<i>Klebsiella sp.</i>	1	2	2	-	-	-
<i>Proteus sp.</i>	1	-	1	1	-	-
<i>Erwinia sp.</i>	-	-	1	-	1	1
<i>Providencia sp.</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Pasteurella sp.</i>	-	3	3	1	2	3
<i>Pseudomonas sp.</i>	-	3	3	1	2	3
<i>Acinetobacter sp.</i>	-	1	-	-	2	1
Flavobakterien	-	-	-	1	-	-
Kein bakterielles Wachstum	3	1	2	1	8	6

Insgesamt wies die qualitative Zusammensetzung der juvenilen Scheidenflora erhebliche individuelle und zyklusabhängige Unterschiede auf. So war es hier nicht möglich, eine spezifische Zusammensetzung der juvenilen Vaginalflora nachzuweisen (Siesenop 1996).

2.5.3. KEIMFLORA BEI PATHOLOGISCHEN BEFUNDEN: MÖGLICHE URSACHEN

2.5.3.1. Die Erregertheorie für die Entstehung von Genitalerkrankungen

Nach van Duijkeren (1992) gibt es eine unter Züchtern und Tierärzten weit verbreitete Meinung, dass krankhafte Veränderungen, wie Unfruchtbarkeit, Welpensterben und Vaginitiden durch spezifische Krankheitserreger verursacht werden. Leider sind solche linearen Ursache-Wirkungs-Beziehungen hier nicht abzuleiten, zumal das Zustandekommen der betrachteten gynäkologischen Erkrankungen multifaktoriell bedingt ist.

Diejenigen Bakterien-Spezies, die von Hündinnen mit Reproduktionsstörungen isoliert wurden, unterscheiden sich nicht signifikant von der Flora gesunder Hündinnen (Hirsh, Wiger 1977). Allein *Brucella canis* ist nach van Duijkeren (1992) ein spezifischer Unfruchtbarkeits-Auslöser. Im Gegensatz dazu konnte auch Zahr (2001) ebenso wie Bjurström (1993) keinen direkten Zusammenhang zwischen einem bakteriellen Erreger und symptomloser Unfruchtbarkeit herstellen.

Van Duijkeren (1992) berichtet, dass bei erkrankten Hündinnen eine höhere Keimdichte gefunden wurde, und dass ein oder zwei Keimarten über die anderen dominieren. Nach Siesenop et al. (1996) gibt es in der Scheide von juvenilen Hündinnen bereits eine hochgradige Besiedlung mit fakultativ pathogenen Keimen, ohne dass sich eine klinische Erkrankung manifestiert, so dass wohl nicht einmal eine hohe Bakteriendichte im Vaginaltrakt für das Auftreten einer Genitalerkrankung allein verantwortlich ist, sondern noch andere pathogene Einflüsse durch schlechte Haltungsbedingungen und Ernährungszustand hinzutreten (Kowitz 1998). Wendt und Stellmacher (1996) haben zur Klärung der Frage, wann

ein oder mehrere Erreger als pathogen anzusprechen sind, sechs Kriterien aufgestellt:

1. Mit dem Erregernachweis liegt zugleich eine klinische Erkrankung vor.
2. Ein Erreger ist im Vorbericht für das Einzeltier oder für den Bestand nachgewiesen und eine klinische Erscheinung ist aktuell oder wird dies werden.
3. Es werden Erreger nachgewiesen, die nach ihren Pathogenitätskriterien als permanent pathogen anzusprechen sind.
4. Es werden wiederholt die gleichen Erreger nachgewiesen, womöglich in Reinkultur.
5. Es werden aus der breiten Praxiserfahrung pathogene Bakterien ermittelt (z.B. *S.aureus*, *E.coli*, Streptokokken der Gruppe D, G, Pseudomonaden).
6. Es werden Erreger aus einem nachgewiesenen infektiösen Umfeld des Tieres (z.B. Vaginitis) in anderen Organen des gleichen Tieres oder eines Bestandsvertreters (z.B. Gesäuge) noch klinisch latent nachgewiesen.

2.5.3.2. Die Hormontheorie für die Entstehung bakterieller Genitalbesiedlung

Sandholm et al. (1975) haben unter dem Progesteroneinfluss im Metöstrus eine verstärkte Adhärenz von *E. coli*-Antigenen an die Uterusschleimhaut festgestellt. Dies steht im Einklang mit dem vermehrten Auftreten von *E. coli* im frühen Metöstrus (Siesenop et al. 1996). Andere Erklärungsversuche für die Veränderungen der Vaginalflora unter Hormoneinfluss gehen von der Tatsache aus, dass im Östrus die Anzahl der neutrophilen Granulozyten am geringsten von allen Zyklusphasen ist. Demnach ist die Möglichkeit für Bakterien, sich ungehindert zu vermehren, hier am größten. Hinzu kommt, dass sich die Cervix uteri im Östrus leicht öffnet, während dort sonst nur ein kapillarer Spalt vorhanden ist, und so die Bakterieneinwanderung stark begünstigt wird. Diese Erklärung gilt vor allem für die Entstehung der Pyometra während des Metöstrus.

2.5.3.3. Andere pathogene Faktoren

Die bei der gesunden Hündin im Vaginalsekret enthaltenen Bakterien, also die sogenannte physiologische Keimflora, sind unter Umständen imstande, Genitalerkrankungen zu verursachen. Dies gilt vorwiegend für Momente herabgesetzter lokaler Immunität. Nach Kowitz (1998) sollen auch andere Ursachen wie hormonelle Störungen, metabolische Erkrankungen, Traumata und Neoplasien ursächlich beteiligt sein. Auch Anomalien des Reproduktionstraktes können prädisponierend für Infektionen und Entzündungen wirken. Kommt es infolgedessen zu Stauungen von Harn oder Vaginalsekret oder sind Vorschädigungen durch mechanische Irritationen oder Ulzerationen vorhanden, wird der Weg für eine sekundäre bakterielle Besiedlung bereitet (Kowitz 1998).