

Aus der Medizinischen Kleintierklinik
Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haustiere und Heimtiere
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Katrin Hartmann

Angefertigt unter der wissenschaftlichen Leitung von
Prof. Dr. Katrin Hartmann

**Untersuchung der Konzentrationen von Pradofloxacin und Doxycyclin in
Serum, Tränen- und Speichelflüssigkeit bei Katzen und Prüfung der
Wirksamkeit von Pradofloxacin im Vergleich zu Doxycyclin bei
Katzenschnupfen und Infektionen mit *Chlamydomydia felis* und Mykoplasmen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Anja Daniela Hartmann
aus Heidelberg

München 2008

Gedruckt mit der Genehmigung der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referentin: Univ.-Prof. Dr. Hartmann

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Potschka

Tag der Promotion: 08.Februar 2008

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	1
II.	Literaturübersicht	2
1.	<i>Chlamydomphila felis</i>	2
1.1.	Taxonomie.....	2
1.2.	Ätiologie.....	6
1.2.1	Morphologie und Eigenschaften	6
1.2.2	Entwicklungszyklus	9
1.3.	Entdeckung.....	10
1.4.	Epidemiologie	10
1.4.1	Antikörperprävalenz.....	11
1.4.2	Erregerprävalenz	11
1.5.	Pathogenese.....	11
1.6.	Immunreaktion der Katze.....	19
1.6.1	Humorale Immunreaktion	19
1.6.2	Zelluläre Immunreaktion.....	19
1.7.	Klinische Symptome	20
1.7.1	Symptome bei der Katze	21
1.7.1.1	Allgemeine Symptome.....	21
1.7.1.2	Konjunktivitis.....	21
1.7.1.3	Symptome am Respirationstrakt	23
1.7.1.4	Symptome am Genitaltrakt	23
1.7.1.5	Weitere Manifestationen	25
1.7.1.6	Labordiagnostische Befunde.....	26
1.7.2	Symptome beim Menschen.....	27
1.8.	Diagnose.....	30
1.8.1	Indirekte Nachweisverfahren	30
1.8.1.1	Enzyme-linked immunosorbent assay.....	30
1.8.1.2	Western Blot	31
1.8.1.3	Komplementbindungsreaktion	31
1.8.1.4	Indirekter Immunfluoreszenztest	31
1.8.2	Direkte Nachweisverfahren.....	32
1.8.2.1	Direktausstriche	32

1.8.2.2	Immunfluoreszenztest von Dirktausstrichen.....	33
1.8.2.3	Enzyme-linked immunosorbent assay.....	33
1.8.2.4	Erregeranzüchtung	34
1.8.2.5	Polymerasekettenreaktion	34
1.9.	Therapie.....	37
1.9.1	Tetracycline.....	37
1.9.1.1	Wirksamkeit	37
1.9.1.1.1	Tetracyclin	37
1.9.1.1.2	Oxytetracyclin	38
1.9.1.1.3	Doxycyclin	39
1.9.1.2	Nebenwirkungen der Tetracycline	42
1.9.1.2.1	Gastrointestinale Nebenwirkungen	42
1.9.1.2.2	Zahnverfärbungen	42
1.9.1.2.3	Ulzera und Strikturen im Ösophagus	43
1.9.1.2.4	Hepatotoxizität	46
1.9.1.2.5	Phototoxizität	46
1.9.2	Fluorochinolone	47
1.9.2.1	Wirksamkeit	47
1.9.2.1.1	Enrofloxacin	47
1.9.2.1.2	Ciprofloxacin	47
1.9.2.2	Nebenwirkungen der Fluorochinolone.....	48
1.9.2.2.1	Retinadegeneration.....	48
1.9.2.2.2	Arthropathie	50
1.9.2.2.3	Zentralnervöse Symptome	50
1.9.3	Beta-Laktam-Antibiotika	51
1.9.3.1	Amoxicillin/Clavulansäure	51
1.9.3.2	Penicillin	52
1.9.4	Makrolid-Antibiotika	52
1.9.4.1	Azithromycin	52
1.9.4.2	Erythromycin	53
1.9.4.3	Tylosin	54
1.9.5	Rifampicin.....	54
1.9.6	Sulfonamide/Trimethoprim.....	55
1.9.7	Chloramphenicol.....	55
2.	Mykoplasmen der Katze	57

2.1.	Taxonomie.....	57
2.2.	Ätiologie.....	59
2.2.1	Morphologie und Eigenschaften	59
2.2.2	Replikation	62
2.3.	Entdeckung.....	62
2.4.	Epidemiologie	63
2.4.1	Antikörperprävalenz.....	63
2.4.2	Erregerprävalenz	63
2.5.	Pathogenese.....	64
2.6.	Klinische Symptome	64
2.6.1	Symptome bei der Katze	64
2.6.1.1	Signalement.....	64
2.6.1.2	Augen	74
2.6.1.3	Respirationstrakt	75
2.6.1.4	Gelenke	76
2.6.1.5	Weitere Manifestationen	77
2.6.2	Symptome bei anderen Feliden.....	78
2.6.2.1	Respirationstrakt	78
2.6.2.2	Zentrales Nervensystem.....	78
2.6.3	Symptome beim Pferd.....	79
2.6.3.1	Respirationstrakt	79
2.6.3.2	Genitaltrakt.....	80
2.6.4	Symptome beim Menschen.....	80
2.7.	Diagnose.....	80
2.7.1	Indirekte Nachweisverfahren	80
2.7.1.1	Metabolischer Hemmtest	81
2.7.1.2	Immundiffusion.....	81
2.7.1.3	Direkte Hämagglutinationshemmung	82
2.7.1.4	Indirekter Hämagglutinationstest.....	82
2.7.1.5	Komplementbindungsreaktion	83
2.7.1.6	Enzyme-linked immunosorbent assay.....	83
2.7.2	Direkte Nachweisverfahren.....	83
2.7.2.1	Elektronenmikroskopie	83
2.7.2.2	Erregeranzüchtung	83
2.7.2.2.1	Kolonienmorphologie	85

2.7.2.2.2	Biochemische Reaktionen.....	85
2.7.2.2.3	Hämolyse	87
2.7.2.3	Hämagglutination.....	87
2.7.2.4	Wachstumshemmung.....	88
2.7.2.5	Immunobinding assay	89
2.7.2.6	Polymerasekettenreaktion	89
2.8.	Therapie.....	90
2.8.1	Fluorochinolone	90
2.8.1.1	Wirksamkeit	91
2.8.1.1.1	Enrofloxacin.....	91
2.8.1.1.2	Ciprofloxacin	91
2.8.1.1.3	Andere Fluorochinolone.....	91
2.8.1.2	Resistenzen.....	92
2.8.2	Makrolid-Antibiotika	92
2.8.2.1	Wirksamkeit	92
2.8.2.1.1	Azithromycin	92
2.8.2.1.2	Erythromycin	92
2.8.2.1.3	Tylosin	93
2.8.2.2	Resistenzen.....	93
2.8.3	Tetracycline.....	93
2.8.3.1	Wirksamkeit	93
2.8.3.1.1	Tetracyclin	94
2.8.3.1.2	Doxycyclin.....	94
2.8.3.1.3	Oxytetracyclin.....	94
2.8.3.2	Resistenzen.....	95
2.8.4	Aminoglykoside	95
2.8.5	Chloramphenicol.....	95
2.8.6	Pleuromutiline.....	95
III.	Kapitel I: Pharmacokinetics of pradofloxacin and doxycycline in serum, saliva, and tear fluid of cats after oral application.....	97
IV.	Kapitel II: Isolation of bacterial and viral organisms of the conjunctiva in cats with conjunctivitis	119
V.	Kapitel III: Efficacy of pradofloxacin in cats with feline upper respiratory tract disease due to <i>Chlamydomphila felis</i> and <i>Mycoplasma</i> infections	139
VI.	Diskussion	167

1.	Erreger des Katzenschnupfenkomplexes	167
2.	Wirksamkeit der Medikamente	170
3.	Vergleich PCR und IFT	177
4.	Nebenwirkungen der Medikamente	178
5.	Schlussfolgerungen	179
VII.	Zusammenfassung.....	180
VIII.	Summary.....	182
IX.	Literaturverzeichnis.....	184
X.	Lebenslauf.....	241
XI.	Danksagung	242
XII.	Anhang	244

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
<	kleiner
≤	kleiner gleich
=	ist gleich
+	vorhanden, positive PCR result
+ bis +++++	langsames bis schnelles Wachstum
-	nicht vorhanden, parameter could not be calculated, negative PCR result or culture, Test nicht angewendet
±	plus/minus
Ø	Durchmesser
°C	Grad Celsius
ΔCt	delta threshold cycle value
α ₁ -AG	α ₁ -Säureglykoprotein
α-Hämolyse	unvollständige Hämolyse
β-Hämolyse	vollständige Hämolyse
χ ²	chi square
μg/mL	Mikrogramm pro Milliliter
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μM	Mikromol
♂	männlich
♀	weiblich
A	akute Infektion
ABC	ATP-binding cassette
AK	Antikörper
ALT	Alanine-Amino-Transferase, serum alanine transferase
Anz.	Anzahl
ATP	Adenosinetriphosphat
AUC	area under the concentration time curve
AUC ₀₋₂₄	area under the concentration time curve over 24 hours
BAL	bronchoalveoläre Lavage

BCRP	breast cancer resistance protein
BGM-Zellen	Buffelo-Green-Monkey-Zellen
BHQ	black hole quencher
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	chronische Infektion
<i>C. felis</i>	<i>Chlamydomphila felis</i>
Caco-2 cells	human intestinal epithelial cells
CBC	complete blood count
CG	Cytosin-Guanosin
Cf	positive for <i>Chlamydomphila felis</i>
CF	correction factor
CK	<i>C.-felis</i> -Konjunktivitis
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Zentimeter
C _{max}	maximal serum concentration
CNA agar	Colistin/Nalidixic acid agar
CNS	central nervous system
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRS	chronische Rhinosinusitis
Ct	threshold cycle values
CY-5	Cyanine
DABCYL	4-(4'-dimethylaminophenylazo)-Benzoessäure
DNA	Desoxiribonukleinsäure, desoxyribonucleic acid
dNTP	desoxyribonucleotide triphosphate
DOX	doxycycline
e. g.	for example
EK	Elementarkörperchen
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	et alti
FAM	Carboxyfluorescein
FCV	felines Calicivirus, feline calicivirus, positive for feline calicivirus

FDA-CDA	United States Food and Drug Administration, Center for Veterinary Medicine
FEPN	feline Pneumonitis
FHV	felines Herpesvirus, feline herpesvirus, positive for feline herpesvirus
Fig.	figure
FIV	felines Immunschwächevirus
FN	false negative
for	forward
FP	false positive
FP	feline Pneumonitis
FQ	fluorescently quenched
g	gravitational acceleration
GI	gastro-intestinal
g/l	Gramm pro Liter
GPIC	guinea pig inclusion conjunctivitis
h	Stunde(n), hour(s)
HAH	direkte Hämagglutinationshemmung
HCl	Salzsäure
HEF-Zellen	humane Embryo-Fibroblasten-Zellen
HEX	hexachloro-fluorescein
HIV	humanes Immunschwächevirus
hOAT	human organic anion transporter
hyclat	Hemiethanolat-hemihydrat
ID	Gel-Immunodiffusion
IFT	Immunfluoreszenztest, immunofluorescent assay
Ig	Immunglobulin
IGS	intergenic spacer
IHA	indirekte Hämagglutination
IL-6	Interleukin-6
i. s.	inadequate sample
IU/L	internationale Einheiten pro Liter, international units per liter
K	Konjunktiva

k. A.	keine Angaben
kb	Kilobasen
KBR	Komplementbindungsreaktion
kDa	Kilo-Dalton
KDO	3-Deoxy-D-manno-octosonin-Säure
kg	Kilogramm
l	Liter
L-Zellen	Leydig-Zellen
LPS	Lipopolysaccharid(e)
M	positive for <i>Mycoplasma</i> spp.
<i>M.</i>	<i>Mycoplasma</i>
<i>M. arginini</i>	<i>Mycoplasma arginini</i>
<i>M. felis</i>	<i>Mycoplasma felis</i>
<i>M. gateae</i>	<i>Mycoplasma gateae</i>
m	Meter
MDR	multidrug resistance protein
MfeIR	<i>Mycoplasma felis</i> reverse
mg	Milligramm
MgCl ₂	magnesium chloride
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mg/L	Milligramm pro Liter
MH	Maulhöhle
MHK	minimale Hemmkonzentration
MIC	minimal inhibitory concentration
MIF	Mikroimmunfluoreszenztest
min.	minutes
MIT	metabolischer Hemmtest
ml	Milliliter
mL/L	Milliliter pro Liter
mm	Millimeter
MOMP	major outer membrane protein
mol%	mol-Prozent
MoPn	mouse pneumonitis

MRP	multidrug resistance-associated protein
MRT	mean residence time
Myc	<i>Mycoplasma</i>
n	number
N	number of entities
NA	Nase
No.	number
n. s.	nicht signifikant
n. u.	nicht untersucht
NCBI	National Institutes of Health
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
(NH ₄) ₂ SO ₄	ammonium sulfate
nm	Nanometer
nM	Nanomol
<i>omp</i>	outer membrane protein (Gensequenz)
p oder <i>P</i>	power
p.	page
pCfe1	Plasmid <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 1
PCR	Polymerasekettenreaktion, polymerase chain reaction
PD	pharmacodynamic
P-gp	P-glycoprotein
pH	pondus hydrogenii (Gewicht Wasserstoff)
PK	pharmacokinetic
PM	<i>post mortem</i>
<i>pmp</i>	polymorphic membrane protein (Gensequenz)
PPLO	pleuropneumonia like organism
PRA	pradofloxacin
q12h	every 12 hours
q24h	every 24 hours
RCN	relative copy numbers
rDNA	ribosomale Desoxiribonukleinsäure
RFU	relative fluorescence units
rev	reverse

RM	Rektum
RNA	Ribonukleinsäure, ribonucleic acid
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
rpm	revolutions per minute
RT	Raumtemperatur
SD	standard deviation
SF	Schaffarm
SPF	spezifisch-Pathogen-frei
spp.	Spezies, species
S/S	saliva to serum concentration ratio
Suppl.	Supplement
T	time of dosage intervall
$t_{1/2}$	terminal half-time
TFC-MS/MS	turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry
TF/S	tear fluid to serum concentration ratio
T_{max}	time of maximal serum concentration
TN	true negative
TP	true positive
tRNA	Transport-Ribonukleinsäure
TTC	Tetrazoliumchlorid, 2,3,5,-Triphenyltetrazoliumchlorid
U	units
UG	Urogenitaltrakt
UK	United Kingdom
URTD	upper respiratory tract disease
USA	United States of America
UV	Ultraviolet
Vv.	<i>Venae</i>
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

I. Einleitung

Katzenschnupfen ist eine weit verbreitete Krankheit unter den Katzen. Neben dem feline Herpesvirus (FHV), dem feline Calicivirus und *Chlamydomphila felis* (*C. felis*) sind Mykoplasmen und bakterielle Sekundärerreger beteiligt (GASKELL et al., 2006). Aufgrund ihrer Eigenschaften sind *C. felis* und Mykoplasmen schwer zu behandeln. Das Tetracyclin-Derivat Doxycyclin (DOX) und das Fluorochinolon Enrofloxacin haben sich als wirksam erwiesen und werden zur Therapie empfohlen (GREENE & WATSON, 2006; GERHARDT et al., 2006; GREENE, 2006b). Die Behandlung von Katzen mit beiden Wirkstoffen wird jedoch durch eine Reihe an Nebenwirkungen limitiert. Das neu entwickelte Zyano-Fluorochinolon Pradofloxacin (PRA) zeigt sowohl *in vitro* als auch in Feldstudien eine gute Wirkung gegen gram-positive und gram-negative Erreger (ABRAHAM et al., 2002; DE JONG & BLECKMANN, 2003; DE JONG et al., 2004; STEPHAN et al., 2004; STEPHAN et al., 2005).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die Sekretion von PRA und DOX in Speichel und Tränenflüssigkeit nach oraler Gabe zu ermitteln. In einer Pharmakokinetikstudie wurden bei sechs Katzen zu festgelegten Zeitpunkten Serum-, Speichel- und Tränenflüssigkeitsproben genommen und auf die Konzentration der Wirkstoffe hin untersucht (Studie 1). In einer zweiten Studie wurde die Prävalenz von FHV, *C. felis*, Mykoplasmen und aeroben Bakterien auf den Konjunktiven von Katzen mit Konjunktivitis ermittelt. Polymerasekettenreaktion (PCR) und Immunfluoreszenztest (IFT) wurden zum Nachweis von *C. felis* verwendet und anschließend die Sensitivität und Spezifität des IFT ermittelt. Um einen Eindruck über die Beteiligung von Mykoplasmen zu gewinnen wurde eine Speziesdifferenzierung bei einer Auswahl an Konjunktivaltupferproben durchgeführt (Studie 2). Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, die Wirksamkeit von PRA im Vergleich zu DOX bei an Katzenschnupfen erkrankten Katzen zu untersuchen. Dabei wurde besonders auf die Wirkung gegen *C. felis* und Mykoplasmen geachtet. In einer verblindeten, prospektiven Studie wurden Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen entweder mit PRA oder mit DOX über einen Zeitraum von 42 Tagen behandelt und die Verbesserung klinischer Symptome sowie die Elimination von *C. felis* und Mykoplasmen mittels PCR aus Konjunktivaltupferproben überprüft (Studie 3).

II. Literaturübersicht

Chlamydophila felis (*C. felis*) ist ein Erreger des sogenannten Katzenschnupfenkomplexes. Katzenschnupfen ist eine multifaktorielle Erkrankung, ausgelöst durch primäre und sekundäre Erreger und beeinflusst vom Immunstatus der Katze und von den Haltungsbedingungen (BINNS et al., 1999; BINNS et al., 2000). Das feline Herpesvirus (FHV) und das feline Calicivirus (FCV) gelten als die Haupterreger des Katzenschnupfens und können beim überwiegenden Teil der erkrankten Katzen nachgewiesen werden (GASKELL et al., 2006). Neben *C. felis* gilt *Bordetella bronchiseptica* als primärer Erreger des Katzenschnupfens (WILLOUGHBY et al., 1991; JACOBS et al., 1993; COUTTS et al., 1996; WELSH, 1996; HOSKINS et al., 1998). Weiterhin sind Mykoplasmen beteiligt, die bei Katzen mit Katzenschnupfen und bei klinisch gesunden Katzen nachgewiesen wurden (TAN et al., 1977a; HAESEBROUCK et al., 1991; RANDOLPH et al., 1993; CHANDLER & LAPPIN, 2002; LOW et al., 2007). Ihre Rolle beim Katzenschnupfen ist noch unklar (BLACKMORE et al., 1971; TAN & MILES, 1974a). Andere bakterielle Erreger, wie *Pasteurella multocida*, *Pasteurella aeruginosa*, Streptokokken, Staphylokokken, *Enterobacteriaceae* u. a. sind meist sekundär beteiligt und verkomplizieren die Symptome (GASKELL et al., 2006).

1. *Chlamydophila felis*

1.1. Taxonomie

Alle unter der Ordnung *Chlamydiales* eingestuften Erreger zeichnen sich nicht nur durch den selben Reproduktionszyklus, sondern auch durch fast identische Gensequenzen der 16S ribosomalen Ribonukleinsäure (rRNA) und/oder 23S rRNA aus (EVERETT et al., 1999a). Abbildung 1 zeigt eine Übersicht der Familien und Spezies der Ordnung *Chlamydiales*; Tabelle 1 liefert eine Übersicht über Wirte und klinische Manifestation der einzelnen Spezies.

Innerhalb der Ordnung wird zwischen vier Familien unterschieden, den *Chlamydiaceae* und den sogenannten „*Chlamydia-like organisms*“, zu denen *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae* und *Waddliaceae* gezählt werden (EVERETT

et al., 1999a; RURANGIRWA et al., 1999). Die Familien unterscheiden sich in ihren phänotypischen und pathologischen Eigenschaften. Als Grundlage für die Differenzierung dienen heute ribosomale Gensequenzen (EVERETT, 2000).

Tabelle 1: Wirte und klinische Manifestation der einzelnen Spezies der Ordnung *Chlamydiales* (nach EVERETT, 2000)

Spezies	Vorkommen	Klinik
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Mensch	Trachom, Krankheiten des Genitaltraktes, Arthritis, Konjunktivitis, Pneumonie
<i>Chlamydia suis</i>	Schwein	Konjunktivitis, Enteritis, Pneumonie
<i>Chlamydia muridarum</i>	Maus	Pneumonie
	Hamster	proliferative Ileitis
<i>Chlamydophila psittaci</i>	Vogel (Mensch, Säugetiere, Schildkröte)	Psittakose, Ornithose
<i>Chlamydophila pectorum</i>	Rind, Schaf, Ziege, Schwein	Abort, Konjunktivitis, Enzephalomyelitis, Enteritis, Pneumonie, Polyarthritits
	Koala	Krankheiten des Reproduktions- und Urogenitaltraktes, Infertilität
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Mensch, Koala, Pferd	Krankheiten des Respirationstraktes, obstruktive Lungenerkrankung, Artherosklerose, Alzheimer
<i>Chlamydophila abortus</i>	Schaf, Ziege, Rind, Schwein, Pferd, Kaninchen, Maus, Meerschweinchen	Abort, lebensschwache Neonaten
<i>Chlamydophila caviae</i>	Meerschweinchen	Konjunktivitis
<i>Chlamydophila felis</i>	Katze, (Mensch)	Konjunktivitis, Rhinitis
<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>	<i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Hartmanella vermiformis</i> , <i>Dictyostelium discoideum</i>	
<i>Neochlamydia hartmanellae</i>	<i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Hartmanella vermiformis</i> , <i>Dictyostelium discoideum</i>	
<i>Simkania negevensis</i> Z	Mensch	Pneumonie
<i>Waddlia chondrophila</i>	Rind	Abort

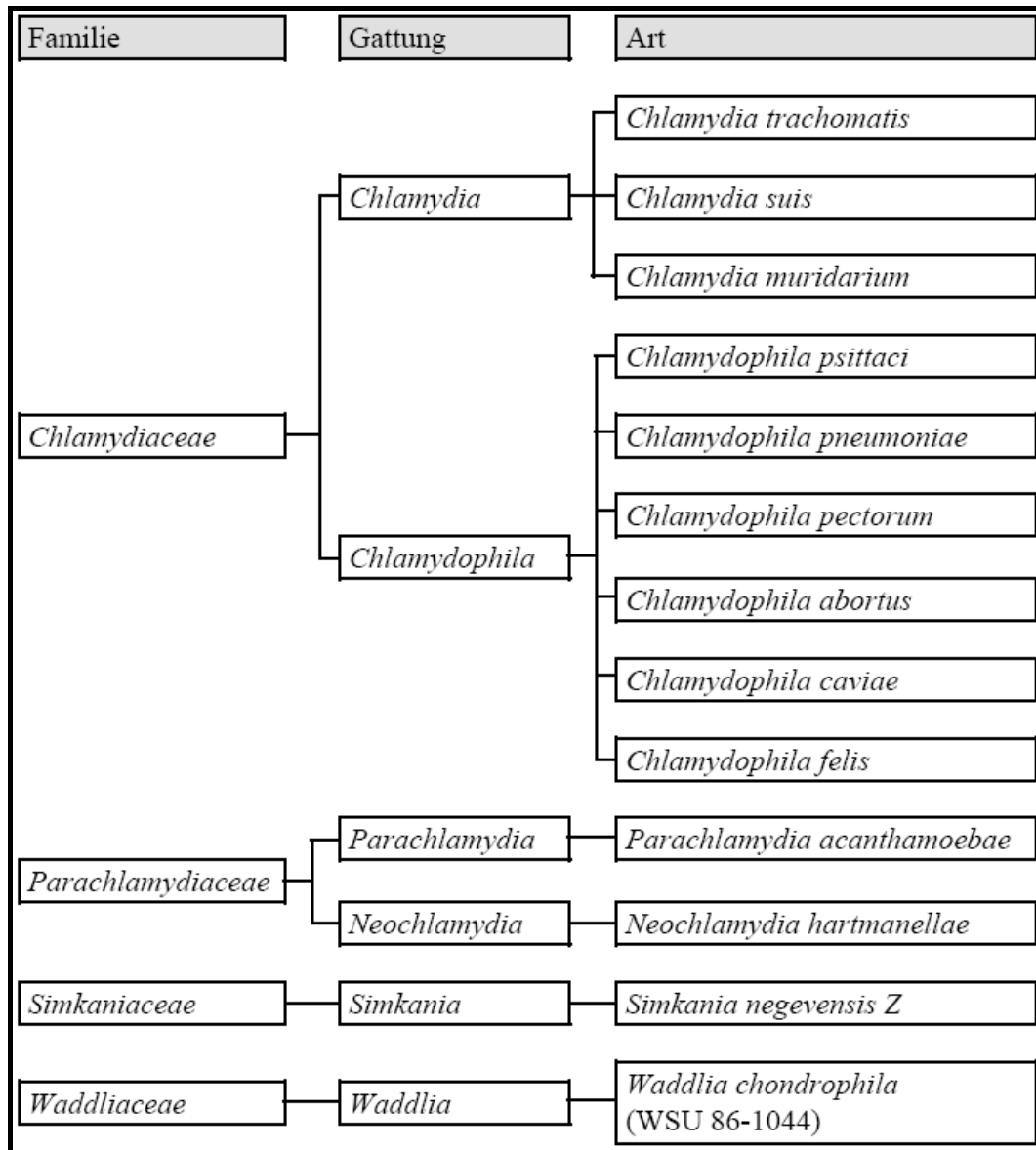


Abbildung 1: Familien, Genera und Spezies der Ordnung *Chlamydiales* (nach EVERETT et al., 1999a; RURANGIRWA et al., 1999; EVERETT, 2000; HORN et al., 2000)

Chlamydiaceae sind gram-negativ und tragen alle das gleiche LPS-Epitop α Kdo¹-(2→8)- α Kdo-(2→4)- α Kdo. Monoklonale Antikörper, die gegen das familienspezifische Epitop gerichtet sind, erlauben die Identifikation aller Mitglieder dieser Familie (LÖBAU et al., 1995). Moderne molekularbiologische Untersuchungsmethoden basieren auf dem Nachweis von *ompA*-Gensequenzen, die das „Major-Outer-Membrane“-Protein (MOMP) kodieren, tRNA-gly und 23S rRNA (EVERETT & ANDERSEN, 1999; EVERETT et al., 1999b; EVERETT,

¹ KDO = 3-Deoxy-D-manno-octulosonic-Säure

2000). Innerhalb der Familie *Chlamydiaceae* wird zwischen neun Spezies unterschieden, die zwei Genera zugeordnet sind.

Drei der neun Spezies wurden dem Genus *Chlamydia* zugeordnet. *Chlamydia trachomatis* wird wiederum in zwei Biovare unterteilt; Trachoma mit 14 Serovaren (A – K) und Lymphogranuloma venereum mit vier Serovaren (L₁₋₄). Der Erreger ist eine vorrangig humanpathogene Spezies und führt zu einer chronischen follikulären Keratokonjunktivitis (Trachom, „Ägyptische Augenkrankheit“), zu einer Einschlusskörperchenkonjunktivitis, zu Krankheiten des Urogenitaltraktes, Lymphogranuloma venerum, Arthritiden und zu Pneumonien (BRANIGAN et al., 1996; HOF & DÖRRIES, 2005). Beim Schwein wurde *Chlamydia suis* im Zusammenhang mit Konjunktividen, Enteritiden und Pneumonien isoliert (ROGERS & ANDERSEN, 1996; ROGERS et al., 1996; CARRASCO et al., 2000; GRIFFITHS et al., 2003). Von *Chlamydia muridarum* sind zwei Stämme (SFPD, MoPn) bekannt. SFPD wurde bei Hamstern mit proliferativer Ileitis isoliert (FOX et al., 1993). Bei Mäusen verlaufen MoPn-Infektionen asymptomatisch, können aber auch Pneumonien hervorrufen (NIGG, 1942; WILLIAMS et al., 1981).

Die anderen Spezies sind dem zweiten Genus *Chlamydophila* zugeordnet. Insgesamt sechs Serovare (A – H) von *Chlamydophila psittaci* wurden bisher bei Vögeln, Säugetieren, Schildkröten und beim Menschen nachgewiesen. Hauptsymptome der Psittakose bei Vögeln sind Konjunktivitis, Rhinitis, Bronchitis und Diarrhoe (GRIFFITHS, 2002b). Nach Übertragung auf den Menschen entwickelt sich entweder eine schwerwiegende atypische Pneumonie oder ein systemischer, septischer Verlauf ohne Beteiligung des Respirationstraktes (GRIFFITHS, 2002c). Es gibt auch Hinweise auf eine mögliche Übertragung auf Katzen. Yan und Mitarbeiter (2000) konnten Antikörper gegen *Chlamydophila psittaci* aviären Ursprungs (antiPrk/6BC) mittels Mikroimmunfluoreszenz (MIF) bei 51,1 % streunender Katzen und 15,1 % reiner Wohnungskatzen in Japan nachweisen (YAN et al., 2000). In einem Haushalt wurden der selbe Erreger bei einer an Konjunktivitis erkrankten Katze und dem im Haushalt lebenden klinisch gesunden Ara isoliert (LIPMAN et al., 1994). Krankheiten des Respirationstraktes, Artherosklerose und Alzheimer werden beim Menschen mit *Chlamydophila pneumoniae* in Verbindung gebracht (GRAYSTON et al., 1986; SAIKKU et al., 1988; JACKSON et al., 1997; BALIN et al., 1998). Beim Koala besteht eine Prädisposition zum Urogenital- und Respirationstrakt, beim Pferd nur

zum Respirationstrakt (MCCHESNEY et al., 1982; WARDROP et al., 1999). Bei Wiederkäuen, Schweinen, Pferden und kleinen Heimtieren werden Aborte durch *Chlamydophila pectorum* und *Chlamydophila abortus* hervorgerufen (STORZ, 1971b, 1988). *Chlamydophila pectorum* wurde zudem bei Enzephalomyelitis, Konjunktivitis und Keratokonjunktivitis, Pneumonie, Enteritis, Metritis und Polyarthritits nachgewiesen (GRIFFITHS, 2002a). Infektionen von *Chlamydophila caviae* ruft beim Meerschweinchen eine Konjunktivitis hervor (MURRAY, 1964; GORDON et al., 1966). *C. felis* führt bei der Katze zu Konjunktivitis und Rhinitis (HOOVER et al., 1978; TERWEE et al., 1998; MASUBUCHI et al., 2002). Anhand der Anwesenheit bestimmter Plasmide wurden drei Stämme (FP-Pring, FP-Baker und FP-Cello) identifiziert. Hinweise auf die Übertragung von *C. felis* auf den Menschen liefern einzelne Fallberichte.

Natürliche Wirte der *Parachlamydiaceae* sind Amöben (*Acanthamoeba* spp., *Hartmanella vermiformis* und *Dictyostelium discoideum*); sie wurden auch aus Nasenabstrichen von Menschen und aus Wasserproben isoliert (AMANN et al., 1997; GREUB & RAOULT, 2002). *Simkania negevensis* Z ist die einzige Spezies der Familie *Simkaniaceae*. Ursprünglich wurde der Erreger als Kontaminat in Zellkulturen gefunden; neue molekularbiologische Untersuchungsmethoden geben Hinweise auf eine mögliche Beteiligung an Erkrankungen des Respirationstraktes des Menschen (LIEBERMAN et al., 1997; KAHANE et al., 1998; EVERETT, 2000; LIEBERMAN et al., 2002). Der Erreger *Waddlia chondrophila* (WSU 86-1044), nachgewiesen in Geweben eines bovinen Fötus, wird mit Aborten bei Rindern in Verbindung gebracht (DILBECK et al., 1990).

1.2. Ätiologie

Die Familie *Chlamydiaceae* beinhaltet sowohl für Menschen als auch für Tiere pathogene Bakterien (GREENE, 2006a).

1.2.1 Morphologie und Eigenschaften

Chlamydien sind hoch spezialisierte, kokkoide Bakterien, die mit einer den gram-negativen Bakterien ähnelnde Zellwand mit Peptiden und Lipopolisacchariden (LPS), aber ohne Peptidoglykan umhüllt sind (MOULDER, 1966; HIRSH & BIBERSTEIN, 2004). Sie besitzen Desoxiribonukleinsäure (DNA) und Ribonukleinsäure (RNA) und kommen vor als Elementarkörperchen und Initialkörperchen (ZHALER & MOULDER, 1953; ROSS & GOGOLAK, 1957;

JENKIN, 1960; TAMURA & HIGASHI, 1963). Die DNA der Elementarkörperchen befindet sich in konzentrierter Form im Nukleolus, während die DNA der Initialkörperchen als frei im Zytoplasma verteilte Filamente vorliegt (ARMSTRONG & REED, 1964; ERLANDSON & ALLEN, 1964; MITSUI et al., 1964; ANDERSON et al., 1965). In beiden „Formen“ ist der überwiegende Teil der RNA in den Ribosomen des Zytoplasmas lokalisiert (ANDERSON et al., 1965; HIGASHI, 1965).

Mittels neuerer Untersuchungsmethoden wurde die Genomsequenz für einige Chlamydienarten entschlüsselt (Tabelle 2). Das Genom von *C. felis* befindet sich auf einem ringförmigen Chromosom und auf einem Plasmid (pCfe1). Im Vergleich mit anderen Chlamydienspezies sind von den insgesamt 1.005 Proteinkodierenden Genen 47 Gene *C.-felis*-spezifisch, während 795 Gene in der Familie der *Chlamydiaceae* weit verbreitet sind (AZUMA et al., 2006). Eine gemeinsame Eigenschaft aller *Chlamydiaceae* sind „polymorphic-membrane-protein-“ (*pmp*-) Gene, die eine Gruppe von Oberflächenproteinen kodieren (STEPHENS et al., 1998; KALMAN et al., 1999; READ et al., 2000; SHIRAI et al., 2000; READ et al., 2003; THOMSON et al., 2005; AZUMA et al., 2006). Zwanzig *pmp*-Gene wurden in *C. felis* identifiziert (AZUMA et al., 2006). Diese Genomsequenz war in *C.-felis*-Stämmen verschiedener geographischer Regionen identisch, dies unterstützt die Vermutung eines Klons mit gemeinsamen Ursprung (SAYADA et al., 1994; HARLEY et al., 2007). Es wird vermutet, dass es sich dabei um Virulenzfaktoren handelt (HARLEY et al., 2007).

Im Gegensatz zu anderen Bakterien können die Mitglieder der *Chlamydiaceae* die zur selbständigen Lebensfähigkeit notwendige Energie nicht eigenständig produzieren. Die dafür nötigen biochemischen Reaktionen, wie die Verstoffwechslung von Glukose, Glutamat und anderen Aminosäuren, finden außerhalb und ohne Hilfe der Wirtszelle nicht statt (MOULDER & WEISS, 1951; PERRIN, 1952; ALLEN & BOVARNICK, 1957; ALLEN & BOVARNICK, 1962), da weder eine Synthese von Adenosintriphosphat noch Guanosintriphosphat aus reduziertem Adenosindiphosphat und Guanosindiphosphat beobachtet wird (MOULDER, 1966; SYKES, 2004). Zudem fehlen Flavoproteine und Cytochrome, weshalb sie auf exogene Kofaktoren und auf die Bereitstellung von Energie durch ihre Wirtszelle angewiesen sind. Sie werden daher als „Energieparasiten“ bezeichnet (MOULDER, 1966). Außerhalb

der Wirtszelle sind Chlamydien somit nicht überlebensfähig und gelten deshalb als obligat intrazelluläre Erreger (SYKES, 2004; GREENE, 2006a).

Tabelle 2: Allgemeine Eigenschaften chlamydialer Genome (STEPHENS et al., 1998; KALMAN et al., 1999; READ et al., 2000; SHIRAI et al., 2000; READ et al., 2003; THOMSON et al., 2005; AZUMA et al., 2006) (bp = Basenpaare, C. = *Chlamydomphila*, CG = Cytosin-Guanosin, GPIC = guinea pig inclusion conjunctivitis, *pmp* = polymorphic membrane protein, RNA = Ribonukleinsäure, rRNA = ribosomale RNA, tRNA = Transport-RNA)

Eigenschaften	<i>C. abortus</i> (S26/3)	<i>C. caviae</i> (GPIC)	<i>C. felis</i> (Fe/C-56)	<i>Chlamydia muridarum</i> (Nigg)	<i>Chlamydia trachomatis</i> (serovar D)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (AR39)
Genomgröße						
• Chromosom (bp)	1.144.377	1.173.390	1.166.239	1.072.950	1.042.519	1.229.858
• Plasmid (bp)	-	7.966	7.552	7.501	7.493	-
• Phage (bp)	-	-	-	-	-	4.524
GC Gehalt (%)	39,9	39,2	39,4	40,3	41,3	40,4
Protein-kodierende Gene	961	1.009	1.005	921	894	1.130
• mit zugewiesener Funktion	-	320 (31,7 %)	682 (67,8 %)	281 (30,5 %)	-	285 (25,2 %)
• mit hypothetischer Funktion	-	84 (8,3 %)	281 (27,9 %)	77 (8,3 %)	-	263 (23,2 %)
stabile RNA Gene						
• tRNA	38	38	38	37	37	38
• rRNA operons	1	1	1	2	2	1
<i>pmp</i> -Gene	18	18	20	9	9	21

1.2.2 Entwicklungszyklus

Chlamydien kommen in zwei morphologisch unterschiedlichen Entwicklungsformen vor. Das Elementarkörperchen, die kleinere Form, hat einen Durchmesser von 0,3 μm und einem dunklen Nukleolus. Das Initialkörperchen ist mit einem Durchmesser von 0,5 bis 1,0 μm die größere Form und hat kein dunkles Zentrum (GAYLORD, 1954; MITSUI & SUZUKI, 1956; MITSUI et al., 1958; CONSTABLE, 1959; LITWIN, 1959). Zwischen den einzelnen Mitgliedern der *Chlamydiaceae* bestehen keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Morphologie und des Entwicklungszyklus (Abbildung 2) (MOULDER, 1966).

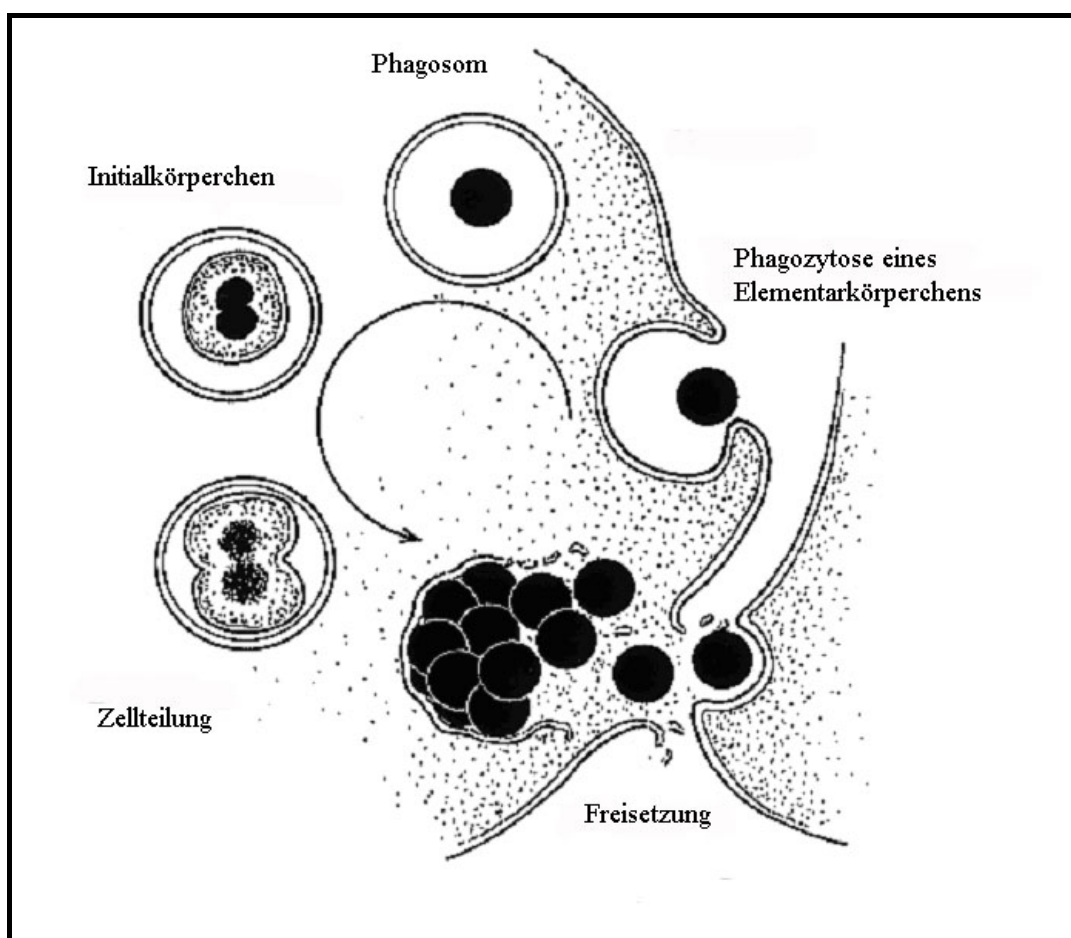


Abbildung 2: Reproduktionszyklus und Entwicklung der Chlamydien (nach GREENE, 1998).

Zu Beginn des Entwicklungszyklus wird das infektiöse Elementarkörperchen mittels Endozytose aufgenommen und bildet innerhalb der Zelle ein membrangebundenes Phagosom (zytoplasmatisches Vesikel). Innerhalb des Phagosoms verliert das Elementarkörperchen seine Zellwand und wächst sehr rasch zu einem Initialkörperchen, der vegetativen, nicht infektiösen

Reproduktionsform, heran. Nach einer Phase der intrazellulären Teilung, entweder durch Sprossung oder durch Zellteilung, folgt eine rasche Wachstumsperiode. Nach weiterer Zellteilung und Vergrößerung innerhalb des Phagosoms entsteht ein großes, metabolisch aktives, membrangebundenes Retikularkörperchen. Dieses ist gefüllt mit vielen sich rasch teilenden Initialkörperchen, die sich zu infektiösen Elementarkörperchen differenzieren. Das weiter fortschreitende Wachstum und die Einwirkung von lysosomal freigesetzten Enzymen führt zur Ruptur der Phagosomen- und Wirtszellmembran mit Freisetzung der Elementarkörperchen (LITWIN, 1959; LITWIN et al., 1961; ARMSTRONG & REED, 1964; HIGASHI, 1965; MONNICKENDAM & PEARCE, 1983). Der gesamte Entwicklungszyklus dauert 24 bis 48 Stunden (MOULDER, 1966).

1.3. Entdeckung

Erstmals wurden im 19. Jahrhundert für epidemieartig aufgetretene Erkrankungen mit grippeähnlichen Symptomen durch von Papageien auf den Menschen übertragene Infektionserreger verantwortlich gemacht (MORANGE, 1895). Die Isolierung und Identifikation des Erregers der als „Psittakose“ bezeichneten Krankheit erfolgte jedoch erst 1930 (BEDSON et al., 1930; COLES, 1930; LEVINTHAL, 1930; LILLIE, 1930). In den 50er Jahren wurde das Bakterium erstmals bei einer Katze mit respiratorischen Symptomen isoliert (BAKER, 1942). Das Agens, das ursprünglich als Virus eingestuft wurde, erhielt den Namen „*Miyagwanella felis*“, die Krankheit wurde als „feline Pneumonitis“ bezeichnet (HAMRE & RAKE, 1944; CELLO, 1971b). Die okuläre Manifestation (infektiöse Konjunktivitis) wurde erst später beschrieben (CELLO & PROCTOR, 1957; CELLO, 1967; YERASIMIDES, 1960). Bevor durch molekularbiologische Methoden die Taxonomie überarbeitet wurde, wurde *C. felis* lange Zeit als „*Chlamydia psittaci*“ bezeichnet (EVERETT et al., 1999a).

1.4. Epidemiologie

C. felis ist weltweit verbreitet; der Erreger wurde in Europa, USA, Kanada, Asien, Australien und Neuseeland isoliert. Sowohl Antikörper als auch Erreger wurden bei Katzen mit und auch ohne klinische Symptome nachgewiesen.

1.4.1 Antikörperprävalenz

Die Prävalenz von Antikörpern gegen *C. felis* variiert stark (Tabelle 3). So wurden bei 5 – 9 % gesunder Katzen und bei 0 – 96 % an Konjunktivitis und Katzenschnupfen erkrankten Katzen Antikörper nachgewiesen. Untersuchungen in nicht selektierten Katzenpopulationen (mit und ohne respiratorischen Symptomen) liegt die Antikörperprävalenz zwischen 0 % und 69 %.

1.4.2 Erregerprävalenz

C. felis wird bei 0 – 60 % der Katzen mit Konjunktivitis und respiratorischen Symptomen isoliert, während 0 – 6 % der gesunden Katzen als Träger identifiziert werden (Tabelle 4).

1.5. Pathogenese

Der Erreger ist primär pathogen für Katzen und gilt als wirtsspezifisch. Die Übertragung erfolgt entweder durch direkten Kontakt oder indirekt über unbelebte Gegenstände. Nach Infektion erfolgt die Replikation im Epithel der Konjunktiven. In der Regel handelt es sich um eine lokale Infektion; eine Bakteriämie kann vereinzelt dennoch stattfinden. So gelang es TerWee und Mitarbeitern (1998) mit der Transfusion von Blut von infizierten, klinisch kranken Katzen, bei klinisch gesunden Katzen 20 Tage nach Transfusion einen messbaren Chlamydien-spezifischen Immunglobulin-(Ig)-G-Titer zu erzielen und 35 Tage nach Transfusion eine Konjunktivitis hervorzurufen (TERWEE et al., 1998). Ein weiterer Hinweis für das Auftreten einer Bakteriämie liefert die Isolation von Chlamydien aus Leber, Niere und Milz nach experimenteller Infektion (MITZEL & STRATING, 1977; MASUBUCHI et al., 2002). Der Nachweis der Erreger im Blut mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) gelang Sykes und Mitarbeitern (1999) nach experimenteller Infektion jedoch nicht. Die Autoren führen das auf die sehr geringe Anzahl an infektiösen Keimen in der Blutbahn zurück (SYKES et al., 1999b).

C. felis-Infektionen treten vornehmlich bei jüngeren Katzen auf. In einer Studie von Wills und Mitarbeiter (1988) waren Katzen in der Altersgruppe von fünf Wochen bis neun Monaten häufiger betroffen (WILLS et al., 1988). Die jüngste Katze, bei der *C. felis* nachgewiesen wurde, war zwei Monate alt. Die Autoren vermuten, dass jüngere Katzen durch maternale Antikörper vor einer Infektion geschützt sind (WILLS et al., 1988).

Tabelle 3/A: Prävalenz von *C. felis*-Antikörpern (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gesund = Katzen ohne Symptome, IFT = Immunfluoreszenztest, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, KBR = Komplementbindungsreaktion, SF = Katzen von Schaffarmen, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik)

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
KBR	0 %	20	unselektiert	Dänemark	FRIIS, 1967
KBR	0 %	35	unselektiert	Australien	STUDDERT & MARTIN, 1970
KBR	0 %	31	unselektiert	Großbritannien	POVEY & JOHNSON, 1971
KBR	0 %	2	unselektiert	Schweiz	SIXL et al., 1973
KBR	0 %	20	unselektiert	Deutschland	SCHMATZ et al., 1977
KBR	32 %	93	unselektiert, Zuchtkatzen	Schweiz	LAZAROWICZ, 1977; LAZAROWICZ et al., 1982
KBR	1 %	113	unselektiert, Versuchskatzen	Schweiz	LAZAROWICZ, 1977; LAZAROWICZ et al., 1982
KBR	5 %	108	gesund	Schweiz	LAZAROWICZ, 1977; LAZAROWICZ et al., 1982
KBR	5 %	75	unselektiert	Deutschland	KNECHT, 1979
KBR	13 %	134	unselektiert	Australien	STUDDERT et al., 1981
KBR	62 %	13	krank	Australien	STUDDERT et al., 1981
IFT	Prozentzahl unbekannt		unselektiert	Großbritannien	WILLS et al., 1984
KBR	2 %	823	unselektiert	Japan	FUKUSHI et al., 1985
IFT	45 %	51	unselektiert	Großbritannien	GETHINGS et al., 1987
ELISA	19 %	108	unselektiert	Deutschland	WERTH et al., 1987
IFT	45 %	51	unselektiert, SF	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	60 %	116	krank	Großbritannien	WILLS et al., 1988

Tabelle 3/B: Prävalenz von *C.-felis*-Antikörpern (CK = *C.-felis*-Konjunktivitis, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gesund = Katzen ohne Symptome, IFT = Immunfluoreszenztest, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, KBR = Komplementbindungsreaktion, MIF = Mikroimmunfluoreszenztest, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik)

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
IFT	96 %	71	krank, Katzen mit CK	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	8 %	40	gesund	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	5 %	511	unselektiert	Deutschland	DANWITZ & REHMANN, 1991
ELISA	22 %	132	unselektiert	Kanada	LANG, 1992
IFT	9 %	252	gesund	Großbritannien	GUNN-MOORE et al., 1995
MIF	26 %	232	unselektiert	Japan	PUDJIATMOKO et al., 1996
IFT	17 %	71	krank, Katzen mit CK	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998
MIF	17 %	127	unselektiert, Hauskatzen	Japan	YAN et al., 2000
MIF	46 %	88	unselektiert, Wildkatzen	Japan	YAN et al., 2000
KBR	0 %	13	krank	Slovakei	TRAVNICEK et al., 2002
IFT	21 %	86	unselektiert, Wildkatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2004a
IFT	21 %	254	unselektiert, Hauskatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2004a
IFT	30 %	430	unselektiert	Italien	DI FRANCESCO et al., 2004a
IFT	64 %	90	unselektiert, Tierheimkatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2004a
IFT	11 %	214	gesund	Schweden	HOLST et al., 2006

Tabelle 4/A: Prävalenz von *C. felis* (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gesund = Katzen ohne Symptome, IFT = Immunfluoreszenztest, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, SF = Schaffarmen, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik)

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
Konjunktivalausstrich (Giemsaefärbung)	0 %	184	krank	Großbritannien	POVEY & JOHNSON, 1971
Zellkultur	0 %	50	gesund	Kanada	SHEWEN et al., 1980b
Zellkultur	31 %	26	krank, nur Konjunktivitis	Kanada	SHEWEN et al., 1980b
Zellkultur	0 %	13	krank, Konjunktivitis und Rhinitis	Kanada	SHEWEN et al., 1980b
Konjunktivalausstrich (Macchiavellofärbung)	87 %	15	krank	Australien	STUDDERT et al., 1981
ELISA	26 %	101	krank	Großbritannien	WILLS et al., 1986
IFT	49 %	101	krank	Großbritannien	WILLS et al., 1986
IFT	6 %	49	gesund	Großbritannien	GETHINGS et al., 1987
Konjunktivalausstrich (Giemsaefärbung)	48 %	46	krank	Deutschland	KELLER, 1988
IFT	24 %	41	gesund, Wildkatzen	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	6 %	43	gesund, Katzen von SF	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	30 %	753	krank	Großbritannien	WILLS et al., 1988
IFT	31 %	-	krank	Belgien	HANSELAER et al., 1989

Tabelle 4/B: Prävalenz von *C. felis* (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gesund = Katzen ohne Symptome, IFT = Immunfluoreszenztest, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, PCR = Polymerasekettenreaktion, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik)

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
ELISA	10 %	29	krank	Deutschland	DANWITZ & REHMANN, 1991
Konjunktivalausstrich (Giemsa-Färbung)	0 %	30	krank	Deutschland	DANWITZ & REHMANN, 1991
IFT	49 %	35	krank	Australien	POINTON et al., 1991
IFT	18 %	61	krank	USA	NASISSE et al., 1993
ELISA	6 %	116	gesund	Neuseeland	GRUFFYDD-JONES et al., 1995
ELISA	18 %	217	krank	Neuseeland	GRUFFYDD-JONES et al., 1995
ELISA	14 %	333	unselektiert	Neuseeland	GRUFFYDD-JONES et al., 1995
PCR	13 %	168	krank	Australien	SYKES et al., 1997
PCR	7 %	43	krank, Katzenschnupfen	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998
PCR	10 %	21	krank, Konjunktivitis	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998
PCR	18 %	33	krank, Konjunktivitis und Katzenschnupfen	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998
PCR	18 %	39	krank, chronische Konjunktivitis	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998
PCR	25 %	20	krank, Augenausfluss	Großbritannien	MCDONALD et al., 1998

Tabelle 4/C: Prävalenz von *C. felis* (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gesund = Katzen ohne Symptome, IFT = Immunfluoreszenztest, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, PCR = Polymerasekettenreaktion, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, ¹ = *C.-felis*-DNA (1/7) und nicht-*C.-felis*-DNA von *Neochlamydia hartmannellae* (6/7))

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
PCR	1 %	95	gesund	Australien	SYKES et al., 1999a
PCR	14 %	462	krank	Australien	SYKES et al., 1999a
PCR	27 %	26	krank	Japan	MOCHIZUKI et al., 2000
IFT	12 %	52	krank	Japan	IWAMOTO et al., 2001
PCR	12 %	104	krank	Australien	SYKES et al., 2001
PCR	59 %	66	krank	Japan	CAI et al., 2002
ELISA	77 %	13	krank	Slovakei	TRAVNICEK et al., 2002
PCR	14 %	36	unselektiert, Tierheimkatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2003
PCR	21 %	63	unselektiert, Tierheimkatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2003
PCR	27 %	44	unselektiert, Tierheimkatzen	Italien	DI FRANCESCO et al., 2003
PCR	0 %	30	gesund	Italien	RAMPAZZO et al., 2003
PCR	20 %	70	krank	Italien	RAMPAZZO et al., 2003
PCR	23 %	30	gesund	Schweiz	VON BOMHARD et al., 2003
PCR	50 % ¹	226	krank	Schweiz	VON BOMHARD et al., 2003
PCR	3 %	60	gesund	Italien	DI FRANCESCO et al., 2004b

Tabelle 4/D: Prävalenz von *C. felis* (gesund = Katzen ohne Symptome, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, PCR = Polymerasekettenreaktion, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, ² = Katzen mit vorangegangener Konjunktivitis, momentan symptomfrei)

Nachweis	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
PCR	19 %	54	krank	Italien	MARSILIO et al., 2004b
PCR	23 %	40	krank	Italien	MARSILIO et al., 2004a
PCR	3 %	576	unselektiert	USA	BANNASCH & FOLEY, 2005
PCR	3 %	1101	gesund	Europa	HELPS et al., 2005
PCR	10 %	1101	krank	Europa	HELPS et al., 2005
PCR	0 %	17	gesund	Österreich	VOLOPICH et al., 2005
PCR	0 %	36	krank	Österreich	VOLOPICH et al., 2005
PCR	3 %	296	gesund	Deutschland	ZAPIRAIN GASTÓN et al., 2005
PCR	8 %	296	krank	Deutschland	ZAPIRAIN GASTÓN et al., 2005
IFT	60 %	25	krank	Deutschland	GERHARDT et al., 2006
PCR	3 %	124	unselektiert	USA	LOW et al., 2007
PCR	0 %	37	gesund	USA	LOW et al., 2007
PCR	0 %	32	gesund ²	USA	LOW et al., 2007
PCR	7 %	55	krank, Konjunktivitis	USA	LOW et al., 2007
PCR	0 %	61	krank	USA	VEIR et al., 2007

C. felis gilt als sehr wirtsspezifisch, dennoch kann der Erreger nicht nur andere Feliden, sondern auch andere Spezies (inklusive Mensch) infizieren. Vereinzelt wurden Fälle mit Chlamydieninfektionen beim Menschen publiziert, bei denen eine Übertragung von Katzen auf den Menschen vermutet wurde (BAKER, 1942; BLAKE et al., 1942; OSTLER et al., 1969; SCHACHTER et al., 1969; DAROUGAR et al., 1978; GRIFFITHS et al., 1978; REGAN et al., 1979; SCHMEER et al., 1987). *C. felis* wurde aber nur in wenigen Fällen durch molekularbiologische Untersuchungsmethoden tatsächlich identifiziert (SAYADA et al., 1994; COTTON & PARTRIDGE, 1998; HARTLEY et al., 2001).

Erster Hinweis auf die Übertragung auf Menschen liefert ein Bericht von Studdert und Mitarbeiter (1981) über eine Besitzerin, bei deren Katzen eine Chlamydien-induzierte Konjunktivitis diagnostiziert wurde. Die Erreger wurden in nach Macchiavello gefärbten Ausstrichen nach Erregeranzucht identifiziert. Im Serum der Besitzerin, die über keine nennenswerten Symptome berichtete, waren die gleichen Antikörper wie bei den erkrankten Katzen vorhanden. In allen entnommenen Serumproben wurden Antikörper gegen das gruppenspezifische Antigen mittels Komplementbindungsreaktion (KBR) ermittelt (STUDDERT et al., 1981). Yan und Mitarbeiter (2000) stellten bei einer in Japan durchgeführten Studie bei 1,7 % der Bürger und bei 8,8 % der Tierärzte aus Kleintierkliniken Antikörper gegen *Chlamydophila psittaci* mit felinem Ursprung (Fe/Pn1) fest (YAN et al., 2000).

Der Erreger vermehrt sich im Konjunktivalepithel sowie in den Zellen des Respirations-, Gastrointestinal- und Genitaltraktes (GAILLARD et al., 1984; WILLS et al., 1987; O'DAIR et al., 1994; TERWEE et al., 1998; SYKES et al., 1999b). Eine Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über die Tränenflüssigkeit, Nasen- und Vaginalausfluss sowie über den Kot (GREENE, 2006a); sie tritt bei Katzen mit klinischen Symptomen aber auch bei asymptomatischen Trägern auf (RAMSEY, 2000).

Der direkte Kontakt mit infektiösem Aerosol ist der wichtigste Übertragungsweg zwischen Katzen. Die Fellpflege zwischen Katzen spielt ebenfalls eine Rolle (SYKES, 2004). Elementarkörperchen sind in der Umgebung nur über einen kurzen Zeitraum überlebensfähig, so dass eine indirekte Übertragung über kontaminierte Gegenstände nur in Haushalten mit vielen Katzen (wie Tierpensionen, Tierheime) vorkommt (RAMSEY, 2000; GREENE, 2006a).

1.6. Immunreaktion der Katze

Werden Katzen mit *C. felis* infiziert, spielt sowohl die zelluläre als auch die humorale Immunreaktion eine Rolle. Eine vollständige Elimination erfolgt nicht in jedem Fall. Bei Katzen, die als Carrier fungieren, kann die Infektion durch Stress reaktiviert werden und tritt dann rezidivierend auf (BARNDT et al., 1986; KELLER, 1988).

1.6.1 Humorale Immunreaktion

Katzenwelpen sind bis zu einem Alter von neun Wochen durch maternale Antikörper vor Infektionen mit Chlamydien geschützt (WILLS et al., 1988; GREENE, 1998). Eine kurzanhaltende Immunität mit einem unzureichenden Schutz vor Reinfektionen wird bei älteren Tieren nach Kontakt mit Chlamydien oder nach Impfungen ausgebildet (CELLO, 1971b; SHEWEN et al., 1980a; WILLS et al., 1987). Die mittels KBR ermittelten Antikörpertiter waren vor und nach Vakzination sehr gering (MCKERCHER, 1952; CELLO, 1971b; SHEWEN et al., 1980a; WILLS et al., 1987). Wills und Mitarbeiter (1987) vermuten, dass die KBR möglicherweise keine geeignete Methode zur Ermittlung des Antikörpertiters darstellt, da bei der Messung des Antikörpertiters mittels indirektem Immunfluoreszenztest (IFT) wesentlich höhere Werte nachgewiesen werden konnten (WILLS et al., 1987).

Die Rolle der Antikörper und ihre Interaktionen sind noch nicht vollständig geklärt. Nach Schnorr (1989) binden Antikörper an Adhäsionsmoleküle von Elementarkörperchen, so dass die Anlagerung und Aufnahme in die potentielle Wirtszelle unterbrochen wird (SCHNORR, 1989). Eine Elimination durch die zelluläre Immunität wird durch die Markierung von Elementarkörperchen erzielt. Dafür binden spezifische Antikörper an spezielle Epitope des MOMP (CALDWELL & PERRY, 1982; WENMAN & MEUSER, 1986). Außerdem sollen Antikörper durch Kreuzvernetzung die Ausbildung von Retikularkörperchen verhindern (CALDWELL & PERRY, 1982; WENMAN & MEUSER, 1986). Ein vierter möglicher Angriffspunkt von Antikörpern ist die Fusion von Lysosom und Endosom (SCHNORR, 1989).

1.6.2 Zelluläre Immunreaktion

Die zelluläre Immunität scheint eine wichtige Rolle bei der Ausbildung eines wirksamen Schutzes zu spielen (MCKERCHER, 1952; MITZEL & STRATING,

1977; SHEWEN et al., 1980a). Gerade geschlüpften Truthahnküken wurden entweder der Thymus (T-Zell-Produktion) oder die Bursa fabricii (B-Zell-Produktion) entfernt. Nach Exposition mit *Chlamydophila psittaci* bildeten die Bursa-ektomierten Vögel einen vollständigen Schutz aus, während bei 83 % der Thymus-ektomierten Küken die Ausbildung einer Immunität verhindert wurde (PAGE, 1978).

Im Rahmen der zellulären Immunreaktion kommt es zur Proliferation der zirkulierenden Lymphozyten (CD4⁺-Zellen) nach Antigenexposition. Die von ihnen produzierten Zytokine aktivieren die T-Zellen, steigern die Aktivität der Makrophagen und regulieren die B-Zell-Differenzierung. Eine Proliferationsreaktion der Lymphozyten auf die Exposition von Elementarkörperchen konnte nur am Tag zwölf *post infectionem* bei 50 % bis 70 % der Katzen mit klinischen Symptomen gemessen werden (TERWEE et al., 1998). Der unzureichende Reaktionsnachweis bei den erkrankten Katzen könnte bedingt sein durch Konzentrationsunterschiede an gewonnenen Zellen in den Blutproben eines Tieres oder durch das Vorhandensein des α_1 -Säureglykoprotein (α_1 -AG), das als Inhibitor der Lymphozytenblastogenese gilt (TERWEE et al., 1998). Es wäre auch noch möglich, dass dies ein Teil der Pathogenese des Organismus darstellt (TERWEE et al., 1998).

Interleukin-6 (IL-6) scheint eine wichtige Rolle bei der Akuten-Phase-Reaktion, der B-Zell-Reifung und der Antikörperproduktion zu spielen (BOWMAN, 1993). Messungen von IL-6 bei experimentell infizierten Katzen ergaben nur geringgradig erhöhte Werte während der Initialphase der Infektion, während konstant hohe Level zwischen Tag 20 und 43 nach Infektion gemessen wurden (TERWEE et al., 1998). Die hohen Werte im Verlauf der Erkrankung könnten einen Hinweis auf einen schwerwiegenden Krankheitsverlauf oder die systemische Ausbreitung des Erregers sein (TERWEE et al., 1998). IL-6 kann von Monozyten, B- und T-Zellen oder von Endothelzellen gebildet werden (TERWEE et al., 1998). Ein anderes Akute-Phase-Protein, das α_1 -AG, stieg ebenfalls mit Anzeichen einer systemischen Infektion (Fieber) und Konjunktivitis bei experimentell infizierten Katzen an (TERWEE et al., 1998).

1.7. Klinische Symptome

Eine Rassedisposition für *C.-felis*-Infektionen ist nicht vorhanden (SYKES et al., 1997). In einer Studie waren kastrierte und intakte Kater häufiger betroffen,

während in einer anderen Studie keine Geschlechtsdisposition nachgewiesen werden konnte (WILLS et al., 1988; SYKES et al., 1997).

1.7.1 Symptome bei der Katze

Konjunktivitis ist das am häufigsten beobachtete Symptom bei *C.-felis*-Infektionen. In seltenen Fällen sind andere Organsysteme, wie der Respirations- oder Genitaltrakt, betroffen.

1.7.1.1 Allgemeine Symptome

Unspezifische Symptome, wie Fieber, Anorexie, Gewichtsverlust, reduziertes Allgemeinbefinden und Inaktivität waren bei Katzen nach experimenteller Infektion mit *C. felis* zu beobachten (BAKER, 1944; MITZEL & STRATING, 1977; HOOVER et al., 1978; KOLAR & RUDE, 1981; WASMOEN & WASMOEN, 1992; TERWEE et al., 1998; MOCHIZUKI et al., 2000). Die Phase des Fiebers beginnt zwischen Tag 11 und 15 *post infectionem* und dauerte zwischen drei und 13 Tagen (HOOVER et al., 1978; TERWEE et al., 1998; MOCHIZUKI et al., 2000). Nach experimenteller Infektion ist das Allgemeinbefinden ab Tag 14 bis 20 für die Dauer von zwei bis maximal acht Tagen reduziert (TERWEE et al., 1998). Vereinzelt kann eine Vergrößerung der Mandibularlymphknoten auftreten (WILLS et al., 1987; SYKES et al., 1999b).

1.7.1.2 Konjunktivitis

Chronische Konjunktivitis gilt als Leitsymptom einer *C.-felis*-Infektion (PEDERSEN, 1988). Bei 18 % bis 30 % der Katzen mit chronischer Konjunktivitis wird *C. felis* als kausales Agens identifiziert (GASKELL, 1993; NASISSE et al., 1993).

Treten nach experimenteller Infektion mit Chlamydien Symptome auf, dann zeigten die Katzen immer eine Konjunktivitis mit Augenausfluss (BAKER, 1944; CELLO, 1967; HOOVER et al., 1978; KOLAR & RUDE, 1981; GAILLARD et al., 1984; WILLS et al., 1987; KELLER, 1988; WASMOEN & WASMOEN, 1992; O'DAIR et al., 1994; TERWEE et al., 1998; MASUBUCHI et al., 2002). In der Regel sind beide Augen betroffen; vor allem zu Beginn kann sich eine unilaterale Konjunktivitis entwickeln (CELLO, 1967; CELLO, 1971a; HOOVER et al., 1978; KELLER, 1988; TERWEE et al., 1998; MASUBUCHI et al., 2002). Der mit einer Konjunktivitis assoziierte Augenausfluss tritt in unterschiedlichen

Schweregraden auf und variierte in der Konsistenz zwischen serös bis mukopurulent (Abbildung 3) (BAKER, 1944; CELLO, 1971a; MITZEL & STRATING, 1977; HOOVER et al., 1978; SHEWEN et al., 1980a; KOLAR & RUDE, 1981; GAILLARD et al., 1984; WILLS et al., 1987; WASMOEN & WASMOEN, 1992; O'DAIR et al., 1994; SYKES et al., 1999b; MASUBUCHI et al., 2002). Histologisch handelt es sich um eine neutrophile Entzündung der Konjunktiven, an der jedoch mit zunehmender Dauer eine steigende Anzahl an Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen beteiligt sind. Epithelzelldegeneration, Desquamation und Hyperplasie des Konjunktivalepithels treten auf (HOOVER et al., 1978). Fast genauso häufig liegt eine Chemosis vor (HOOVER et al., 1978; SHEWEN et al., 1980a; WILLS et al., 1987; O'DAIR et al., 1994; SYKES et al., 1999b; MASUBUCHI et al., 2002) sowie uni- oder bilateraler Blepharospasmus (GAILLARD et al., 1984; O'DAIR et al., 1994; SYKES et al., 1999b).

Die Kornea wird durch *C. felis* nicht verändert (CELLO, 1967). Dies ermöglicht in vielen Fällen die Abgrenzung zu Infektionen mit FHV. In den Fallberichten, die eine Beteiligung der Hornhaut schildern, war wahrscheinlich eine Koinfektion mit FHV vorhanden (EL-SHEIKH, 1978; TABATABAYI & RAD, 1981).



Abbildung 3: *C. felis*-induzierte Konjunktivitis mit sero-mukösem Augenausfluss, Hyperämie und Chemosis.

1.7.1.3 Symptome am Respirationstrakt

Neben der Konjunktivitis können Niesen und serös bis muko-purulenter Nasenausfluss vom unterschiedlichen Schweregrad auftreten (BAKER, 1944; MITZEL & STRATING, 1977; HOOVER et al., 1978; KOLAR & RUDE, 1981; GAILLARD et al., 1984; WILLS et al., 1987; WASMOEN & WASMOEN, 1992; O'DAIR et al., 1994; SYKES et al., 1999b; MASUBUCHI et al., 2002). Histologisch ist die nasale Mukosa mit neutrophilen Granulozyten infiltriert (BAKER, 1944; HOOVER et al., 1978; GAILLARD et al., 1984).

Einige Autoren berichten von gelegentlichem Husten (BAKER, 1942, 1944; KOLAR & RUDE, 1981; GAILLARD et al., 1984). Einige Studien beschreiben nach experimenteller Infektion makroskopische und histologische Hinweise einer Bronchopneumonie (GAILLARD et al., 1984). Katzen eines kanadischen Tierheims zeigten neben Konjunktivitis, Augen- und Nasenausfluss auch Husten. Bei einer Katze wurden Chlamydien aus Konjunktival- und Lungengewebe isoliert, in McCoy-Zellen angezüchtet und anschließend mittels IFT identifiziert (AYROUD et al., 1993). In der Studie von Hoover und Mitarbeiter (1978) waren nach experimenteller Infektion nur histologisch kleine Pneumonieherde nachweisbar, die keine klinischen Symptome verursachten (HOOVER et al., 1978). Eine intranasale Inokulation des Erregers hatte in anderen Studien keine Pneumonie zur Folge (SHEWEN et al., 1978a; SYKES et al., 1999b). In einer retrospektiven Studie von Bart und Mitarbeitern (2000), in der 245 Lungenproben von Katzen mit Pneumonie oder Konjunktivitis und Rhinitis auf Chlamydien untersucht wurden, konnten in keiner der Proben der Erreger nachgewiesen werden (BART et al., 2000).

1.7.1.4 Symptome am Genitaltrakt

C. felis steht im Verdacht, für Aborte, neonatale Sterblichkeit und Unfruchtbarkeit in Katzenzuchten verantwortlich zu sein. Der Beweis für einen kausalen Zusammenhang ist aber bisher nicht gelungen (SYKES, 2004). In einer Studie von Pointon und Mitarbeitern (1991) bestand kein statistisch signifikanter Unterschied in der Anzahl der Aborte und Unfruchtbarkeit zwischen Zuchten mit und ohne endemischer Chlamydieninfektion (POINTON et al., 1991).

Eine Erregerisolation aus der Vagina nach experimenteller Infektion ist allerdings möglich (WILLS et al., 1987; TERWEE et al., 1998; SYKES et al., 1999b). Die Ausscheidung führt nicht zu Symptomen einer Vaginitis; nur eine der Katzen wies

muko-purulentem Vaginalausfluss auf (SYKES et al., 1999b). Offenbar findet die Erregervermehrung im Genitaltrakt eher bei älteren Katzen statt, da es nur möglich war, nach experimenteller Infektion bei den vier bis sechs Monate alten Katzen die Erreger zu isolieren, nicht aber bei den 13 Wochen alten Welpen. Möglicherweise spielen Hormone eine Rolle, die das für die Replikation notwendige Milieu schaffen; bei den Welpen war dieses Milieu noch nicht im ausreichenden Maße vorhanden (TERWEE et al., 1998).

Die Infektionen des Genitaltraktes finden wahrscheinlich über den hämatologischen Weg statt, eine ascendierende Infektion über den Genitaltrakt ist eher unwahrscheinlich (SYKES et al., 1999b). Dass eine aufsteigende Infektion dennoch möglich ist, zeigt die experimentelle Infektion von Kätzinnen, die nach intravaginaler Applikation der Erreger vaginalen Ausfluss, Blutung und Schwellung der Genitalien zeigten (DAROUGAR et al., 1977a; EL-SHEIKH, 1978).

Eine zur Zeit der experimentellen Infektion mit Chlamydien trüchtige Katze brachte Welpen zur Welt, die keine Läsionen, weder in der klinischen noch in der pathologischen und histopathologischen Untersuchung, zeigten. Obwohl der Nachweis von *Chlamydomphila-psittaci*-spezifischer DNA mittels PCR aus Gewebeproben bei allen Welpen negativ verlief, waren die Erreger in der Plazenta von zwei Welpen, im Amnion eines Welpen und im Umbilicus eines weiteren Welpen vorhanden (SYKES et al., 1999b).

Kane und Mitarbeiter (1985) applizierten *C. felis* in die Ovidukte von acht Katzen. Laparoskopisch entnommene Gewebeproben zeigten eine Hyperämie mit im Epithel und im Stroma vorhandenen Leukozyten. Das in den Uterushörnern angesammelte Exsudat enthielt abgeschilferte Epithelzellen und polymorphkernige Leukozyten. Unbehandelt entwickelte sich nach drei Wochen eine chronische Entzündung mit Infiltration von polymorphkernigen und mononukleären Zellen (KANE et al., 1985).

Intraurethrale Installation führte bei Katern zur Urethritis mit Ausfluss aus der Urethra (DAROUGAR et al., 1977a; EL-SHEIKH, 1978). Bei einem mit dem felines Immunschwäche-Virus-infizierten (FIV) Kater mit Entzündung und hochgradiger Schwellung des Präputiums, der auch durch *C. felis* verursachte Konjunktivitis hatte, wurde *C. felis* aus Präputialabstrichen isoliert (HARTMANN, persönliche Kommunikation).

1.7.1.5 Weitere Manifestationen

Bei manchen Katzen scheinen Chlamydien eine Manifestation im Magen-Darm-Trakt zu entwickeln. So konnte bei der histopathologischen Untersuchung des Magens von 204 unselektierten Katzen in zwölf Fällen intrazelluläre Vakuolen nachgewiesen werden. In 25 % bis 50 % der oberflächlichen Magenmukosazellen waren diese Vakuolen vorhanden und enthielten verschieden große Strukturen, die als Elementarkörperchen, Retikularkörperchen und Initialkörperchen identifiziert wurden. Chlamydien konnten in keinem weiteren Organsystem nachgewiesen werden. Vorberichtlich war bei keiner der Katzen eine respiratorische Symptomatik bekannt. Die Katzen waren aus verschiedenen Ursachen euthanasiert worden (HARGIS et al., 1983).

Zur Bestätigung der Henle-Koch'schen Postulate infizierten Gaillard und Mitarbeiter (1984) zwölf Katzenwelpen mit aus der Magenmukosa isolierten Chlamydien. Alle Katzen entwickelten klinische Symptome mit Konjunktivitis, Augenausfluss unterschiedlichen Schweregrades, Rhinitis und eine milde Gastritis. Chlamydien waren in Konjunktivalzellen und in Nasenabstrichen vorhanden und konnten in sowohl aus *ante mortem* (Konjunktiva, Nase) als auch *post mortem* (Lunge, Magen) entnommenen Gewebeproben angezüchtet werden (GAILLARD et al., 1984). Um welche Chlamydien es sich dabei handelte, ist nicht bekannt. Seit der Publikation von Hargis und Mitarbeitern (1983) gilt der Gastrointestinaltrakt bei Katzen als potentielles Reservoir für Chlamydien (GAILLARD et al., 1984). Bestärkt wird die Hypothese, da es möglich ist, Chlamydien in rektal entnommenen Tupferproben nach experimenteller Infektion nachzuweisen (WILLS et al., 1987; O'DAIR et al., 1994; SYKES et al., 1999b). Dennoch war es nicht möglich, im Tierversuch bei klinisch kranken Katzen die Erreger in der Magenmukosa erneut darzustellen (GAILLARD et al., 1984; O'DAIR et al., 1994).

Ein weiterer seltsamer Fall ist in der Literatur beschrieben. Dickie und Sniff (1980) berichten von einer erwachsenen Katze, die mit Aszites vorgestellt wurde, welche als ein Exsudat mit Übergangszellen und Makrophagen klassifiziert wurde. Mittels Wright-Giemsa-Färbung war die Darstellung von intrazellulären Einschlusskörperchen möglich, die nach Anzucht in Hühnerembryonen als Chlamydien-Elementarkörperchen identifiziert wurden. In der Sektion waren fibrinöse Auflagerungen sowohl auf dem parietalen als auch viszeralen Blatt des Peritoneums vorhanden. Eine feline infektiöse Peritonitis wurde nicht sicher

ausgeschlossen (DICKIE & SNIFF, 1980). Seither wurden keine ähnlichen Fälle publiziert.

Bei der experimentellen Infektion von 13 Wochen alten Katzenwelpen und vier bis sechs Monaten alten Katzen mit verschiedenen Konzentrationen an Chlamydien (damals als „Cello strain von *Chlamydophila psittaci*“ bezeichnet) wurde bei elf der 21 Tiere eine milde Lahmheit dokumentiert. Diese trat zwischen Tag 15 und 21 nach Infektion auf und dauerte zwischen zwei und sechs Tagen. Aufgrund der in der Synovia vorhandenen aktivierten Makrophagen vermuten die Autoren, dass es sich um eine immunmedierte Reaktion handelt, ähnlich der beim Menschen beschriebenen reaktiven Arthritis (Reiter's Syndrom). Allerdings können andere Ursachen, wie die Replikation der Chlamydien oder Immunkomplexablagerungen im Gelenk nicht ausgeschlossen werden. Eine bei vielen experimentellen Tierversuchen durchgeführte Käfighaltung könnte möglicherweise dazu geführt haben, dass dieses Symptom aufgrund der milden Ausprägung nicht offensichtlich war und deshalb in anderen experimentellen Studien nie beschrieben wurde (TERWEE et al., 1998).

Möglicherweise kann *C. felis* zu systemischen Organmanifestationen und zu perakuten Todesfällen führen. Bei einer perakut verstorbenen Fischkatze (*Felis viverrina*) wurden Chlamydien durch einen direkten IFT und Anzuchtung aus Nieren- und Lebergewebe erwiesen. Klinisch fiel reduziertes Allgemeinbefinden, geringgradiger Tremor und Ikterus auf. Die histologischen Veränderungen belegten das Vorhandensein einer Pneumonie, einer Lebernekrose und renaler Blutungen mit glomerulären Fibringerinnseln (KIK et al., 1997).

Die Beteiligung von *C. felis* an der Ätiologie der felines plasmazellulären Pododermatitis konnte in einer Studie von Bettenay und Mitarbeiter (2007) nicht bestätigt werden. Dennoch wollten die Autoren die Möglichkeit nicht vollständig ausschliessen und empfehlen die Untersuchung von Gewebeproben in Kombination mit Antikörpertitern (BETTENAY et al., 2007).

1.7.1.6 Labordiagnostische Befunde

Eine Infektion mit *C. felis* hat *per se* keine Veränderungen im roten und weißen Blutbild zur Folge (HOOVER et al., 1978; TERWEE et al., 1998). Bei besonders schwer kranken Katzen kann es vereinzelt zur Neutrophilie mit Linksverschiebung kommen (HOOVER et al., 1978). Dennoch ging in der Studie von Hoover und Mitarbeiter (1978) nicht jede im Blutbild vorhandene

Leukozytose mit klinischen Symptomen einer Konjunktivitis einher (HOOVER et al., 1978) und kann möglicherweise als Stressleukogramm interpretiert werden. O'Dair und Mitarbeiter (1994) stellen einen moderaten Leukozytenanstieg zwischen Tag zehn und Tag 70 nach experimenteller Infektion fest (O'DAIR et al., 1994).

1.7.2 Symptome beim Menschen

Mehrere Beschreibungen von Chlamydieninfektionen von Katzen auf den Menschen, meist aber vor der Zeit der neuen Speziesdifferenzierung, so dass das zoonotische Potential von *C. felis* unklar ist (BROWNING, 2004). Verschiedene Symptome wurden mit diesen Chlamydien in Verbindung gebracht (Tabelle 5).

Die meisten Fallberichte sind über *C.-felis*-induzierter Konjunktivitis publiziert worden (OSTLER et al., 1969; SCHACHTER et al., 1969; DAROUGAR et al., 1978; BIALASIEWICZ & JAHN, 1986; JAHN & BIALASIEWICZ, 1986; SCHMEER et al., 1987; HARTLEY et al., 2001). 1969 erfolgte die Erstbeschreibung von einem an akuter folliculärer Konjunktivitis erkrankten Mannes. Zwei an Katzenschnupfen leidenden Katzen lebten im selben Haushalt. Der Erreger sowie Antikörper konnten beim Patienten und bei den Katzen nachgewiesen werden. Die Übertragbarkeit vom Menschen auf die Katze und *vice versa* bewiesen die Autoren mit einem experimentellen Versuch. Der Erreger wurde aus dem Auge des Patienten isoliert und angezüchtet. Damit wurden klinisch gesunde Versuchskatzen infiziert. Drei bis vier Tage nach Infektion konnten die gleichen Symptome (Konjunktivitis und muko-purulenter Augenausfluss) wie bei den im Haus lebenden Katzen beobachtet werden (OSTLER et al., 1969; SCHACHTER et al., 1969). Um welche Chlamydienart es sich handelte, ist unbekannt. Von einem ähnlichen Fall, einer Patientin mit akuter folliculärer Konjunktivitis, die vor Erkrankung eine an Katzenschnupfen erkrankte, zugelaufene Katze aufgenommen hatte, berichteten andere Autoren (BIALASIEWICZ & JAHN, 1986; JAHN & BIALASIEWICZ, 1986; SCHMEER et al., 1987). Ein Erregernachweis durch Anzucht in McCoy-Zellen und anschließender Gimenez-Färbung gelangt nicht. Mittels Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) und IgG-spezifischen IFT konnten in Serumproben der Katze und der Patientin Chlamydien-spezifische Antikörper nachgewiesen werden (JAHN & BIALASIEWICZ, 1986; SCHMEER et al., 1987). Eb und Mitarbeitern (1986) beschreiben einen Fall von Chlamydien-

Konjunktivitis des Menschen, in dem die Identifizierung eines felinen Chlamydienstamms durch molekularbiologische Methoden erfolgte (EB et al., 1986; SAYADA et al., 1994). Über eine chronische Konjunktivitis bei einem HIV-positiven Patienten berichteten Hartley und Mitarbeiter (2001). Die isolierten Erreger des Menschen und der Katzen im selben Haushalt wiesen eine identische *C. felis*-spezifische *omp2*-DNA-Sequenz auf (HARTLEY et al., 2001).

Eine Verbindung zwischen „feliner Pneumonitis“ und „atypischer Pneumonie“ beim Menschen wurde erstmals 1942 hergestellt (BAKER, 1942; BLAKE et al., 1942). Baker (1942) identifizierte Chlamydien durch Nachweis von Elementarkörperchen mittels Färbung nach Giemsa und Machiavello. Die Bindung von Antikörpern aus dem Serum erkrankter Katzen und Menschen an Elementarkörperchen aus infiziertem Lungengewebe bestätigte den kausalen Zusammenhang (BAKER, 1942). In einem weiteren Fallbericht über einen Patienten mit einem röntgenologisch konsolidiertem Lungenlappen wurde ein starker Anstieg von IgG und IgM gegen feline Chlamydien ermittelt. Die im Haushalt lebende, klinisch gesunde Katze konnte nicht untersucht werden (COTTON & PARTRIDGE, 1998). *C. felis* als Ursache von Pneumonien konnte in einer neueren Studie allerdings nicht bestätigt werden (MIYASHITA et al., 2005).

Darougar und Mitarbeiter (1978) berichten von einer Patientin mit nachgewiesener Chlamydien-bedingter Keratouveitis, bei der in einer nach dem plötzlichen Tod durchgeführte Sektion makroskopische und histologische Veränderungen an den Herzklappen und an den Gefäßen vorhanden waren. Obwohl kein Erregernachweis in den veränderten Organen nach der Sektion erfolgte, vermuteten die Autoren dennoch einen möglichen Zusammenhang (DAROUGAR et al., 1978).

Einen Fallbericht über einen Patienten mit Endokarditis und Glomerulonephritis, bei dem hohe IgG- und IgM-Titer gegen feline Chlamydien gemessen wurden, publizierten Regan und Mitarbeiter (1979). Eine Therapie mit Erythromycin und Doxycyclin führte zu einer Reduktion der Antikörper und zu einer Heilung der beiden Krankheiten. Aufgrund dessen vermuten die Autoren *C. felis* als kausalen Erreger (REGAN et al., 1979).

Bei einer Patienten (vorangegangene Nierentransplantation) mit zunehmend schlechterem Allgemeinbefinden, Husten und erhöhten Leberwerten konnten Antikörper gegen damals „*Chlamydia trachomatis* (Subgruppe A)“ und

„*Chlamydomphila psittaci* (Subgruppe B)“ nachgewiesen werden. Eine der drei im Haushalt lebenden Katzen wies ebenfalls Antikörper gegen Subgruppe A auf. Die Autoren vermuteten, dass die klinischen Symptome der Chlamydieninfektion durch immunsuppressive Therapie auftraten (GRIFFITHS et al., 1978).

Tabelle 5: *C.-felis*-induzierte Krankheiten beim Menschen (AK = Antikörper, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, IFT = Immunfluoreszenztest, KBR = Komplementbindungsreaktion, MIF = Mikroimmunfluoreszenztest)

Krankheit	Nachweis Menschen	Nachweis Katzen	Autor
atypische Pneumonie	AK (KBR)	Erreger (Färbung nach Giemsa und Machaviello), AK (KBR)	BAKER, 1944
	kein Nachweis	kein Nachweis	BLAKE et al., 1942
	AK (MIF)	kein Nachweis	COTTON & PARTRIDGE, 1998
Konjunktivitis	Erreger (Färbung nach Giemsa, IFT), AK (KBR)	Erreger (Färbung nach Giemsa, IFT), AK (KBR)	OSTLER et al., 1969; SCHACHTER et al., 1969
	Erreger (Färbung nach Gimenez), AK (IFT, ELISA)	Erreger (Färbung nach Gimenez), AK (IFT, ELISA)	JAHN & BIALASIEWICZ, 1986; SCHMEER et al., 1987
	Erreger (MIF), AK (Isolierung, IFT, PCR)	Erreger (MIF), AK (Isolierung, IFT, PCR)	HARTLEY et al., 2001
Konjunktivitis und Endokarditis	Erreger (Isolierung, IFT), AK (MIF)	keine Angaben	DAROUGAR et al., 1978
Endokarditis und Glomerulonephritis	AK (KBR, MIF)	-	REGAN et al., 1979
ungewöhnliche Chlamydieninfektion	AK (KBR, MIF)	AK (MIF)	GRIFFITHS et al., 1978

1.8. Diagnose

Da die Diagnosestellung anhand der klinischen Symptomatik nicht möglich ist, werden verschiedene diagnostische Nachweisverfahren herangezogen.

1.8.1 Indirekte Nachweisverfahren

Der Nachweis von Antikörpern ist mit verschiedenen Tests möglich (Abbildung 4). Das Vorhandensein von Antikörpern belegt immer nur einen zurückliegenden Erregerkontakt.

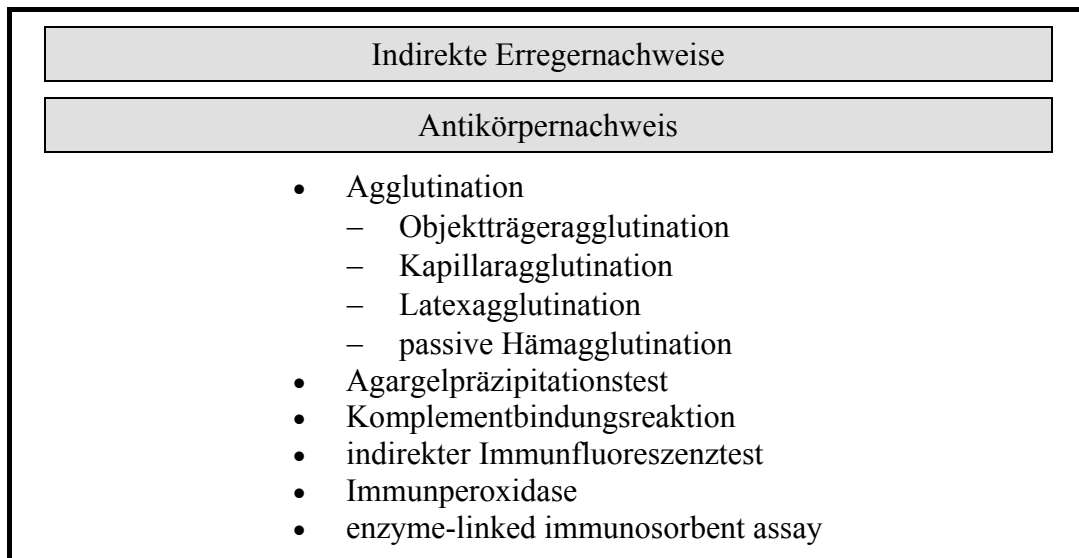


Abbildung 4: Mögliche diagnostische Verfahren zum indirekten Nachweis von Chlamydien (nach SELBITZ, 2002)

1.8.1.1 Enzyme-linked immunosorbent assay

Ein von Schmeer und Mitarbeiter (1983) entwickelter ELISA zum Nachweis von humanen Chlamydien-Antikörpern wird für den Einsatz in der Veterinärmedizin durch Werth und Mitarbeiter (1987) modifiziert (SCHMEER et al., 1983; WERTH et al., 1987). Der in Buffelo-Green-Monkey-Zellen damals vermehrter „*Chlamydophila-psittaci*“-Schafabort-Stamm 53 dient als Antigen. Zum Nachweis feliner Antikörper wird ein gegen Katzen-IgG(H+L) gerichtetes Antiserum in Kaninchen hergestellt. Im Vergleich zur Immunperoxidase-Technik, KBR und Agargelpräzipitationstest zeigt der ELISA bei gleicher Spezifität eine deutlich höhere Sensitivität (WERTH et al., 1987). Ein anderer für die Humanmedizin entwickelter ELISA zum Nachweis von *Chlamydophila psittaci*

wird durch Wasmoen und Wasmoen (1992) mit einem zweiten Anti-Katzen-IgG-Antikörper ergänzt (WASMOEN & WASMOEN, 1992).

1.8.1.2 Western Blot

Der Western Blot erlaubt neben dem Nachweis von Antikörpern eine zusätzliche Differenzierung von IgM und IgG (TERWEE et al., 1998). Es werden Antikörper gegen MOMP, 58-60 Kilo-Dalton (kDA)-, 45 kDA-, 42 kDA-, 32 kDA- und 16-19 kDA-Proteine nachgewiesen (TERWEE et al., 1998).

1.8.1.3 Komplementbindungsreaktion

Die KBR ist eine beliebte Methode, die Anwendung in vielen Studien fand (MCKERCHER, 1952; CASEY, 1965; FRIIS, 1967; STUDDERT & MARTIN, 1970; CELLO, 1971b; POVEY & JOHNSON, 1971; SIXL et al., 1973; SCHMATZ et al., 1977; KNECHT, 1979; STUDDERT et al., 1981; LAZAROWICZ et al., 1982; FUKUSHI et al., 1985; WERTH et al., 1987). Der Nachweis von KBR-Antikörpern bei experimentell infizierten Katzen gelingt jedoch in einigen Untersuchungen nur unzuverlässig oder gar nicht (MCKERCHER, 1952; CELLO, 1971b; MITZEL & STRATING, 1977; SHEWEN et al., 1980a; WILLS et al., 1987). Die KBR gilt daher als unzuverlässiger Test zum Nachweis von *C. felis*-Antikörpern (WILLS et al., 1987).

1.8.1.4 Indirekter Immunfluoreszenztest

Die zur Diagnostik beim Menschen entwickelte Methode wurde von Wills und Mitarbeitern (1984) für die Veterinärmedizin modifiziert. Tetrafluoroethylenebehandelte Objektträger werden mit McCoy-Zellen beschichtet, die mit einem ovinem *Chlamydophila psittaci* beimpft werden. Die nach Inkubation vorhandenen Einschlusskörperchen dienen als Antigen. Für den indirekten IFT wird das zu untersuchende Serum mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung verdünnt und auf die Zellen pipetiert. Nach Inkubation und Reinigung mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung erfolgt die Beschichtung der Zellen mit Fluoreszein-konjugierten Kaninchen-Anti-Katzen-Antikörpern. Die Fluoreszenz kann nach erneuter Inkubation und Reinigung unter einem Dunkelfeldmikroskop ausgewertet werden (RICHMOND & CAUL, 1975; WILLS et al., 1984). Nach experimenteller Infektion sind hohe Antikörpertiter mit dieser Methode

nachweisbar (WILLS et al., 1987). Der indirekte IFT gilt als zuverlässige Methode zum Nachweis von Antikörpern gegen feline Chlamydien (DI FRANCESCO et al., 2004a).

1.8.2 Direkte Nachweisverfahren

Es gibt verschiedene Methoden zum direkten Nachweis von Chlamydien (Abbildung 5).

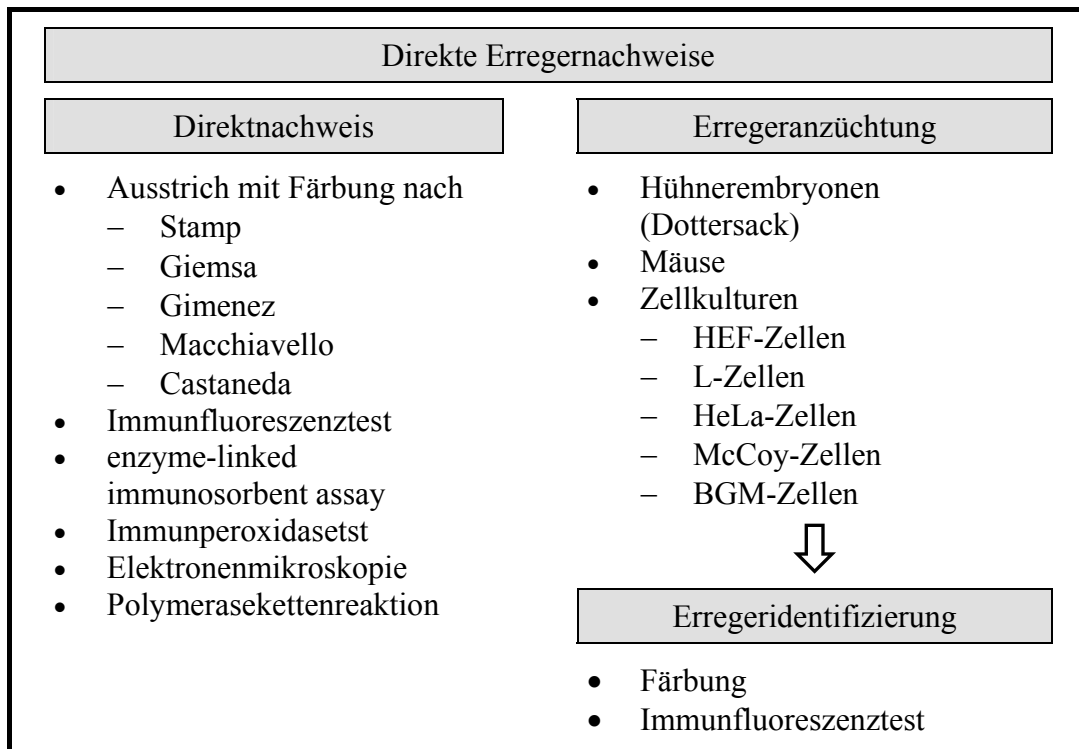


Abbildung 5: Diagnostische Verfahren zum direkten Nachweis von Chlamydien (nach SELBITZ, 2002) (BGM-Zellen = Buffelo-Green-Monkey-Zellen, HEF-Zellen = humane Embryo-Fibroblasten-Zellen, L-Zellen = Leydig-Zellen)

1.8.2.1 Direktausstriche

Die schnellste und einfachste Methode ist der Nachweis von intrazytoplasmatischen Einschlusskörperchen in Konjunktivalzellen. Die mit einem scharfen Löffel entnommenen Konjunktivalzellen werden auf einen Objektträger übertragen, vorsichtig ausgestrichen, getrocknet und anschließend gefärbt (CELLO, 1967; CELLO, 1971a; RAMSEY, 2000). Mit verschiedenen Methoden ist die Anfärbung der Elementarkörperchen und Initialkörperchen möglich (Tabelle 6). Zur Demonstration beider Stadien sind die Färbung nach Giemsa oder die modifizierte Wright-Giemsa-Färbung (Quick-Diff) am besten

geeignet (HIRSH & BIBERSTEIN, 2004). Unter dem Lichtmikroskop erscheinen die Erreger als angefärbte, intrazelluläre Einschlüsse (RAMSEY, 2000). In der Regel treten sie bei akuten Infektionen zwischen zwei und neun Tagen nach Beginn der klinischen Symptome auf, sind aber nicht in jedem Fall vorhanden (HOOVER et al., 1978; WILLS, 1986). Obwohl in einer Studie die Präsenz von Einschlusskörperchen bis 50 Tage *post infectionem* dokumentiert wurde, ist die Wahrscheinlichkeit, diese bei chronischen Infektionen zu finden eher gering (CELLO, 1971a; MARTIN, 1989; DORIN et al., 1993; NASISSE et al., 1993). Sogenannte „blue bodies“, die durch lokale Anwendung von zum Beispiel Neosporin entstehen, oder in den Konjunktivalzellen vorhandene Melaningranula, können als Elementarkörperchen fehlinterpretiert werden (STREETEN & STREETEN, 1985; WILLS et al., 1986; VON BOMHARD et al., 2003).

Tabelle 6: Anfärbung der Elementar- und Initialkörperchen durch verschiedene Färbemethoden (nach HIRSH & BIBERSTEIN, 2004)

Färbung	Elementarkörperchen	Initialkörperchen
Macchiavello	rot	brau
Gimenez	rot	grün
Castaneda	brau	rötlich
Giemsa	rötlich/pink	braun

1.8.2.2 Immunfluoreszenztest von Dirktausstrichen

Eine weitere Möglichkeit des direkten Erregernachweises ist die Anfärbung eines Konjunktivalabstrichs mittels Immunfluoreszenz. Nasisse und Mitarbeiter (1993) färbten azetonfixierte Direktausstriche von Konjunktivaltupfern mit einem polyklonalen Antiserum (FHV und *Chlamydomphila psittaci*). Der Nachweis gelang bei 18 % der an Konjunktivitis erkrankten Katzen (NASISSE et al., 1993).

1.8.2.3 Enzyme-linked immunosorbent assay

Im Handel sind eine Reihe kommerzieller Antigen-ELISA mit Spezies-spezifischen Antikörpern zum Nachweis von humanen *Chlamydia trachomatis* erhältlich. Wills und Mitarbeiter (1986) testeten einen kommerziellen humanen Testkit bei experimentell infizierten Katzen und bei eingesendeten Tupferproben, der Genus-spezifische monoklonale Antikörper gegen LPS von *Chlamydia*

trachomatis und *Chlamydophila psittaci* enthält. Dazu wurden die Proben im Transportmedium des Tests aufbereitet und anschließend nach den Anweisungen des Herstellers weiterverarbeitet. Das kommerzielle Testsystem erwies sich als zuverlässig beim Nachweis von akuten *C. felis*-Infektionen, auch bei nicht mehr lebenden Organismen. Dennoch war die Zellkultur sowohl in der Sensitivität als auch der Spezifität dem ELISA überlegen (WILLS et al., 1986).

1.8.2.4 Erregeranzüchtung

Eine erfolgreiche, aber inzwischen veraltete Methode ist die Erregerkultivierung im Dottersack embryonierter Hühnereier (STORZ, 1971a). Isolate, die eine Sulfadiazinresistenz zeigten, wurden als *C. felis* identifiziert (STORZ, 1971a; SHEWEN et al., 1980b).

Die gängigste Methode zur Erregerisolierung ist die von Wills und Mitarbeitern (1984) beschriebene Anzucht in McCoy-Zellen. Die präparierten McCoy-Zellen werden als Monolayer auf Glasplatten aufgetragen und in mehreren Arbeitsschritten mit den Erregern beimpft und inkubiert (RICHMOND, 1974; PAUL, 1982; WILLS et al., 1984). Anschließend dient ein IFT zur Erregeridentifikation (WILLS et al., 1984; WILLS et al., 1986; WILLS et al., 1988). Diese Methode zeigte im Vergleich zum Antigen-ELISA eine bessere Sensitivität (WILLS et al., 1986). Da für eine Anzucht in Zellen nur lebensfähige Erreger geeignet sind, ist die Sensitivität im Vergleich zur PCR geringer (MCDONALD et al., 1998).

Iwamoto und Mitarbeiter (2001) verwendeten anstelle von McCoy-Zellen Mäuse-L-Zellen der Sublinie L929. Nach Anzucht erfolgt die Identifikation mittels IFT (IWAMOTO et al., 2001). Im Vergleich mit der PCR konnte eine gleiche Spezifität, aber eine geringere Sensitivität festgestellt werden, da eine in der Anzuchtung negative Probe in der PCR positiv war (MCDONALD et al., 1998; IWAMOTO et al., 2001).

1.8.2.5 Polymerasekettenreaktion

Die PCR ist billiger und weniger zeitintensiv als die Zellkultur (SYKES et al., 1997; MCDONALD et al., 1998). Eine höhere Sensitivität wird erzielt, da bereits der Nachweis von sehr wenigen und nicht mehr lebensfähigen Erregern möglich ist (MCDONALD et al., 1998; SYKES et al., 1999b; HELPS et al., 2001). Zudem ist kein spezielles Transportmedium zum Versand notwendig (SPENCER &

JOHNSON, 1983). Die für die *C. felis*-PCR verwendeten Primer und Probes sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: In PCR verwendete Primer, deren Sequenzen und Genregionen (BHQ1 = black hole quencher, *C. felis* = *Chlamydomophila felis*, DABCYL = 4-(4'-dimethylaminophenylazo)-Benzoessäure, FAM = Carboxyfluorescein, for = forward, FQ = fluorescently quenched, rDNA = ribosomale Desoxiribonukleinsäure, rev = reverse)

Primer	Sequenzen der Primer und Probes	Genregion	Autor
<i>C. felis</i> for	5'-ATGAAAAAACTCTTGAAATCGG-3'	-	SYKES et al., 1997; MCDONALD et al., 1998;
<i>C. felis</i> for	5'-CAAGATTTTCTAGACTTCATTTTGT-3'	-	SYKES et al., 1999b; SYKES et al., 2001
<i>C. felis</i> for2	5'-AGTATGAAAAAACTCTTAAAAATCGG-3'	-	MCDONALD et al., 1998
<i>C. felis</i> A	5'-CAAGCTTTTCTAGACTTCATTTTGT-3'	-	
<i>C. felis</i> for	5'-ATGCTTGTCCATACATTGGGG-3'	965 – 986	
<i>C. felis</i> rev	5'-TCCTAAAAGAGTTGGGTTCCAGG-3'	1071 – 1093	
<i>C. felis</i> molecular beacon	5'-FAM-CGGCGACACTATCCGCAT TGCTCAACCGCCG-DABCYL-3'	1016 – 1038	HELPS et al., 2001
<i>C. felis</i> for	5'-GAACTGCAAGCAACACCACTG-3'	281 – 301	
<i>C. felis</i> rev	5'-CCATTCGGCATCTTGAAGATG-3'	357 – 337	HELPS et al., 2003; DEAN et al., 2005;
<i>C. felis</i> FQ	5'-6-FAM-CGCTGCCGACAGATCA AATTTGCC-BHQ1-3'	303 – 327	HELPS et al., 2005
28S rDNA for	5'-CGCTAATAGGGAATGTGAGCTAGG-3'	663 – 686	
28S rDNA rev	5'-TGCTGAACCTCCAGTTTCTCTGG-3'	783 – 760	HELPS et al., 2003
28S rDNA molecular beacon	5'-Texas red-CGCGCACCCCTACTGATGAT GTGTTGTTGCCCGCCG-DABCYL-3'	716 – 740	
Cat 28S rDNA for	5'-CGCTAATAGGGAATGTGAGCTAGG-3'	521 – 540	
Cat 28S rDNA rev	5'-TGCTGAACCTCCAGTTTCTCTGG-3'	600 – 620	DEAN et al., 2005;
Cat 28S rDNA FQ	5'-Texas red-CGCGCACCCCTACTGATGAT GTGTTGTTGCCCGCCG-DABCYL-3'	557 – 577	HELPS et al., 2005

Die ersten PCR wurden zur Chlamydien-Typisierung entwickelt. Zur Identifizierung dient das *ompA*-Gen. Nach Vervielfältigung der *ompA*-Sequenz schneiden Endonukleasen das *Alu*-I-Restriktionsmuster aus den Amplifikaten. Die Darstellung erfolgt mittels Gelelektrophorese. Das *Alu*-I-Restriktionsmuster ist bei allen untersuchten *C. felis*-Isolaten identisch und unterscheidet sich von *ompA*-Genen anderer Chlamydienstämme. Als Untersuchungsmaterial in verschiedenen Studien dienten aus den Vereinigten Staaten, Großbritannien, Frankreich und Japan gesammelte und auf Zellkulturen gezüchtete Feldisolate der vergangenen 50 Jahre (DENAMUR et al., 1991; KALTENBOECK et al., 1992; SAYADA et al., 1994).

Sykes und Mitarbeiter (1997) führten die erste Studie bei eingesendetem Probenmaterial durch. Zur Amplifizierung wurde die von Denamur und Mitarbeitern (1991) beschriebenen Gensequenzen verwendet. Die Autoren wählten zwei Restriktionsenzyme (*Alu* I und *Mse* I) zur Identifizierung von *C. felis* aus. Dreizehn Prozent der eingesendeten Tupferproben waren bei der Untersuchung positiv (SYKES et al., 1997). Die PCR war 1,5 mal so sensitiv wie die Untersuchung mittels Zellkultur (SYKES et al., 1999b). McDonald und Mitarbeiter (1998) zeigten hingegen, dass im Vergleich zur Erregerisolierung die von Sykes und Mitarbeitern (1997) entwickelte PCR weniger sensitiv war (SYKES et al., 1997; MCDONALD et al., 1998). Als Ursache wurde die Verwendung der Primer angesehen, die von einem aviären *Chlamydochlamydia psittaci*-Stamm (6BC) abgeleitet wurden. Mit Primern, die aus Gensequenzen eines feline FEPN-Stamms synthetisiert wurden, und nach einer Änderung in der Extraktionsmethodik, konnte die Sensitivität um das 1250-fache im Vergleich zum ursprünglichen Protokoll gesteigert werden (MCDONALD et al., 1998).

Die Entwicklung der Real-Time-PCR ermöglicht zusätzlich eine Quantifizierung der in der Probe enthaltenen Erreger (HELPS et al., 2001). Helps und Mitarbeiter (2001) verwendeten neben zwei Primern mit Gensequenzen eines feline Chlamydienstamms (*C. felis* for und *C. felis* rev) zusätzlich einen fluoreszierenden Primer (*C. felis* molecular beacon). Diese Methode ermöglichte die Reduktion von falsch positiven Ergebnissen mit gleichzeitiger Quantifizierung zur Beurteilung des Infektionsverlaufs und zur Kontrolle des Therapieerfolgs (HELPS et al., 2001; DEAN et al., 2005).

Eine Besonderheit der Multiplex-Real-Time-PCR von Helps und Mitarbeitern (2003, 2005) ist den Nachweis von 28S ribosomaler Desoxyribonucleinsäure aus

felines Konjunktivalzellen. Die PCR ermöglicht die Überprüfung der eingesendeten Tupferproben auf ausreichend vorhandenes Probenmaterial mit gleichzeitiger Kontrolle von falsch negativen Ergebnissen (HELPS et al., 2003; HELPS et al., 2005).

1.9. Therapie

Chlamydien sind intrazelluläre Organismen. Deshalb sind nur wenige Antibiotika zur Therapie geeignet. Tetracycline, Erythromycin, Rifampicin, Fluorochinolone und Azithromycin gelten als wirksam zur Behandlung von Chlamydien-Infektionen (STAMM & HOLMES, 1986). Eine Übersicht über empfohlene Therapieschemata von *C.-felis*-Infektionen bei der Katze sind in Tabelle 8 dargestellt.

1.9.1 Tetracycline

Die ersten Vertreter der Tetracycline, das Aureomycin (Chlortetracyclin) und das Terramycin (Oxytetracyclin), wurden 1948 und 1950 entwickelt (DUGGAR, 1948; FINLAY et al., 1950). Durch katalytische Hydrierung aus dem ursprünglichen Tetracyclin wurde Achromycin (Tetracyclin) entwickelt (CONOVER et al., 1953). Die Umbenennung in die heute gebräuchlichen Namen erfolgte nach der Aufdeckung der chemischen Strukturen der drei Tetracycline (BOOTHE et al., 1953). Die Tetracycline gelten als Mittel der Wahl zur Therapie der felines Chlamydiose (SANDE & MANDELL, 1980).

1.9.1.1 Wirksamkeit

Aus der Gruppe der Tetracyclin-Antibiotika werden Tetracyclin, Oxytetracyclin und Doxycyclin am häufigsten verwendet.

1.9.1.1.1 Tetracyclin

In einer randomisierten Studie von Darougar und Mitarbeiter (1981) wurden 41 Patienten mit *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen der Augen mit Tetracyclin-haltigen Augentropfen (1-%ig) über einen Zeitraum von sechs Wochen behandelt. Bei Kontrolluntersuchungen nach acht bzw. zwölf Wochen waren keine klinischen Symptome bei 36 Patienten (88 %) bzw. bei 33 Patienten (80 %) festzustellen. *Chlamydia trachomatis* konnte bei einem Patienten (2 %) nach sechs Wochen (unmittelbar nach Therapieende), bei zwei Patienten (5 %) nach

acht Wochen und bei drei Patienten (7 %) nach zwölf Wochen nachgewiesen werden. Im Vergleich zu Rifampicin zeigte Tetracyclin eine statistisch signifikant bessere Wirkung bezüglich der Verbesserung der klinischen Symptome ($p < 0,001$), allerdings war kein Unterschied ($p > 0,2$) im Hinblick auf die Erregerelimination zu verzeichnen (DAROUGAR et al., 1981).

Es wurden keine Studien über den Behandlungserfolg mit Tetracyclin bei Katzen durchgeführt. Bisher ist Fallbericht publiziert, in dem eine zwei-Monate alte Katze, die eine mittels PCR nachgewiesene *C. felis*-induzierte Konjunktivitis hatte, mit Tetracyclin-haltigen Augentropfen (1-%ig) alle zwölf Stunden über 60 Tage behandelt wurde. Obwohl am Ende der Studie keine klinischen Symptome mehr vorhanden waren und die PCR der Konjunktivaltupferprobe negativ war, kam es 40 Tage später zu einem Rückfall. Die anschließende Behandlung mit Doxycyclin (10 mg/kg alle 24 Stunden) für 20 Tage hatte eine vollständige Erregerelimination zur Folge. Konjunktivaltupferproben blieben bis zum Ende des Beobachtungszeitraums von 240 Tagen PCR negativ (DONATI et al., 2005).

Empfehlungen zur Dosierungen in der Literatur basieren auf Ergebnisse aus humanmedizinischen Studien oder aus empirisch erhobenen Daten. Konjunktividen sollen demnach gut auf Tetracyclin-haltige Augentropfen ansprechen, die drei bis vier mal täglich angewendet werden (RAMSEY, 2000; GREENE, 2006a; STILES, 2006). Die Tropfen sollten bei Hypersensibilität gegen das Medikament abgesetzt werden (RAMSEY, 2000). Eine systemische Behandlung ist zur erfolgreichen Elimination von Carrierstadien und zur Verhinderung einer systemischen Ausbreitung der Erreger notwendig (KELLER, 1988; DORIN et al., 1993; GREENE, 2006a). Therapeutisch wird eine orale Applikation von 22 mg/kg Tetracyclin alle acht Stunden über einen Zeitraum von drei bis vier Wochen empfohlen (DORIN et al., 1993; GREENE, 2006a). In Katzenkolonien sollte die Therapiedauer auf sechs bis acht Wochen ausgedehnt werden (GREENE, 2006a).

1.9.1.1.2 Oxytetracyclin

Oxytetracyclin wurde in einer Studie mit zwölf Katzen in einer Dosierung von 50 mg/Katze alle zwölf Stunden über 60 Tage angewendet. Sechs der Katzen wurden mit FIV infiziert (Gruppe A), die anderen sechs Katzen dienten als Kontrollgruppe (Gruppe B). Alle Katzen entwickelten klinische Symptome nach experimenteller Infektion mit *C. felis*. Bei den Katzen aus Gruppe B waren nach

109 Tagen auch ohne Behandlung keine Symptome mehr vorhanden; *C. felis* wurde bis Tag 70 aus Konjunktivaltupfern isoliert. Alle FIV-infizierten Tiere zeigten erst eine Verbesserung der klinischen Symptome nach Behandlungsbeginn, wobei ein gutes Ansprechen auf das Medikament beobachtet wurde. Nach 30 Tagen zeigte sich eine deutliche Besserung der klinischen Symptome und nach weiteren 30 Behandlungstagen waren keine Anzeichen einer Erkrankung mehr vorhanden (O'DAIR et al., 1994).

Eine Kombination aus lokaler und systemischer Applikation wird ebenfalls empfohlen (GASKELL, 1993). Liegt nur eine Konjunktivitis vor, können Oxytetracyclin-haltige Augentropfen ohne systemische Antibiotika drei- bis viermal täglich für mindestens drei Wochen bzw. zwei Wochen über das Vorhandensein von klinischen Symptomen angewendet werden (KELLER, 1988; GASKELL, 1993).

1.9.1.1.3 Doxycyclin

Doxycyclin wurde in einigen kontrollierten Studien zur Therapie von *C.-felis*-Infektionen eingesetzt (SPARKES et al., 1999; SYKES et al., 1999b; DEAN et al., 2005). Hinsichtlich der Dauer der Behandlung mit Doxycyclin gibt es unterschiedliche Ansichten, so dass Sykes und Mitarbeiter (1999) die Frage klären wollten, bis zu welchem Tag *C. felis* unter Therapie mit Doxycyclin nachweisbar ist und in wiefern dadurch die Therapiedauer beeinflusst wird. Acht spezifisch-Pathogen-freie (SPF) Katzen wurden mit *C. felis* experimentell infiziert und anschließend vier der Katzen mit 5 mg/kg Doxycyclin per os alle zwölf Stunden über einen Zeitraum von 35 Tagen behandelt. Die anderen vier Katzen dienten als Kontrolle und blieben unbehandelt. Die klinischen Symptome waren durchschnittlich 9,3 Tage vorhanden, wobei bereits innerhalb der ersten drei Tage nach Therapiebeginn eine deutliche Verbesserung zu verzeichnen war. Erreger waren durchschnittlich über einen Zeitraum von acht Tagen mittels PCR und fünf Tage mittels Anzucht in der Zellkultur nachweisbar. Bei allen behandelten Katzen konnte bis zum Ende der Studie (Tag 64) weder mittels PCR noch mittels Zellkultur *C. felis* erneut nachgewiesen werden (SYKES et al., 1999b).

Eine zweite Studie von Dean und Mitarbeitern (2005) beschäftigte sich mit der Fragestellung, ob eine Therapiedauer von sieben oder 14 Tagen zur Elimination von *C. felis* ausreichend ist. Nach der experimentellen Infektion von 15 SPF Katzen mit *C. felis* wurden vier Katzen der Gruppe A (unbehandelte Kontrolle),

sechs Katzen der Gruppe B (10 mg/kg Doxycyclin alle 24 Stunden per os über sieben Tage) und fünf Katzen der Gruppe C (10 mg/kg Doxycyclin alle 24 Stunden per os über 14 Tage) zugeordnet. Bei den Katzen der Gruppe B kam es bis zum letzten Behandlungstag zu einer Verbesserung der klinischen Symptome und zu einem negativen PCR-Ergebnis bei drei der Katzen. Ein Rückfall mit der Entwicklung von klinischen Symptomen und einem erneuten Nachweis der Erreger mittels PCR war ab Tag 18 zu beobachten. Die Behandlungsdauer von 14 Tagen führte zu einer Verbesserung der klinischen Symptome und zu einer negativen PCR bei allen Katzen aus Gruppe C. Die PCR war bei zwei Katzen bereits am letzten Behandlungstag negativ, während die drei anderen Katzen erst drei Tage nach Behandlungsende ein negatives Ergebnis zeigten. Wie in Gruppe B kam es auch hier zu einem Rückfall, der mit der erneuten Entwicklung von klinischen Symptomen und dem positiven Nachweis von *C. felis* in der PCR kurz nach Therapieende einherging. In beiden Gruppen wurde eine „Rettungsbehandlung“ mit 10 mg/kg Doxycyclin alle zwölf Stunden per os für 21 Tage in Gruppe B und 28 Tage in Gruppe C eingeleitet. Nach sieben Tagen waren keine Erreger mehr nachweisbar und alle Katzen blieben bis zum Ende der Studie (100 Tage) sowohl symptom- als auch erregerefrei (DEAN et al., 2005).

Bezüglich der Dauer der Behandlung wird in der Literatur empfohlen, Doxycyclin über einen Zeitraum von drei bis vier Wochen zu verabreichen (RAMSEY, 2000; SYKES, 2004; SYKES, 2005; GREENE, 2006a). In zwei Studien wurde eine Therapiedauer von 21 Tagen als wirksam empfohlen (SYKES et al., 1999b; GERHARDT et al., 2006). Eine andere Studie besagt hingegen, dass 21 Tage nicht ausreichend sind und besser über einen Zeitraum von mindestens 28 Tagen behandelt werden sollte (DEAN et al., 2005). In Katzenkolonien mit endemischer Chlamydieninfektion sollte die Therapie sechs bis acht Wochen durchgeführt werden und sollte alle Katzen des Haushaltes betreffen (DAWSON & WILLOUGHBY, 1999; WATERS & BARNETT, 2004; GREENE, 2006a). Klinische Symptome können selbst nach einer Therapiedauer von sieben Wochen wieder auftreten, obwohl eine Ausscheidung von infektiösen Elementarkörperchen ab Tag sechs bis sieben nach Therapiebeginn nicht mehr nachgewiesen werden kann (SYKES et al., 1999b, OWEN et al., 2003; SYKES, 2004). Der Therapieerfolg zur Elimination des Erregers kann bei chronischen Infektionen häufig ungenügend sein; dies kann am Beispiel der Chlamydien-induzierten Arthritis des Menschen gezeigt werden (LEIRISALO-REPO, 1993).

Doxycyclin ist im Vergleich zu anderen Tetracyclin-Derivaten lipophiler, wodurch eine verbesserte Gewebepenetration und ein größeres Verteilungsvolumen erreicht wird. Mit der Ausscheidung über den Kot als inaktives Konjugat oder Chelat wird der Einfluss auf die gastrointestinale Flora minimiert (RIVIERE & SPOO, 2001). Durchfall und Dysbakterie treten durch eine bessere Resorption seltener auf. Eine verlängerte Halbwertszeit macht eine Verabreichung alle zwölf bis 24 Stunden möglich (SHEWEN et al., 1978a; GREENE, 1998; SYKES, 2004). Die in Studien angewendete und in der Literatur empfohlenen Dosierungen liegen zwischen 5 – 10 mg/kg bei zweimal täglicher Verabreichung und 10 – 15 mg/kg bei einmal täglicher Applikation.

Sparkes und Mitarbeiter (1999) wollten die Frage klären, welche Behandlungsmethode besser ist, da sowohl Augentropfen, systemische Therapie als auch die Kombination aus beiden empfohlen wurde. Dazu wurden 24 SPF Katzen experimentell infiziert und anschließend vier Behandlungsgruppen mit jeweils sechs Katzen gebildet. Bei Katzen aus drei Behandlungsgruppen wurden beide Augen mit jeweils 200 – 300 µl Augentropfen alle zwölf Stunden behandelt. Katzen aus Gruppe P erhielten Tränenersatzflüssigkeit als Placebo, Katzen aus Gruppe C Chlortetracyclin (1-%ig) und Katzen aus Gruppe F Fusidinsäure (1-%ig). Katzen der Gruppe D wurden mit 10 mg/kg alle 24 Stunden per os kombiniert mit Fusidinsäure-haltigen Augentropfen (1-%ig) alle zwölf Stunden lokal therapiert. Die Dauer der Behandlung betrug vier Wochen. Eine statistisch signifikante Verbesserung der klinischen Symptome wurde innerhalb der ersten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn in Gruppe C und D im Vergleich zu Gruppe F und P beobachtet ($p \leq 0.011$). Gruppe C hatte zwar durchschnittlich höhere „clinical scores“ als Gruppe D, allerdings handelte es sich nur um einen Trend, der nicht statistisch signifikant war. Durchschnittlich konnte mit Doxycyclin eine Erregerelimination nach elf Tagen und mit Chlortetracyclin nach 16 Tagen erzielt werden. Bei acht der zwölf Katzen aus Gruppe F und P wurden am Ende der Studie (Tag 35) immer noch *C. felis* isoliert. Doxycyclin zeigte im Bezug auf die Erregerelimination eine statistisch signifikant besser Wirkung als Fusidinsäure oder Tränenersatzflüssigkeit ($p = 0,0003$). Die Autoren vermuten, dass die systemische Behandlung gegenüber Augentropfen alleine überlegen ist (SPARKES et al., 1999).

1.9.1.2 Nebenwirkungen der Tetracycline

Tetracycline gelten, trotz ihrer zahlreichen Nebenwirkungen, als eine sichere Klasse an Antibiotika (RIVIERE & SPOO, 2001).

1.9.1.2.1 Gastrointestinale Nebenwirkungen

Zu den am häufigsten gemeldeten Nebenwirkungen der Tetracycline bei Tieren zählen Durchfall und Erbrechen, die vor allem nach oraler Verabreichung auftreten (WILKINSON, 1968; RIVIERE & SPOO, 2001). Als Hauptursachen werden Schleimhautreizung oder Veränderungen der Flora im Magen-Darm-Trakt vermutet (OPPERBECK, 1971; ARONSON, 1980). Der Effekt von Doxycyclin auf die intestinale bakterielle Besiedlung ist im Vergleich zu Tetracyclin weniger ausgeprägt (HINTON, 1970; BARTLETT et al., 1975).

1.9.1.2.2 Zahnverfärbungen

Tetracycline bilden unlösliche Chelate mit bi- und trivalenten Kationen, wie Magnesium, Calcium und Aluminium (WEINBERG, 1957). Komplexe mit Calcium werden in Zähne, Knochen und Knorpel eingelagert (FINERMAN & MILCH, 1963; MADISON, 1963; FRANKEL & HAWES, 1964; BEVELANDER & NAKAHARA, 1965; HENNON, 1965; HAMP, 1967; EISENBERG, 1975; DHEM et al., 1976; ULVESTAD et al., 1978). Die Einlagerung der Tetracycline findet vor allem während der Mineralisationsphase statt (BEVELANDER & NAKAHARA, 1965). Der D-Ring des Tetracyclinkerns wird über Calcium entweder an den Phosphatsauerstoff des Apatit im Knochen oder an die Grundsubstanz des Dentins im Zahn gebunden (OPPERBECK, 1971). Die Menge des in kalzifiziertem Gewebe vorhandenen Tetracyclins ist abhängig von der Dosierung, der Dauer der Behandlung, dem Mineralisationsstadium und der Aktivität des Mineralisationsprozesses (WALLMAN & HILTON, 1962; BEVELANDER & NAKAHARA, 1965; COHLAN, 1977).

Die Einlagerungen führen zu makroskopisch sichtbaren Zahnverfärbungen. So haben die Zähne eine kräftig gelbe Farbe bei Chlortetracyclin, eine rosa-gelbliche Färbung bei Oxytetracyclin und eine gelb-bräunliche Färbung bei Tetracyclin (OWEN, 1961; MAJCHERCZYK & SZYMANSKA-JACHIMCZAK, 1965; BENNETT & LAW, 1967). Die Verfärbung der Zähne durch Doxycyclin und Oxytetracyclin ist weniger ausgeprägt (KVAAL, 1965; WEYMAN, 1965; SEELIGER & RONDE, 1968; MOFFITT et al., 1974). Eine Hypoplasie des

Zahnschmelzes kann ebenfalls beobachtet werden (WITKOP & WOLF, 1963; BENNETT & LAW, 1967). Mittels Fluoreszenz im ultravioletten Licht können die Wirkstoffe im Enamel und Detin der Incisivi und der Molaren nachgewiesen werden (MAJCHERCZYK & SZYMANSKA-JACHIMCZAK, 1965).

Knochen können ebenfalls makroskopisch Verfärbungen aufweisen, allerdings sind diese, im Vergleich zu den Zähnen, weniger ausgeprägt (BUYSKE et al., 1960; MAJCHERCZYK & SZYMANSKA-JACHIMCZAK, 1965). Die Tetracycline befinden sich in einem schmalen Streifen entlang des Knochenmarks und der Epiphyse (MAJCHERCZYK & SZYMANSKA-JACHIMCZAK, 1965). Wachstumsstörungen, bedingt durch die Einlagerung der Wirkstoffe, werden beschrieben (COHLAN et al., 1963; OPPERBECK, 1971), allerdings sind diese nicht bei allen Studien zu beobachten (PORTER et al., 1965; GENOT et al., 1970).

Aufgrund der Annahme, dass die Nebenwirkungen altersabhängig sind, ist die Behandlung von Frauen ab dem zweiten Drittel der Schwangerschaft kontraindiziert. Auch Kinder bis zu einem Alter von acht Jahren sollten nicht mit Tetracyclinen behandelt werden (SÁNCHEZ et al., 2004). Analog kommt es bei Welpen zu Verfärbungen der Zähne, wenn entweder die Mutter in den letzten zwei bis drei Wochen der Trächtigkeit oder die Welpen innerhalb ihrer ersten Lebenswochen mit Tetracyclinen behandelt werden (ARONSON, 1980).

Langzeitbehandlung mit Tetracyclinen können auch bei Erwachsenen zu Zahnverfärbungen führen (DI BENEDETTO, 1985). Es wird vermutet, dass die Chelate aufgrund physiochemischer Prozesse eingelagert werden, die unabhängig vom Mineralisationsgrad stattfinden (BJORVATN, 1983).

1.9.1.2.3 Ulzera und Strikturen im Ösophagus

Die Entwicklung von Doxycyclin-induzierten Ösophagusulzera und -strikturen ist von Menschen bekannt (BOKEY & HUGH, 1975; SCHNEIDER, 1977; AMENDOLA & SPERA, 1985; BOTT et al., 1987; JASPERSEN, 2000; KADAYIFCI et al., 2004). Die ersten Fälle mit vermuteter Doxycyclin-induzierter Ösophagustriktur bei der Katze wurden im Jahr 2000 von Melendez und Mitarbeitern beschrieben (MELENDEZ et al., 2000). Insgesamt gibt es acht publizierte Fallberichte. Das Hauptsymptom, mit dem die Katzen vorgestellt wurden, war Regurgitieren. Bei allen Patienten wurde zuvor eine Therapie mit Doxycyclin aufgrund von Katzenschnupfen, oder Infektionen mit *Yersinia pestis*

oder *Haemobartonella felis* eingeleitet. Andere mögliche Ursachen wurden ausgeschlossen. Die Strikturen hatten einen Durchmesser von zwei bis sechs Millimeter und waren bis zu drei Zentimeter lang (MELENDEZ et al., 2000; MCGROTTY & KNOTTENBELT, 2002; GERMAN et al., 2005). Bei einer der Katzen waren sogar multiple Strikturen über die gesamte Länge des Ösophagus vorhanden (MCGROTTY & KNOTTENBELT, 2002).

Entzündungen und Ulzera im Ösophagus entstehen nach Ankleben und lokaler Auflösung der Medikamente (BOKEY & HUGH, 1975; CARLBORG, 1976; DJUPESLAND & ROLSTAD, 1978), wobei der Schweregrad der Veränderungen abhängig ist von 1) der Dosierungsform (Tabletten und Kapseln), 2) dem pH-Wert des Wirkstoffs und 3) dem Lösungsverhalten des Wirkstoffes (LANZA, 1988).

Beim Vergleich der beiden Darreichungsform konnte gezeigt werden, dass Doxycyclin-Kapseln deutlich schwerwiegendere Läsionen (Grad 3 bei 6/6 Katzen) als Doxycyclin-Tabletten (Grad 2 bei 6/6 Katzen) zur Folge haben (CARLBORG & DENSERT, 1980; CARLBORG et al., 1983).

Bei der Untersuchung von Passagezeiten von Medikamenten durch die Speiseröhre von Katzen konnte gezeigt werden, dass Tabletten bei 63,3 % der Katzen länger als 300 Sekunden im Ösophagus verließen (WESTFALL et al., 2001). Kapseln waren bei 52,8 % der Katzen nach 240 Sekunden und bei 83,3 % der Katzen nach 300 Sekunden in der Speiseröhre nachzuweisen (GRAHAM et al., 2000; WESTFALL et al., 2001). Die Passagezeit wird durch eine unmittelbar folgende Bolusapplikation von 6 ml Wasser auf 90 Sekunden bei Tabletten und 60 Sekunden bei Kapseln beschleunigt (WESTFALL et al., 2001). Die Gabe einer kleinen Menge Futter hatte den Weitertransport der festgeklebten Kapseln zur Folge (GRAHAM et al., 2000).

Der ulzerogene Effekt von Doxycyclin auf die Schleimhaut des Ösophagus von Katzen wurde in zwei experimentellen Studien untersucht (CARLBORG & DENSERT, 1980; CARLBORG et al., 1983). Bei allen Katzen entwickelten sich hochgradige Geschwüre. Histologisch waren sie gekennzeichnet durch epitheliale Erosion und Anreicherung von Entzündungszellen bis in die Muskularis externa. In einigen Fällen wurde die Muskularis mukosa durch fibröses Gewebe ersetzt. Zwei Katzen entwickelten eine moderate Strikturen (CARLBORG & DENSERT, 1980; CARLBORG et al., 1983). Distal der Geschwüre war ein Spasmus der Muskulatur vorhanden (CARLBORG et al., 1983). Als pathophysiologischer

Mechanismus wird die Akkumulation von Doxycyclin in der Basalzellschicht mit anschließender Lyse der Zellen vermutet (GIGER et al., 1978).

Der stark saure pH-Wert der Tetracycline gilt als Hauptfaktor bei Ösophagusulzera. Doxycyclinhyclat und -hydrochlorid haben einen pH-Wert zwischen 2,5 und 3,0 (BOKEY & HUGH, 1975; CROWSON et al., 1976; CARLBORG & DENSERT, 1980), Tetracyclin von 2,3 (CROWSON et al., 1976) und Oxytetracyclin sogar von 1,3 (CARLBORG & DENSERT, 1980). Dass Säure Läsionen auf der Schleimhaut der Speiseröhre hervorruft, wurde in einer experimentellen Studie von Geisinger und Mitarbeiter (1990) gezeigt. Dazu wurde 0,1 N Salzsäure in die Speiseröhre von Katzen über unterschiedliche Zeiträume geleitet und anschließend die makroskopischen und histologischen Veränderungen dokumentiert. Es besteht ein direkter Zusammenhang ($r^2 = 0,99$) zwischen der Dauer der Säureeinwirkung und dem Schweregrad der histologischen Veränderungen (GEISINGER et al., 1990). Mit einer experimentelle Studie von Carlborg und Farmer (1983) führte das fast neutrale Doxycyclinmonohydrat (pH-Wert 5,0 – 6,5) nur bei einer von zwölf Katzen zu einer Grad-2-Läsion (200 mg Tablette), während bei den elf anderen Katzen (100 mg- und 200 mg-Tablette) sowohl makroskopisch als auch histologisch eine intakte Schleimhaut vorhanden war (CARLBORG & FARMER, 1983). Nach Lanza (1988) ist der pH-Wert entscheidend dafür, dass das Monohydratsalz von Doxycyclin weniger Nebenwirkungen zur Folge hat als das Hydrochlorid- oder Hyclatsalt (LANZA, 1988). Beruhend auf Daten von Pfizer Animal Health sind bei der klinischen Anwendung von Doxycyclinmonohydrat (Vibravet®) bisher keine Nebenwirkungen berichtet worden (TRUMBLE, 2005).

Bogardus und Blackwood (1979) untersuchten das Lösungsverhalten der unterschiedlichen Doxycyclinsalze. Doxycyclinmonohydrat löst sich in sauren Medien (Magen) schneller als die beiden anderen Salze. In neutralen Flüssigkeiten verhält es sich genau umgekehrt, hier gehen Doxycyclinhyclat und -hydrochlorid schneller in Lösung als das Monohydratsalz (BOGARDUS & BLACKWOOD, 1979). Im Ösophagus löst sich Doxycyclinmonohydrat aufgrund dieser pH-Abhängigkeit langsamer auf und sollte demnach weniger Schäden zur Folge haben (LANZA, 1988).

1.9.1.2.4 Hepatotoxizität

Im Zusammenhang mit der Behandlung von Menschen wurden Tetracyclin-induzierte Hepatopathien beobachtet; schwangere Frauen waren häufiger betroffen (SCHULTZ et al., 1963; WHALLEY et al., 1964; WRUBLE et al., 1965). Makroskopisch hatten die Lebern eine gelb bis gelb-bräunliche Farbe und waren von weicher Konsistenz. Histologisch lag eine Hepatolipidose vor, die durch eine diffuse Verteilung kleiner Fettvakuolen charakterisiert war (SCHULTZ et al., 1963). Ein Fallbericht wurde 1993 von einer Katze publiziert, die vier Tage nach Therapiebeginn mit Tetracyclin (22 mg/kg alle acht Stunden per os) Salivation und Anorexie zeigte. Der Alanin-Amino-Transferase-(ALT)-Wert (Referenzbereich: 10 – 66 IU/l) stieg von 265 IU/l (Tag 4) bis auf 1.018 IU/l (Tag 10) an. Histologische Veränderungen der Leber waren zentrolobuläre Fibrose, milde diffuse Cholangiohepatitis und milde hepatische Lipidose. Die Autoren vermuten einen Zusammenhang mit der Tetracyclintherapie aufgrund der Tatsache, dass nach Absetzen des Medikamentes sich das Allgemeinbefinden des Patienten und die ALT-Werte bis Tag 55 normalisierten (KAUFMAN & GREENE, 1993).

Einige Autoren diskutieren die dosis-abhängige Wirkung der Tetracycline auf das Lebergewebe (SCHULTZ et al., 1963; BREEN et al., 1975). Demnach würden sich Hepatopathien durch Akkumulation von Tetracyclinen bei einer mangelnden Ausscheidung über die Nieren oder durch zu hohe therapeutische Dosen entwickeln (RIVIERE & SPOO, 2001).

Der Pathomechanismus der Hepatotoxizität ist noch nicht geklärt. Diskutiert wird eine Wechselwirkung der Tetracycline mit dem Fett- und Proteinmetabolismus (LEWIS et al., 1967; HANSEN et al., 1968; BREEN et al., 1972; BREEN et al., 1979; GWEE, 1982). Katzen scheinen ihre Proteine anders als andere Tierarten und der Mensch zu verstoffwechseln; dies könnte die höhere Anfälligkeit für Tetracyclin-induzierte Hepatopathien erklären (BIOURGE et al., 1990).

1.9.1.2.5 Phototoxizität

Eine Phototoxizität von Tetracyclinen wurde beim Menschen beschrieben mit Folge von Dermatitis und Oncholyse (IBSEN & LASTHEIN ANDERSEN, 1983; LAYTON & CUNLIFFE, 1993; CARROLL & LAUMANN, 2003). In kontrollierten Studien war der Effekt von Doxycyclin im Vergleich zu Lymecyclin und Demethylchlortetracyclin deutlich ausgeprägter (BJELLERUP &

LJUNGGREN, 1987; BJELLERUP & LJUNGGREN, 1994). Hervorgerufen werden die Veränderungen durch Strahlen mit einer Wellenlänge von 2.800 bis 3.200 Å (OPPERBECK, 1971). Neben Sonnenstrahlung sind sowohl UV-A- als auch UV-B-Strahlen verantwortlich (BJELLERUP, 1986). In einer experimentellen Studie wurde gezeigt, dass Doxycyclin sowohl den höchsten phototoxischen Schaden induziert als auch die höchste intrazelluläre Konzentration im Vergleich zu den anderen getesteten Substanzen aufweist (GLETTE & SANDBERG, 1986). Möglicherweise tritt eine Photosensibilität auch bei Tieren auf, obwohl bisher keine Berichte vorliegen (RIVIERE & SPOO, 2001).

1.9.2 Fluorochinolone

Fluorochinolone besitzen ein breites Wirkspektrum. Sie sind gegen intrazelluläre Organismen wirksam, unter anderem auch gegen Chlamydien (KROKER et al., 2002).

1.9.2.1 Wirksamkeit

Die beiden Fluorochinolone Enrofloxacin und Ciprofloxacin zeigten *in vitro* und *in vivo* eine gute Wirksamkeit gegenüber *C. felis*.

1.9.2.1.1 Enrofloxacin

In einer *in vitro* Studie zeigte Enrofloxacin eine vergleichbar gute Wirksamkeit gegen Chlamydien wie Doxycyclin (BUTAYE et al., 1997). Enrofloxacin in einer Dosierung von 5 mg/kg alle 24 Stunden per os über 14 Tage führte in einer Studie von Gerhardt und Mitarbeitern (2006) bei Katzen mit Katzenschnupfen im Vergleich zu Doxycyclin zu einer vergleichbaren Verbesserung der klinischen Symptomatik. Eine Elimination von *C. felis* konnte nicht bei allen Patienten erzielt werden. Dies könnte auf eine möglicherweise zu kurze Behandlungsdauer in dieser Studie zurückzuführen sein (GERHARDT et al., 2006).

1.9.2.1.2 Ciprofloxacin

Eine Studie über die Behandlung von humanen Patienten mit lokal und intravenös verabreichtem Ciprofloxacin über sieben bis zehn Tage führte zur Heilung der klinischen Symptome. Empfohlen wird das Therapieschema für Patienten mit komplizierten *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen der Konjunktiven und des

Urogenitaltraktes mit gleichzeitigen gastrointestinalen Beschwerden, die eine parenterale Verabreichung der Medikamente notwendig machten (AZNABAEV et al., 2001).

1.9.2.2 Nebenwirkungen der Fluorochinolone

Zahlreiche Nebenwirkungen, wie gastrointestinale und zentralnervöse Symptome, Arthropathien (Hund, Pferd) und Blindheit (Katzen), sind in der Literatur erwähnt (PAPICH & RIVIERE, 2001).

1.9.2.2.1 Retinadegeneration

Erste Hinweise über die mögliche Entwicklung einer Retinadegeneration wurden in einer retrospektiven Studie entdeckt. Es wurden 26 Katzen mit Retinadegeneration untersucht, bei fünf der Katzen war eine Vorbehandlung mit Enrofloxacin, bei vier der Katzen mit Amoxicillin und bei zwei mit Prednisolon bekannt (GIULIANO & VAN DER WOERDT, 1999). Der mögliche Einfluss von Enrofloxacin auf die Retina wurde zwar diskutiert, allerdings wusste man bisher nur von elektroretinographischen und histologischen Veränderungen, die durch Ciprofloxacin hervorgerufen wurden (SCHLUTER, 1989, VRABEC et al., 1990). In einer anderen Studie von Gelatt und Mitarbeitern (2001) wurden 17 Katzen untersucht, die eine Retinadegeneration nach Behandlung mit Enrofloxacin entwickelten. Am häufigsten wurden Mydriasis und eine verzögerte oder ausbleibende Pupillenreaktion beobachtet. Ophthalmologische Veränderungen betreffen vor allem den Fundus und beinhalten erhöhte tapetale Reflektivität und Verminderung bis hin zum Verlust der retinalen Blutgefäße. Bei fünf Katzen wurde ein Elektroretinogramm angefertigt, das kein Ansprechen auf Reize zeigte (GELATT et al., 2001; CRISPIN et al., 2002). In zwei toxikologischen Studien konnte auch experimentell die Retinotoxizität von Enrofloxacin bestätigt werden. Bei einer Dosierung von 30 mg/kg über 23 Tage kam es zu signifikanten Verdünnung der Retinadicke und zu einer signifikanten Reduktion der Reaktionsstärke und der Reaktionszeit auf Lichtreize im Elektroretinogramm (WEGENER & LASER, 2006; ZRENNER et al., 2006).

In der retrospektiven Studie von Gelatt und Mitarbeitern (2001) wurde Enrofloxacin in einer täglichen Dosis von 4,6 mg/kg alle 24 Stunden bis 27 mg/kg alle zwölf Stunden *per os* verabreicht (GELATT et al., 2001). Aufgrund dessen wird vermutet, dass Veränderungen dosisabhängig sind und sie sich vor allem bei

der Verabreichung von höheren als von der Firma empfohlenen Dosis von 5 mg/kg alle 24 Stunden entwickeln (ABRAMS-OGG et al., 2002; WIEBE & HAMILTON, 2002). Die Vermutung bestätigte sich zum einen durch eine experimentelle Studie, in der Retinadegenerationen nur bei den Katzen induziert wurden, die mit Dosen zwischen 20 und 50 mg/kg/Tag über 21 Tage behandelt worden sind. Die Dosierung 5 mg/kg/Tag hatte keine Veränderungen zur Folge (DAVIDSON, 2001; WATSON, 2002). Zum anderen stellte das „Center for Veterinary Medicine“ (CVM) der „United States Food and Drug Administration“ (FDA) in einer retrospektiven Studie fest, dass die überwiegende Anzahl an angezeigten Enrofloxacin-assoziierten Fällen von Blindheit im Zusammenhang mit Dosen von mehr als 5 mg/kg/Tag stehen (HAMPSHIRE et al., 2004). Retinaveränderungen traten sowohl bei oraler als auch intravenöser Gabe des Medikamentes auf (GELATT et al., 2001; HAMPSHIRE et al., 2004). Von 39 beim FDA-CVM angezeigten Fällen von Sehstörungen bei Katzen wurde Enrofloxacin bei 18 Katzen oral verabreicht, fünf Katzen erhielten intravenöse Injektionen und sieben Katzen wurden mit Tabletten und Injektionen behandelt (HAMPSHIRE et al., 2004). Die Dauer der Behandlung wurde durch die FDA-CVM nicht ausgewertet. Bei den meisten Katzen war die Blindheit irreversibel; dennoch ist bei einigen Katzen eine Verbesserung der Sehfähigkeit nach Absetzen des Medikamentes möglich (GELATT et al., 2001; GRAHN et al., 2002). Nicht jede Retinadegeneration ist trotz Behandlung mit Enrofloxacin auf dieses Medikament zurückzuführen. Um voreilige Schlussfolgerung auszuschließen, wird eine ophthalmologische Untersuchung durch einen Ophthalmologen und die Anfertigung eines Elektretinogramm empfohlen (WILSON, 2002).

Der Pathomechanismus ist nicht vollständig geklärt. Fluorochinolone sollen direkt und indirekt retinotoxisch wirken. Eine intravitreale Installation von Ciprofloxacin in Kaninchen führte zur Schädigung der Fotorezeptoren und hatte Veränderungen an den Pigmenten und im Elektretinogramm zur Folge (WIECHENS et al., 1998; WIECHENS et al., 1999). Das Fluorochinolon Chloroquin hat eine hohe Affinität zu Melanin und akkumuliert in Lysosomen der Pigmentepithelzellen, so dass eine Hemmung der lysosmalen Enzyme wahrscheinlich den Zelltod hervorruft (TSUCHIYA et al., 1987; TOIMELA et al., 1998). Als mögliche Risikofaktoren gelten 1) hohe Dosen oder Plasmakonzentrationen des Medikamentes, 2) rasche intravenöse Injektion des Antibiotikums, 3) lange Behandlungsdauer, 4) starke UV-A-Lichtexposition während der

Behandlungsdauer, 5) Interaktionen mit anderen Wirkstoffen und 6) Akkumulation des Wirkstoffes oder eines Metaboliten aufgrund eines veränderten Metabolismus oder einer verzögerten Exkretion (WIEBE & HAMILTON, 2002).

1.9.2.2.2 Arthropathie

Fluorochinolon-induzierte Arthropathien sind bei nicht-menschlichen Primaten, Pferden, Hunden, Meerschweinchen und Ratten beschrieben (BENDELE et al., 1990; BURKHARDT et al., 1990; STAHLMANN et al., 1990; SPECHT & FREDERICK, 1991); Katzen scheinen, wie Rinder und Schweine, weniger anfällig zu sein (PAPICH & RIVIERE, 2001). Der zugrundeliegende Mechanismus ist trotz zahlreicher *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen immer noch nicht geklärt. Veränderungen, wie Vesikelbildung mit Verlust von Proteoglykan, Degeneration und Nekrose wiesen Chondrozyten auf (KATO & ONODERA, 1988; BURKHARDT et al., 1990; BURKHARDT et al., 1992; BELUCHE et al., 1999). Fluorochinolone bilden Chelate mit divalenten Kationen, wie z. B. Magnesium und Calcium (ROSS & RILEY, 1993). Magnesium reguliert die Funktion der Integrine, die unter anderem für die Adhäsion der Chondrozyten an die extrazelluläre Matrix verantwortlich sind (DURR et al., 1993; LOESER, 1994; DICKESON et al., 1997). Es wird vermutet, dass ein Magnesiummangel durch Komplexbildung zu einer Funktionsstörung der Integrine führt (FORSTER et al., 1996) und als Folge davon die Zelladhäsion reduziert wird (EGERBACHER et al., 2001). Es konnte bei *in vitro* Untersuchungen gezeigt werden, dass bei Anwesenheit von Fluorochinolonen die Proteoglykan- und Kollagensynthese reduziert wird (BURKHARDT et al., 1993; HILDEBRAND et al., 1993; BELUCHE et al., 1999, EGERBACHER et al., 2001).

Die Entwicklung von Arthropathien ist vor allem in gewichtstragenden Gelenken bei Jungtieren bekannt (GOUGH et al., 1992). Die Anfälligkeit von vor allem jungen und im Wachstum befindlichen Tieren kann durch einen gesteigerten Zellmetabolismus mit erhöhter Bildung von Knorpelgewebe erklärt werden (BELUCHE et al., 1999).

1.9.2.2.3 Zentralnervöse Symptome

ZNS-Komplikationen, wie Unruhe, Tremor und Krämpfe, wurden bei einer schnellen intravenösen Injektion oder bei Überdosierung beobachtet. Man vermutet, dass Enrofloxacin den inhibitorischen Neurotransmitter Gamma-

Aminobuttersäure hemmt (PAPICH & RIVIERE, 2001). Bei Hund und Katze können Veränderungen im Elektroenzephalogramm auftreten (KROKER, 2002).

1.9.3 Beta-Laktam-Antibiotika

Chlamydien synthetisieren kein Peptidoglykan, so dass Beta-Laktam-Antibiotika keine Wirkung zeigen (HOF & DÖRRIES, 2005).

1.9.3.1 Amoxicillin/Clavulansäure

Dennoch wurde die Wirksamkeit von Amoxicillin/Clavulansäure bei 24 SPF Katzen von Sturgess und Mitarbeiter (2001) untersucht. Nach experimenteller Infektion wurden drei Gruppen mit jeweils acht Katzen gebildet und diese 19 Tage lang mit entweder eine Gelatinkapsel alle 24 Stunden (Placebo), mit 10 – 15 mg/kg Doxycyclin alle 24 Stunden oder mit 12,5 bis 25 mg/kg Amoxicillin/Clavulansäure alle zwölf Stunden behandelt. Sowohl die Verbesserung der klinischen Symptome innerhalb der ersten vier Behandlungstage als auch die Isolationsrate der Chlamydien nach zwei Behandlungstagen war zwischen beiden Behandlungsgruppen mit $p \leq 0,01$ statistisch signifikant. Mit der Wirkstoffkombination konnte bei drei Katzen eine Erregerelimination erzielt werden; bei den übrigen fünf Katzen der Gruppe kam es zu einem Wiederauftreten von klinischen Symptomen, die mit einem erneuten positiven Chlamydien-Nachweis einherging. Eine zweite Behandlungsphase mit Amoxicillin/Clavulansäure über vier Wochen war erfolgreich; die Katzen blieben über den anschließenden Beobachtungszeitraum von sechs Monaten symptom- als auch erregerfrei. Katzen der Placebo-Gruppe wurden 38 Tage *post infectionem* mit Amoxicillin/Clavulansäure über vier Wochen behandelt; dies hatte sowohl eine schnelle Reduzierung der klinischen Symptome als auch ein negativen Erregernachweis zur Folge (STURGESS et al., 2001). In einer Umfrage bei Besitzern zeigten vier von 28 Katzen (14,3 %) Nebenwirkungen der Amoxicillin/Clavulansäure-Therapie, die sich in Erbrechen, Durchfall, Depression, Appetitlosigkeit und Polyurie/Polydipsie äußerten (KUNKLE et al., 1995).

1.9.3.2 Penicillin

In hohen Dosen wirkt Penicillin inhibitorisch, allerdings kann keine Elimination des Erregers erreicht werden (SYKES, 2004; GREENE, 2006a). Kontrollierte Studien liegen zu diesem Medikament nicht vor.

1.9.4 Makrolid-Antibiotika

Makrolide sind neben Tetracyclinen Mittel der Wahl bei Chlamydien-Infektionen des Menschen (HOF & DÖRRIES, 2005).

1.9.4.1 Azithromycin

Azithromycin zeigte eine gute Wirksamkeit gegen verschiedene Chlamydien-Spezies und gegen *Chlamydophila pneumoniae* von experimentell infizierten Mäusen (NIKI et al., 1994). Auch in zahlreichen Studien bei Menschen mit *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen wurde Azithromycin eingesetzt (TABBARA et al., 1996; DAWSON et al., 1997; SCHACHTER et al., 1999; BOWMAN et al., 2000; GUZEY et al., 2000; FRASER-HURT et al., 2001). Obwohl in diesen Studien eine sehr große Anzahl an Probanden untersucht wurde, war nie die Erregerelimination, sondern eine Kontrolle der endemisch vorhandenen Chlamydien das Ziel. Die Ergebnisse bezüglich einer erfolgreichen Therapie im Hinblick auf die Elimination des Erregers ist deshalb nicht möglich.

Zur Beurteilung der Wirksamkeit bei *C.-felis*-Infektionen wurden neun SPF Katzen experimentell mit *C. felis* infiziert und anschließend drei Behandlungsgruppen gebildet (OWEN et al., 2003). Fünf Katzen (Gruppe A) erhielten 10 – 15 mg/kg Azithromycin alle 24 Stunden für drei Tage und danach zweimal wöchentlich über 22 Tage. Katzen der Gruppe D (2 Katzen) wurde über 28 Tage 10 – 15 mg/kg Doxycyclin alle 24 Stunden per os verabreicht. Als Modell für eine chronische Infektion dienten zwei weitere Katzen (Gruppe U), die erst vier Wochen nach Infektion mit 10 – 15 mg/kg Azithromycin alle 24 Stunden über 25 Tage behandelt wurden. Mit Azithromycin wurde nur eine Verbesserung der klinischen Symptome, aber keine Heilung erreicht. Der *C.-felis*-Nachweis während und nach Behandlung war nur bei einer Katze negativ, bei allen anderen konnte der Erreger intermittierend isoliert werden. Nach Studienende mussten alle Katzen der Gruppe A und U mit Doxycyclin (10 – 15 mg/kg alle 24 Stunden für vier Wochen) zur Erregerelimination behandelt werden (OWEN et al., 2003).

In einem Review-Artikel wird erwähnt, dass bei der Behandlung von Katzen mit Azithromycin vergleichbar gute Ergebnissen wie bei der Therapie von humanen Chlamydieninfektionen erzielt wurde (RAMSEY, 2000). Der Wirkstoff wird in einem gestaffelten Therapieregime mit einer Dauer von 35 Tagen mit der Gabe von 7 – 10 mg/kg alle 24 Stunden in den ersten 14 Tagen, 5 mg/kg alle 24 Stunden in den folgenden sieben Tagen und von 5 mg/kg alle 48 Stunden in den letzten 14 Tagen verabreicht. Die Studie, aus der die Informationen stammen, und weitere Daten bezüglich klinischer Besserung und Erregerelimination werden in diesem Artikel nicht genannt (RAMSEY, 2000). Ein von praktizierenden Tierärzten in Australien gängiges Therapieregime besteht aus 5 – 10 mg/kg Azithromycin alle 24 Stunden innerhalb der ersten 5 Tage. Danach erfolgt die Gabe alle 48 bis 72 Stunden (JORDAN, 2001).

1.9.4.2 Erythromycin

Erythromycin ist Mittel der Wahl bei durch Chlamydien hervorgerufener Konjunktivitis bei Neonaten, Kindern und schwangeren Frauen. In einer Studie von Sandström (1987) führte Erythromycin in einer Dosierung von 25 mg/kg alle zwölf Stunden per os über 14 Tagen bei allen elf Neugeborenen mit *Chlamydia trachomatis*-Infektionen der Augen und des Nasopharynx zu sowohl einer klinischen als auch Erregerelimination (SANDSTROM, 1987). In anderen randomisierten Studien bei Menschen wurde eine Elimination der Erreger nicht in jedem Fall erzielt (PATAMASUCON et al., 1982; HEGGIE et al., 1985). Patamasucon und Mitarbeiter (1982) behandelten 41 Babys mit Chlamydienbedingter Konjunktivitis mit Erythromycin über drei Wochen. Bei vier von 19 Patienten (lokale Applikation) und bei drei von 22 Patienten (systemische Behandlung) kam es zu einem Wiederauftreten der Symptome (PATAMASUCON et al., 1982). In einer anderen Studie wurden Neonaten mit purulenter Konjunktivitis mit 50 mg/kg Erythromycin oral alle 24 Stunden über 14 Tage behandelt. Bei 14 der 15 Patienten (93 %) wurde eine Elimination von *Chlamydia trachomatis* nachgewiesen (HEGGIE et al., 1985). Obwohl Erythromycin in der Humanmedizin als Therapeutikum von Chlamydieninfektionen etabliert ist, wurden noch keine Studien zur Wirksamkeit bei Katzen durchgeführt (GASKELL & DAWSON, 1998; GREENE, 2006a).

1.9.4.3 Tylosin

Tylosin ist *in vitro* gegen Chlamydien wirksam (JOHNSON et al., 1983). Es gibt bisher keine Studie zur *in-vivo*-Effektivität bei *C. felis*-Infektionen der Katze (GASKELL & DAWSON, 1998).

1.9.5 Rifampicin

Der Wirkstoff Rifampicin (1-%ige Augentropfen) wurde in zwei von Darougar und Mitarbeitern (1977, 1981) durchgeführten Studien bei okulären *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen des Menschen zur lokalen Therapie eingesetzt (DAROUGAR et al., 1977b; DAROUGAR et al., 1981). In der ersten Studie wurden drei Patienten über drei Wochen, fünf Patienten über vier Wochen, 29 Patienten über sechs Wochen und sieben Patienten über sieben Wochen behandelt. Bei allen Patienten wurde eine durchschnittliche Verbesserung der klinischen Symptome registriert, allerdings war eine klinische Heilung nur bei 37 der 44 Patienten möglich. Eine Erregerelimination wurde bei 35 der 44 Patienten erzielt. Je länger Rifampicin verabreicht wurde, desto höher war die Anzahl der erfolgreich behandelten Patienten. Alle anderen Patienten, bei denen nach Behandlung immer noch Chlamydien nachweisbar waren, zeigten in Folgeuntersuchungen ein Wiederauftreten der Konjunktivitis und mussten erneut behandelt werden (DAROUGAR et al., 1977b)

In einer zweiten, randomisierten Studie von Darougar und Mitarbeitern (1981) wurde die Wirksamkeit von Rifampicin-haltigen Augentropfen (1-%ig) mit Chlortetracyclin-haltigen Augentropfen (1-%ig) bei Patienten mit *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen der Augen vergleichen. Insgesamt 44 Patienten wurden über einen Zeitraum von sechs Wochen behandelt. Die Applikation der Augentropfen erfolgte alle acht Stunden. Kontrolluntersuchungen nach acht und zwölf Wochen zeigte eine klinische Heilung bei 34 (77 %) bzw. 33 (75 %) der Patienten. Ein positiver Nachweis von *Chlamydia trachomatis* war bei zwei Patienten (2 %) unmittelbar bei Beendigung der Studie, bei vier Patienten (9 %) nach acht Wochen und bei sechs Patienten (14 %) nach zwölf Wochen möglich (DAROUGAR et al., 1981).

Rifampicin wurde bisher nicht in der Tiermedizin eingesetzt. Rückschlüsse auf die Wirksamkeit bei feliner Chlamydiose sind daher nicht möglich (GREENE, 2006a).

1.9.6 Sulfonamide/Trimethoprim

In *in-vitro*-Studien verhinderte weder Sulfamethoxazol noch Trimethoprim das Wachstum von *Chlamydomydia pneumoniae* (CHIRGWIN et al., 1989; KHAN et al., 1996). Bei der Untersuchung über *Chlamydia trachomatis* konnte gezeigt werden, dass die beiden Wirkstoffe alleine und auch in Kombination *in vitro* wirksam waren (HAMMERSCHLAG, 1982; RICE et al., 1995). Sulfonamide wurden, entweder alleine oder in Kombination mit Trimethoprim, bei *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen des Urogenitaltraktes des Menschen angewendet. Mit diesen Studien konnte gezeigt werden, dass zwar eine Besserung der klinischen Symptomatik möglich ist, aber nicht in allen Fällen eine Erregerelimination erzielt werden kann (JOHANNISSON et al., 1980; BOWIE et al., 1982; BRUNHAM et al., 1982).

Bisher wurden keine Studien bei Katzen mit feliner Chlamydiose durchgeführt, so dass Rückschlüsse auf die Wirksamkeit daher nicht möglich sind (SYKES, 2004; GREENE, 2006a).

1.9.7 Chloramphenicol

Humane Patienten mit *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen der Augen wurden in einer Therapiestudie von Darougar und Mitarbeitern (1977) mit Chloramphenicolhaltigen Augentropfen (1-%ig) alle acht Stunden über einen Zeitraum von vier (sieben Patienten) oder sechs Wochen (zwölf Patienten) behandelt. In beiden Gruppen konnte zwar eine Verbesserung, aber keine Heilung der klinischen Symptome erreicht werden. Ein mikrobiologisch negatives Ergebnis war nur bei drei der insgesamt 19 Teilnehmer nachweisbar, allerdings war bei diesen Patienten immer noch eine klinisch manifeste Konjunktivitis vorhanden. (DAROUGAR et al., 1977b).

Neunzehn Neugeborene mit *Chlamydia-trachomatis*-bedingter Konjunktivitis wurden in einer Studie von Sandström (1987) mit entweder 1-%igen Chlortetracyclinhaltigen Augentropfen (acht Patienten) alle vier Stunden oder mit 25 mg/kg Erythromycin (elf Patienten) alle zwölf Stunden per os über einen Zeitraum von 14 Tagen behandelt. Bei allen mit Chloramphenicol behandelten Patienten kam es weder zu einer Heilung der klinischen Symptome noch zu einer Erregerelimination (SANDSTROM, 1987).

Studien über den Therapieerfolg von Chloramphenicol bei *C.-felis*-Infektionen der Katze liegen nicht vor. Von einer Anwendung wird dennoch abgeraten (SYKES, 2004; GREENE, 2006a).

Tabelle 8: Empfehlungen zur systemischen Behandlung der felines Chlamydiose (A = akute Infektion, C = chronische Infektion, * = Dauer der Behandlung beträgt insgesamt fünf Wochen; gestaffelt in Behandlungsabschnitte von zwei, einer und zwei Wochen)

Wirkstoff	Dosierung	Intervall (Stunden)	Dauer (Wochen)	Autor
Tetracyclin	22 mg/kg	8	4	DORIN et al., 1993; GREENE, 2006a
Oxytetracyclin	50 mg/Katze	12	8	O'DAIR et al., 1994
Doxycyclin	5 mg/kg	12	3	SYKES et al., 1999b
	5 mg/kg	12	3 – 4	GREENE, 2006a
	10 mg/kg	12	3 – 4	GREENE, 2006a
	10 mg/kg	24	3 – 6	WATERS & BARNETT, 2004
	10 mg/kg	24	4	SPARKES et al., 1999; DEAN et al., 2005
	10 – 15 mg/kg	24	3	STURGESS et al., 2001
	10 – 15 mg/kg	24	3,5	OWEN et al., 2003
Enrofloxacin	10 - 15 mg/kg	24	3 – 4	GREENE, 2006a
	5 mg/kg	24	3	GERHARDT et al., 2006
Amoxicillin-Clavulansäure	12,5 – 25 mg/kg	12	3 (A)	STURGESS et al., 2001
	12,5 – 25 mg/kg	12	4 (C)	STURGESS et al., 2001; GREENE, 2006a
Azithromycin*	7 – 10 mg/kg	24	2	RAMSEY, 2000
	5 mg/kg	24	1	
	5 mg/kg	48	2	
Lincomycin-Spectinomycin	55 oder 111 mg/Katze	24	8	POINTON et al., 1991

2. Mykoplasmen der Katze

2.1. Taxonomie

Die neue taxonomische Einteilung wurde anhand von 16S-rRNA-Nukleotidsequenzen vorgenommen (WEISBURG et al., 1989; MANILOFF, 1992). Die Ordnung *Mycoplasmatales* besteht demnach aus der Familie *Mycoplasmataceae* mit den beiden Gattungen *Mycoplasma* und *Ureaplasma* (Abbildung 6) (TULLY et al., 1993).

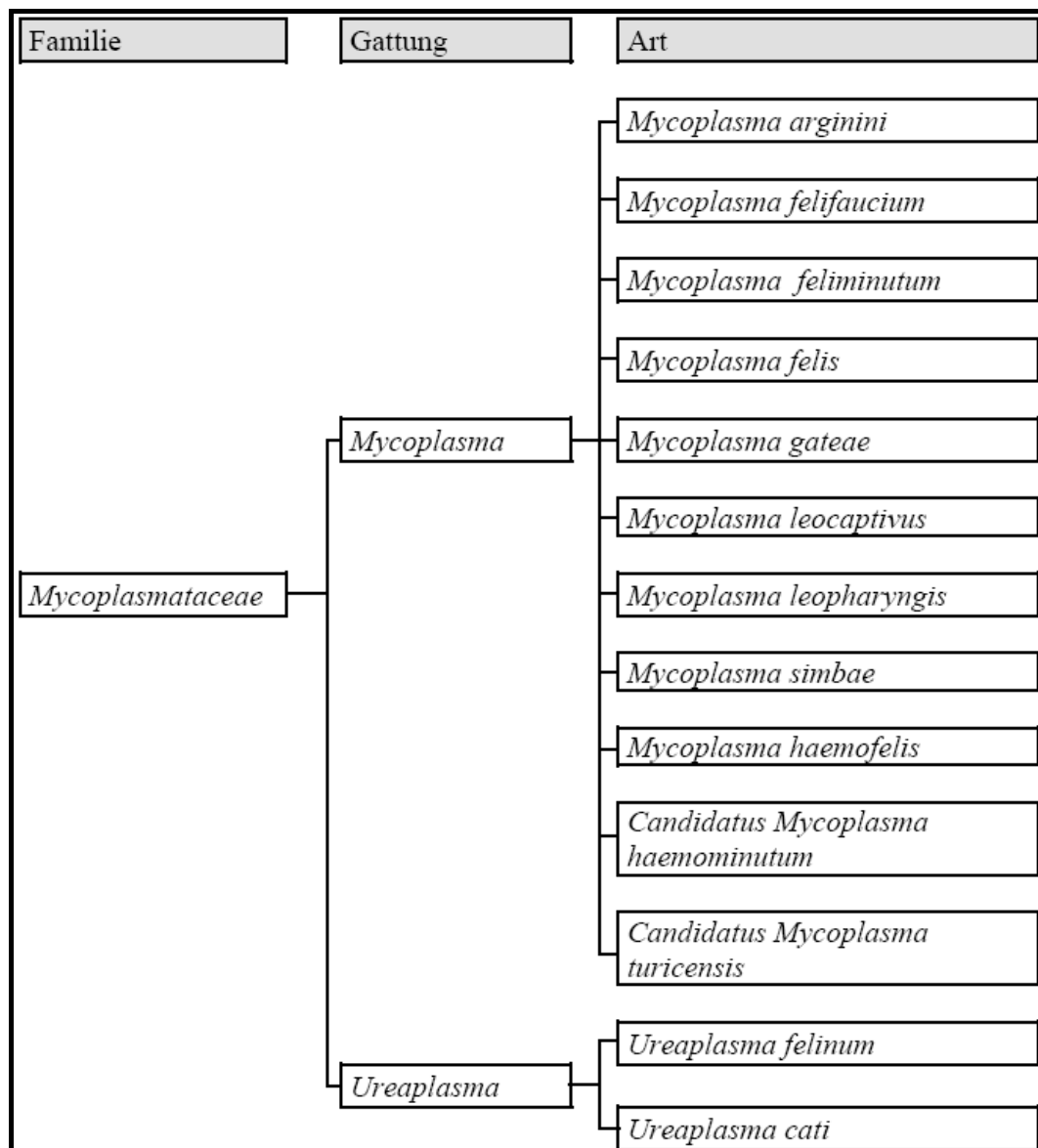


Abbildung 6: Übersicht über feline *Mycoplasma*- und *Ureaplasma*-Arten (HARASAWA et al., 1990; TULLY et al., 1993; FOLEY & PEDERSEN, 2001; NEIMARK et al., 2001; NEIMARK et al., 2002; TULLY & BRADBURY, 2003; WILLI et al., 2005; WILLI et al., 2006).

Die Gattung *Mycoplasma*, gegründet durch Nowak (1929), beinhaltet momentan 112 Spezies (NOWAK, 1929; RAZIN et al., 1998; TULLY & BRADBURY, 2003). Die felines Mykoplasmen werden in „nicht-hämotroph“ und „hämotroph“ eingeteilt (Tabelle 9).

Hämotrophe Mykoplasmen sind Erreger, die auf der Oberfläche von Erythrozyten parasitieren und eine hämolytische Anämie hervorrufen können (GREENE, 2006b). Der Schweregrad ist abhängig von der Spezies (FOLEY et al., 1998). Insgesamt drei Arten werden anhand 16S-rRNA-Analyse dieser Gruppe zugeordnet: *Mycoplasma haemofelis* (ursprünglich *Haemobartonella felis*), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* und *Candidatus Mycoplasma turicensis* (NEIMARK et al., 2001; NEIMARK et al., 2002; FOLEY & PEDERSEN, 2001; WILLI et al., 2005). Bei der phylogenetischen Untersuchung des Genoms wiesen Isolate aus Europa, Australien, Afrika, Asien und den USA eine fast 100-%ige Homologie auf (TASKER et al., 2003).

Acht nicht-hämotrophe Mykoplasmen wurden bei Hauskatzen (*Felis catus*), Luchsen (*Felis lynx*), Pumas (*Felis concolor*), Leoparden (*Panthera pardus*), Löwen (*Panthera leo*), Tigern (*Panthera tigris*), Gebharden (*Acinonyx jubatus*) und beim Serval (*Felis serval*) identifiziert (COLE et al., 1967; HEYWARD et al., 1969; HILL, 1972; TULLY et al., 1972; HILL, 1975; KOSHIMIZU et al., 1984; HILL, 1986; HILL, 1992; JOHNSRUDE et al., 1996). *Mycoplasma arginini* (*M. arginini*), *Mycoplasma leocaptivus*, *Mycoplasma leopharyngis* und *Mycoplasma simbae* sind apathogene Schleimhautbewohner des Pharynx von Löwen, Luxen, Tigern, Gebharden und Leoparden (HILL, 1972; HILL, 1975; KOSHIMIZU et al., 1984; HILL, 1992). Bei der Hauskatze sind neben dem Oropharynx, auch Konjunktiven, Rektum, Respirations- und Urogenitaltrakt mit *M. arginini* besiedelt (TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a; TAN et al., 1977b). Bei einem Löwen und einem Kater mit ZNS-Symptomen gelang der Nachweis von *M. arginini* aus dem Gehirn (HEYWARD et al., 1969; TULLY et al., 1972; TAN et al., 1977b). *Mycoplasma felifaucium* ist ein apathogener Bewohner des oberen Respirationstraktes von Pumas (HILL, 1975; HILL, 1986). *Mycoplasma feliminutum* wurde einmalig bei einer klinisch gesunden Katze aus einem Pharynxstopfen nachgewiesen (HEYWARD et al., 1969). *Mycoplasma felis* (*M. felis*) und *Mycoplasma gateae* (*M. gateae*) sind im oberen Respirationstrakt von klinisch gesunden Katzen vorhanden (SCHNECK, 1973; TAN & MARKHAM, 1971a; TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a). Während *M. felis* an

Konjunktividen und Katzenschnupfen beteiligt ist, gilt *M. gateae* als apathogen (CAMPBELL et al., 1973b; TAN & MILES, 1974a). Beide Arten wurden allerdings bei Polyarthritiden und Tenosynovitis isoliert (TAN & MILES, 1974a; MOISE et al., 1983). Feline nicht-hämotrophe Mykoplasmen ähneln sich hinsichtlich ihrer Genomsequenzen, dennoch haben sie nicht die gleiche phylogenetische Abstammung (BROWN et al., 1995).

Die Gattung *Ureaplasma* beinhaltet zwei feline Spezies (HARASAWA et al., 1990). Sie ähneln den Mykoplasmen, allerdings sind sie zusätzlich auf die exogene Zufuhr von Harnstoff zum Wachstum angewiesen (FORD & MACDONALD, 1967; SHEPARD & LUNCEFORD, 1967). Sie wurden bisher aus oropharygealen Tupferproben bei klinisch gesunden Katzen und aus der bronchoalveolären Lavage (BAL) bei einer Katze mit Pneumonie isoliert (TAN & MARKHAM, 1971b; HARASAWA et al., 1977; TAN et al., 1977a; RANDOLPH et al., 1993). Die experimentelle Infektion von drei gesunden, trächtigen Katzen führte zum Abort der Foeten bei einer Katze und zum Tod der Welpen der beiden anderen Katzen innerhalb 17 Tage nach Geburt. Bei einem Welpen lag eine Missbildung der Hintergliedmaßen vor. Feline *Ureaplasma* wurden aufgrund des mangelnden Nachweises anderer pathogener Keime für die klinischen Symptome der infizierten Katzen verantwortlich gemacht (TAN & MILES, 1974b). Die frühere Vermutung, dass *Ureaplasma* an der „Feline lower urinary tract disease“ beteiligt sind, konnte nicht bestätigt werden (KRUGER & OSBORNE, 1993; SENIOR & BROWN, 1996; ABOU et al., 2006).

2.2. Ätiologie

Einige Arten der Familie *Mycoplasmatales* rufen bei Menschen, Säugetieren und Vögeln Krankheiten hervor. Andere Arten sind dagegen apathogen und leben als Kommensalen auf Schleimhäuten (RAZIN et al., 1998).

2.2.1 Morphologie und Eigenschaften

Mykoplasmen sind Zellwand-lose Organismen, die von einer trilamillären Membran umgeben sind. Die Zellmembran besteht zu zwei Dritteln aus Proteinen (Proteine, Glykoproteine, Lipoproteine) und zu einem Drittel aus Lipiden (Phospholipide, Glykoproteine, Lipopolysaccharide, Cholesterol) (RAZIN, 1975; WALKER, 2004). Ein absolut essentieller Bestandteil ist das Cholesterol, das für

die Regulation des Flüssigkeitsaustausches verantwortlich ist (ROTTEM et al., 1973a; ROTTEM et al., 1973b; RAZIN & ROTTEM, 1978).

Tabelle 9: Wirte und klinische Manifestation der feline Mykoplasmenarten

Spezies	Vorkommen	Klinik
nicht-hämotrophe Mykoplasmen		
<i>Mycoplasma arginini</i>	Löwe, Hauskatze	apathogen (ZNS-Symptome)
	Lux, Tiger, Gebhard	apathogen
<i>Mycoplasma felifaucium</i>	Pumas	apathogen
<i>Mycoplasma feliminutum</i>	Hauskatze	apathogen
<i>Mycoplasma felis</i>	Hauskatze	apathogen, (oberer Respirationstrakt), Konjunktivits, Katzenschnupfen, Polyarthritits
	Serval	Pneumonie
	Löwe	apathogen
<i>Mycoplasma gateae</i>	Hauskatze	apathogen, (oberer Respirationstrakt), Polyarthritits, Tenosynoviitis
<i>Mycoplasma leocaptivus</i>	Löwe, Leopard	apathogen
<i>Mycoplasma leopharyngis</i>	Löwe	apathogen
<i>Mycoplasma simbae</i>	Löwe	apathogen
hämotrophe Mykoplasmen		
<i>Mycoplasma haemofelis</i>	Hauskatze	hämolytische Anämie
<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	Hauskatze	hämolytische Anämie
<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>	Hauskatze	hämolytische Anämie
Ureaplasmen		
<i>Ureaplasma cati</i>	Hauskatze	apathogen
<i>Ureaplasma felinum</i>	Hauskatze	apathogen

Die Überlebenszeit von bis zu 185 Tagen in flüssigen Medien wird bei den meisten Mykoplasmen durch die Temperatur und die Medienzusammensetzung beeinflusst (NAGATOMO et al., 2001). Bei längerer Exposition in Flüssigkeiten mit hoher Osmolarität ist die Überlebenszeit begrenzt (BROWN et al., 1991). Unter trockenen Bedingungen und bei einer Temperatur von 4 °C leben *M. felis* und *M. gateae* bis zu 28 bzw. 70 Tage (Tabelle 10) (NAGATOMO et al., 2001).

Tabelle 10: *In-vitro*-Überlebenszeiten verschiedener feliner Mykoplasmenarten unter unterschiedlichen Bedingungen (NAGATOMO et al., 2001) (n. u. = nicht untersucht, RT = Raumtemperatur)

Spezies	<i>Mycoplasma arginini</i>	<i>Mycoplasma gateae</i>	<i>Mycoplasma felis</i>
Überlebenszeit in flüssigen Medien (in Tagen)			
4 °C	116	86 - 166	n. u.
30 °C	86 - 185	7 - 185	n. u.
37 °C	7 - 86	7 - 86	n. u.
RT	7 - 21	7 - 36	n. u.
Überlebenszeit auf trockenen Papierdisks (in Tagen)			
4 °C	56	7 - 70	7
30 °C	56	7	0 - 7
37 °C	0	0 - 7	0 - 7
RT	0	0 - 7	0

Die Zellmorphologie variiert sehr stark. Überwiegend liegen Mykoplasmen in einer sphärischen Form mit einem Durchmesser von 0,3 bis 0,8 µm vor; Ringe, Spiralen oder Filamente sind ebenfalls anzutreffen. Ein intrazelluläres Zytoskelett hält die Form aufrecht (RAZIN, 1978). Adhesine ermöglichen die Bindung an Rezeptoren der Wirtszellen (RAZIN et al., 1981; RAZIN & JACOBS, 1992; ROTTEM, 2003). Die meisten Erreger bleiben an der Zelloberfläche; einige haben jedoch die Eigenschaft, in Wirtszellen zu penetrieren (LO et al., 1993; RAZIN et al., 1998). Intrazellulär befinden sie sich im Zytoplasma, vor allem in perinukleären Regionen (ANDREEV et al., 1995; GIRON et al., 1996; BOROVSKEY et al., 1998).

Die Genomgröße variiert zwischen 580 und 1.380 kb (FRASER et al., 1995; HIMMELREICH et al., 1996; CHRISTIANSEN et al., 1997; HUMPHERY-SMITH et al., 1997). Charakteristisch ist der niedrige Gehalt an Guanosin/Cytosin

von durchschnittlich 24 bis 33 mol% und der hohe Adenosin/Tymidin-Gehalt von bis zu 75 mol% (DYBVG & VOELKER, 1996; RAZIN et al., 1998).

Mykoplasmen produzieren nur eine geringe Menge an Energie in Form von Adenosintriphosphat durch ihren eigenen Metabolismus, da ihnen Enzyme zur Energiegewinnung im Zitronensäurezyklus und Zytochrome zur Phosphorylierung fehlen (RAZIN, 1973; RAZIN, 1978; MILES, 1992; POLLACK et al., 1997). Die Verstoffwechslung der Kohlehydrate durch zwei verschiedene biochemische Prozesse ermöglicht die Einteilung in „Fermenter“ und „Nicht-Fermenter“ (RAZIN, 1985; FRASER et al., 1995; HIMMELREICH et al., 1996).

2.2.2 Replikation

Die Replikation erfolgt, wie bei anderen Eukaryonten, durch Zweiteilung (KELTON, 1960; FURNESS, 1968). Multinukleäre Filamente entstehen bei einer Dyssynchronisation zwischen Vervielfältigung des Genoms und Zweiteilung des Zytoplasmas (RAZIN, 1978). Die Wachstumsphase von *M. felis* dauert zwischen 1 und 1 ¼ Stunden, in der die Organismen runde, dreieckige, hufeisenförmige oder multilobuläre Formen annehmen (BOATMAN & KENNY, 1970).

2.3. Entdeckung

Mykoplasmen wurden erstmals 1954 bei einem sechs Wochen alten Katzenwelpen mit Pneumonie aus der Lunge isoliert (SWITZER, 1967). Drei Jahre später erfolgte der Nachweis bei einer Katze mit Konjunktivitis (CELLO & PROCTOR, 1957). Der als „pleuropneumonia-like organism“ (PPLO) benannte Erreger wurde Anfang der 50er Jahre in *Mycoplasma* umbenannt (FREUNDT, 1955; EDWARD & FREUNDT, 1956). Eigenschaften wie Morphologie, biochemische Reaktionen und Antigenzusammensetzung dienten 1967 zur Differenzierung von zwei separaten Spezies bei der Katze: *M. felis* und *M. gateae* (COLE et al., 1967). Eine dritte Spezies, *Mycoplasma feliminutum*, wurde bisher nur einmalig bei einer Katze ohne klinische Symptome entdeckt (HEYWARD et al., 1969).

Das Vorkommen von zwei murinen Spezies (*Mycoplasma pulmonis* und *Mycoplasma arthritidis*) und einer aviären Spezies (*Mycoplasma galliseptum*) in Rachentupferproben gesunder Katzen wurde als nebensächlicher Befund gewertet (TAN et al., 1977a). Zwei canine Spezies (*Mycoplasma canis* und *Mycoplasma*

spumans) wurden aus dem Weichteilgewebe einer ursprünglichen Bisswunde kultiviert. Der für die Verletzung der Katze verantwortliche Hund wurde als Quelle der Erreger verantwortlich gemacht (WALKER et al., 1995). Zudem wurden aber sechs von acht Isolaten aus Nasentupfern von Katzen mit Rhinitis als *Mycoplasma canis* identifiziert (LAPPIN et al., 2006).

2.4. Epidemiologie

Antikörper gegen *Mycoplasma*-Spezies (spp.) und die Erreger selbst wurden sowohl bei gesunden als auch bei kranken Katzen in Europa, Amerika, Asien, Australien und Neuseeland isoliert (Tabelle 11)

2.4.1 Antikörperprävalenz

Die Prävalenz von Antikörpern gegen verschiedene feline Mykoplasmen variiert je nach Nachweismethoden. Antikörper gegen *M. felis* und *M. arginini* waren bei gesunden und kranken Katzen vorhanden. Gegen *M. gateae* waren nur nicht signifikante Antikörpertiter nachweisbar (Tabelle 11).

2.4.2 Erregerprävalenz

Die Prävalenz von Mykoplasmen im oberen Respirationstrakt ist abhängig von der Lokalisation der gewonnenen Proben. So waren in Konjunktivaltupferproben *Mycoplasma* spp. mit einer Prävalenz von 0 bis 20 % bei gesunden Katzen und 0 bis 45 % bei kranken Katzen vorhanden (Tabelle 12). Ergebnisse aus Studien mit Speziesdifferenzierung zeigen, dass *M. felis* am häufigsten isoliert wurde, gefolgt von *M. gateae* und *M. arginini*. Bei gesunden Katzen waren *M. felis* und *M. gateae* bei bis zu 4 % bzw. 20 % vorhanden, während bei kranken Katzen bei bis zu 34 % *M. felis*, bis zu 14 % *M. gateae* und bis zu 2 % *M. arginini* angezüchtet werden konnten (Tabelle 13). In einer Studie waren bei 15 bis 29 % der gesunden und 2 bis 62 % der kranken Katzen Mykoplasmen in der Nase nachweisbar (Tabelle 12). Die Prävalenz von *M. felis* lag bei bis zu 28 %, von *M. gateae* bis zu 33 % und von *M. arginini* bei 1 % (Tabelle 13). Fünfunddreißig bis 94 % der gesunden Katzen und bis zu 92 % der kranken Katzen waren Träger von Mykoplasmen im Pharynx (Tabelle 12). Davon waren *M. felis* bei bis zu 46 %, *M. gateae* bei bis zu 77 % und *M. arginini* bei bis zu 19 % der Katzen nachweisbar (Tabelle 14). Im unteren Respirationstrakt waren Mykoplasmen mit einer

Prävalenz von 0 bis 29 % bei gesunden Katzen und von 0 bis 62 % bei kranken Katzen vorhanden (Tabelle 15).

In Tupferproben aus dem Urogenitaltrakt und aus dem Rektum gesunder und kranker Katzen konnten *M. felis*, *M. gateae* und *M. arginini* in unterschiedlicher Prävalenz nachgewiesen werden. In keinem Fall war der Nachweis mit Erkrankungen im Urogenital- oder Gastrointestinaltrakt korreliert (Tabelle 16).

2.5. Pathogenese

Die Übertragung auf andere Katzen findet vor allem durch direkten Kontakt statt. Es wird vermutet, dass es sich um eine lebenslange Infektion handelt. Die Isolation von *M. gateae* bei einem Welpen, der kurz nach Geburt verstarb, deutet auf eine kongenitale oder vaginale Infektion hin (BLACKMORE et al., 1971; WILKINSON, 1980).

2.6. Klinische Symptome

Die Pathogenität von Mykoplasmen konnte mittels experimenteller Infektion nur für einige Spezies gezeigt werden. Klinische Symptome waren dabei abhängig von der zur Infektion verwendeten Spezies und der Art der Applikation (TAN, 1974; BLACKMORE & HILL, 1973; TAN et al., 1977b; HAESBROUCK et al., 1991). Im allgemeinen können diese Bakterien als primärer und sekundärer Erreger am Krankheitsgeschehen beteiligt sein.

2.6.1 Symptome bei der Katze

Mykoplasmen wurden bei der Katze im Zusammenhang mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen, Pneumonien und Arthritiden isoliert (BLACKMORE et al., 1971; CAMPBELL et al., 1973b; MOISE et al., 1983; HAESBROUCK et al., 1991; FOSTER et al., 1998; CHANDLER & LAPPIN, 2002; LIEHMANN et al., 2006).

2.6.1.1 Signalement

Mykoplasmen treten auf bei Katzen mit einem Alter von wenigen Wochen bis 15 Jahre (BLACKMORE et al., 1971).

Tabelle 11: Antikörperprävalenz von *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma gateae* und *Mycoplasma arginini* (gesund = Katzen ohne Symptome, HAH = direkte Hämagglutinationshemmung, ID = Gel-Immudiffusion, IHA = indirekte Hämagglutination, k. A. = keine Angaben, KBR = Komplementbindungsreaktion, krank = Katzen mit Konjunktivitis oder Katzenschnupfen, *M.* = *Mycoplasma*, MIT = metabolischer Hemmtest, n. s. = nicht signifikante Antikörpertiter, - = Test nicht angewendet)

Nachweis	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	Anzahl	Population	Land	Autor
KBR	27 %	n. s.	4 %	45	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
HAH	91 %	-	-	45	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
IHA	-	n. s.	0 %	45	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
ID	60 %	-	-	45	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
MIT	-	-	-	45	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
KBR	15 %	n. s.	23 %	13	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
HAH	85 %	-	-	13	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
IHA	-	n. s.	15 %	13	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
ID	31 %	-	-	13	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
MIT	n. s.	-	-	13	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
KBR	k. A.	n. s.	n. s.	319	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a
HAH	60 %	-	-	319	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a
IHA	-	n. s.	n. s.	319	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a

Tabelle 12/A: Nachweis von *Mycoplasma* spp. aus dem oberen Respirationstrakt (gesund = gesunde Katzen, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*)

Nachweis	Probe	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
Kultur	Konjunktiva	0 %	6	gesund	USA	COLE et al., 1967
Kultur	Konjunktiva	100 %	1	krank	USA	COLE et al., 1967
Kultur	Konjunktiva	20 %	20	gesund	USA	HEYWARD et al., 1969
Kultur	Konjunktiva	100 %	1	krank	USA	HEYWARD et al., 1969
Kultur	Konjunktiva	0 %	43	krank	Australien	SPRADBROW et al., 1970
Kultur	Konjunktiva	6 %	196	unselektiert, Kolonie A	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Konjunktiva	3 %	33	unselektiert, Kolonie B	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Konjunktiva	0 %	8	gesund, Kolonie C	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Konjunktiva	18 %	17	unselektiert, Hauskatzen	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Konjunktiva	20 %	10	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1972
Kultur	Konjunktiva	100 %	9	krank	USA	CAMPBELL et al., 1973b
Kultur	Konjunktiva	27 %	84	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Konjunktiva	45 %	85	krank, PM	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Konjunktiva	0 %	5	unselektiert	Neuseeland	TAN & MILES, 1974b
Kultur	Konjunktiva	19 %	201	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a
Kultur	Konjunktiva	2 %	99	unselektiert	Singapur	TAN et al., 1977b
Kultur	Konjunktiva	100 %	1	krank	Kanada	SHEWEN et al., 1978b
Kultur	Konjunktiva	0 %	35	gesund	Kanada	SHEWEN et al., 1980b
Kultur	Konjunktiva	10 %	39	krank	Kanada	SHEWEN et al., 1980b

Tabelle 12/B: Nachweis von *Mycoplasma* spp. aus dem oberen Respirationstrakt (CRS = chronische Rhinosinusitis, gesund = gesunde Katzen, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*, ¹ = gesunde Katzen mit vorangegnagener Konjunktivis)

Nachweis	Probe	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
Kultur	Konjunktiva	0 %	64	gesund	Belgien	HAESEBROUCK et al., 1991
Kultur	Konjunktiva	25 %	40	krank	Belgien	HAESEBROUCK et al., 1991
Kultur	Konjunctiva	0 %	48	krank	USA	NASSISSE et al., 1993
PCR	Konjunktiva	14 %	576	unselektiert	USA	BANNASCH & FOLEY, 2005
PCR	Konjunktiva	100 %	7	krank	USA	GRAY et al., 2005
PCR	Konjunktiva	9 %	125	unselektiert	USA	LOW et al., 2007
PCR	Konjunktiva	3 %	39	gesund	USA	LOW et al., 2007
PCR	Konjunktiva	7 %	31	gesund ¹	USA	LOW et al., 2007
PCR	Konjunktiva	16 %	55	krank, Konjunktivitis	USA	LOW et al., 2007
Kultur	Nase	15 %	148	gesund	USA	HEYWARD et al., 1969
Kultur	Nase	14 %	38	krank	Australien	SPRADBROW et al., 1970
Kultur	Nase	34 %	32	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Nase	62 %	21	krank, PM	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Nase	29 %	214	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a
Kultur	Nase	2 %	267	krank	Singapur	TAN et al., 1977b
PCR	Nase	38 %	16	krank	USA	JOHNSON et al., 2004
Kultur	Nase	20 %	10	krank, CRS	USA	JOHNSON et al., 2005
PCR	Nase	62 %	42	krank	USA	VEIR et al., 2007

Tabelle 12/C: Nachweis von *Mycoplasma* spp. aus dem oberen Respirationstrakt (gesund = gesunde Katzen, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*)

Nachweis	Probe	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
Kultur	Maulhöhle	65 %	148	gesund	USA	HEYWARD et al., 1969
Kultur	Maulhöhle	100 %	1	krank	Australien	SPRADBROW et al., 1970
Kultur	Pharynx	100 %	5	gesund	Australien	JONES & SABINE, 1970
Kultur	Pharynx	58 %	196	unselektiert	Kolonie A	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Pharynx	78 %	33	unselektiert	Kolonie B	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Pharynx	75 %	8	gesund, Kolonie C	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Pharynx	88 %	17	unselektiert, Hauskatzen	Großbritannien	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	Pharynx	94 %	32	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1972
Kultur	Pharynx	81 %	151	krank	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Pharynx	92 %	85	krank, PM	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Pharynx	60 %	5	gesund	Neuseeland	TAN & MILES, 1974b
Kultur	Pharynx	93 %	319	gesund	Singapur	TAN et al., 1977a
Kultur	Pharynx	11 %	620	unselektiert	Singapur	TAN et al., 1977b
Kultur	Pharynx	39 %	28	krank	USA	RANDOLPH et al., 1993
Kultur	Pharynx	35 %	17	gesund	USA	RANDOLPH et al., 1993
PCR	Pharynx	69 %	42	krank	USA	VEIR et al., 2007

Tabelle 13/A: Differenzierung der in oberen Respirationstrakt nachgewiesenen *Mycoplasma* spp. (gesund = gesunde Katzen, K = Konjunktiva, k. A. = keine Angaben, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, n. u. = nicht untersucht, *M.* = *Mycoplasma*, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*)

Nachweis	Probe	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. felimi- nutum</i>	Anzahl	Population	Autor
Kultur	K	100 %				1	krank	COLE et al., 1967
Kultur	K	0 %	20 %	n. u.	0 %	20	gesund	HEYWARD et al., 1969
Kultur	K	100 %				1	krank	HEYWARD et al., 1969
Kultur	K	6 %	0 %	n. u.	n. u.	196	unselektiert, Kolonie A	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	K	3 %	0 %	n. u.	n. u.	33	unselektiert, Kolonie B	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	K	18 %	0 %	n. u.	n. u.	17	unselektiert, Hauskatzen	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	K	100 %				9	krank	CAMPBELL et al., 1973b
Kultur	K	24 %	1 %	2 %	n. u.	84	krank	TAN & MILES, 1974a
Kultur	K	34 %	11 %	0 %	n. u.	85	krank, PM	TAN & MILES, 1974a
Kultur	K	4 %	15 %	0 %	n. u.	201	gesund	TAN et al., 1977a
Kultur	K	n. u.	n. u.	2 %	n. u.	99	unselektiert	TAN et al., 1977b
Kultur	K	100 %				1	krank	SHEWEN et al., 1978b
Kultur	K	10 %	n. u.	n. u.	n. u.	39	krank	SHEWEN et al., 1980b

Tabelle 13/B: Differenzierung der in oberen Respirationstrakt nachgewiesenen *Mycoplasma* spp. (gesund = gesunde Katzen, K = Konjunktiva, k. A. = keine Angaben, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, n. u. = nicht untersucht, *M.* = *Mycoplasma*, MH = Maulhöhle, N = Nase, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*)

Nachweis	Probe	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. feliminutum</i>	Anzahl	Population	Autor
Kultur	K	25 %	n. u.	n. u.	n. u.	40	krank	HAESEBROUCK et al., 1991
PCR	K	86 %	14 %	n. u.	n. u.	7	krank	GRAY et al., 2005
Kultur	NA	15 %	21 %	n. u.	n. u.	62	gesund	HEYWARD et al., 1969
Kultur	NA	9 %	25 %	0 %	n. u.	32	krank	TAN & MILES, 1974a
Kultur	NA	29 %	33 %	0 %	n. u.	21	krank, PM	TAN & MILES, 1974a
Kultur	NA	8 %	19 %	1 %	n. u.	214	gesund	TAN et al., 1977a
Kultur	NA	n. u.	n. u.	1 %	n. u.	267	unselektiert	TAN et al., 1977b
PCR	NA	38 %	0 %	0 %	n. u.	16	krank	JOHNSON et al., 2004
Kultur	MH	12 %	93 %	n. u.	1 %	90	gesund	HEYWARD et al., 1969

Tabelle 14: Differenzierung der im Pharynx nachgewiesenen *Mycoplasma* spp. (Anz. = Anzahl, gesund = gesunde Katzen, k. A. = keine Angaben, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, *M.* = *Mycoplasma*, n. u. = nicht untersucht, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*)

Nachweis	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. pulmonis</i>	<i>M. arthritidis</i>	<i>M. galliseptum</i>	Anz.	Population	Autor
Kultur	18 %	16 %	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	196	unselektiert, Kolonie A	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	46 %	3 %	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	33	unselektiert, Kolonie B	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	13 %	63 %	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	8	gesund, Kolonie C	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	29 %	18 %	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	17	unselektiert, Hauskatzen	BLACKMORE et al., 1971
Kultur	25 %	42 %	19 %	n. u.	n. u.	n. u.	151	krank	TAN & MILES, 1974a
Kultur	38 %	77 %	19 %	n. u.	n. u.	n. u.	85	krank, PM	TAN & MILES, 1974a
Kultur	0 %	60 %	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	5	gesund	TAN & MILES, 1974b
Kultur	15 %	63 %	8 %	2 %	2 %	1 %	319	gesund	TAN et al., 1977a
Kultur	n. u.	n. u.	11 %	n. u.	n. u.	n. u.	620	unselektiert	TAN et al., 1977b

Tabelle 15: Nachweis von *Mycoplasma* spp. aus dem unteren Respirationstrakt (BAL = bronchoalveoläre Lavage, gesund = gesunde Katzen, krank = Katzen mit inflammatorischen Krankheiten des unteren Respirationstraktes, PM = *post mortem*, unselektiert = gemischte Population mit gesunden und kranken Katzen)

Nachweis	Probe	Prävalenz	Anzahl	Population	Land	Autor
Kultur	Trachea	29 %	35	gesund	USA	HEYWARD et al., 1969
Kultur	Trachea	27 %	11	krank, PM	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Trachea	0 %	3	krank	Singapur	TAN et al., 1977b
Kultur	Lunge	0 %	55	krank	Australien	SPRADBROW et al., 1970
Kultur	Lunge	17 %	35	krank, PM	Neuseeland	TAN & MILES, 1974a
Kultur	Lunge	33 %	6	unselektiert	Singapur	TAN et al., 1977b
Kultur	BAL	0 %	24	gesund	USA	PADRID et al., 1991
Kultur	BAL	21 %	28	krank	USA	RANDOLPH et al., 1993
Kultur	BAL	0 %	18	gesund	USA	RANDOLPH et al., 1993
Kultur	BAL	100 %	3	krank	Australien	FOSTER et al., 1998
Kultur	Lunge	2 %	245	krank	Schweiz	BART et al., 2000
Kultur	BAL	100 %	3	krank	USA	CHANDLER & LAPPIN, 2002
Kultur	BAL	62 %	21	krank	Australien	FOSTER et al., 2004a

Tabelle 16: Nachweis von Mykoplasmen aus dem Gastro- und Urogenitaltrakt (gesund = gesunde Katzen, krank = Katzen mit Konjunktivitis, Katzenschnupfen oder Erkrankungen des unteren Respirationstraktes, *M.* = *Mycoplasma*, n. u. = nicht untersucht, unselektiert = unselektierte Population hinsichtlich klinischer Symptomatik, PM = *post mortem*, RM = Rektum, UG = Urogenitaltrakt, ♂ = männlich, ♀ = weiblich)

Nachweis	Probe	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	Nicht differenziert	Anzahl	Population	Autor
Kultur	UG	10 %	0 %	n. u.		10	gesund, ♂	HEYWARD et al., 1969
Kultur	UG	27 %	17 %	n. u.		30	gesund, ♀	HEYWARD et al., 1969
Kultur	UG				27 %	15	gesund	TAN & MILES, 1972
Kultur	UG	8 %	68 %	14 %		37	krank	TAN & MILES, 1974a
Kultur	UG	0 %	43 %	0 %		7	krank, PM	TAN & MILES, 1974a
Kultur	UG	0 %	0 %	n. u.		5	gesund	TAN & MILES, 1974b
Kultur	UG	3 %	10 %	0 %		175	gesund	TAN et al., 1977a
Kultur	UG	n. u.	n. u.	2 %		219	unselektiert	TAN et al., 1977b
Kultur	RM	2 %	4 %	1 %		85	gesund	TAN et al., 1977a
Kultur	RM	n. u.	n. u.	1 %		85	unselektiert	TAN et al., 1977b

2.6.1.2 Augen

M. felis wird als ein ursächlicher Keim bei Konjunktividen der Katze diskutiert, allerdings wird die primäre Pathogenität in Frage gestellt, da sich Symptome auch bei Katzen ohne Therapie verbesserten (SCHNECK, 1972; CAMPBELL et al., 1973b; HAESEBROUCK et al., 1991). Die Pathogenität kann möglicherweise durch andere Erreger (z. B. *Chlamydophila felis* oder Viren) beeinflusst werden (SCHNECK, 1972; HAESEBROUCK et al., 1991).

In einer Studie von Haesebrouck und Mitarbeiter (1991) wurden vier Katzen mit *M. felis* infiziert. Im Anschluss entwickelten alle Tiere eine bilaterale mittel- bis hochgradige Konjunktivitis, die zwischen Tag 2 und maximal Tag 7 vorhanden war (HAESEBROUCK et al., 1991). In einer anderen experimentellen Studie traten nach Infektion mit *M. felis* keine klinischen Symptome auf und es waren makro- und mikroskopische Läsionen in der Histologie vorhanden (BLACKMORE & HILL, 1973).

Im Zusammenhang mit akuten und chronischen Konjunktividen wurden unter allen bei Katzen isolierten Mykoplasmen *M. felis* am häufigsten nachgewiesen (COLE et al., 1967; HEYWARD et al., 1969; BLACKMORE et al., 1971; CAMPBELL et al., 1973b; TAN & MILES, 1974a; SHEWEN et al., 1980b; HAESEBROUCK et al., 1991). Die Symptome sind uni- oder bilateral (HEYWARD et al., 1969; CELLO, 1971a; SCHNECK, 1972; CAMPBELL et al., 1973b; HAESEBROUCK et al., 1991). Zu Beginn treten Symptome nur unilateral auf; nach ca. sieben bis zehn Tagen ist meistens das zweite Auge mit betroffen (CELLO, 1971a; MARTIN, 1981). Eine Hyperämie der Schleimhaut tritt an bulbären und palpebralen Konjunktiven als auch an der Nickhaut auf (CAMPBELL et al., 1973b; MARTIN, 1981; HAESEBROUCK et al., 1991). Chemosis, Blepharospasmus, papilläre Hypertrophie und seröser, vereinzelt auch mukopurulenter Augenausfluss sind beschrieben (CAMPBELL et al., 1973b; MARTIN, 1981). Histologisch kann eine Infiltration des subepithelialen Gewebes mit neutrophilen Granulozyten, Plasmazellen und Lymphozyten gesehen werden. Die Arteriolen und Venolen waren dilatiert und das konjunktivale Epithel bis auf eine einzelne Zellschicht erodiert (CAMPBELL et al., 1973b).

Bei einer Katze mit Keratitis wurde bereits 1971 *M. felis* isoliert (BLACKMORE et al., 1971). Gray und Mitarbeiter (2005) beschrieben den Nachweis von Mykoplasmen bei sieben Katzen mit schwerer ulzerativer Keratitis. Klinisch war eine ulzerative Keratitis mit Beteiligung des Stromas, eine Keratomalazie oder

beide klinische Befunde vorhanden. Mittels PCR wurden bei sechs Katzen *M. felis* und bei einer Katze *M. gateae* nachgewiesen. Beide Erreger werden zwar nicht als kausales Agens eingestuft, dennoch gibt es Hinweise auf klinische Relevanz (GRAY et al., 2005).

Vereinzelt wurde *M. arginini* aus Konjunktivaltupferproben von unselektierten Katzen isoliert (TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977b). Die experimentelle Infektion mit diesem Erreger führte bei intranasaler und intraokulärer Applikation zu keinen Symptomen. Jeweils zwei von vier Katzen entwickelten Fieber und Anorexie. Der in diesem Versuch verwendete Stamm war daher für Katzen nicht pathogen (TAN et al., 1977b).

2.6.1.3 Respirationstrakt

Mykoplasmen zählen zu den normalen, apathogenen Besiedlern der Schleimhaut des oberen Respirationstraktes und des Pharynx (HEYWARD et al., 1969; TAN et al., 1977a). Sie werden zu einem annähernd gleichen Prozentsatz bei gesunden und kranken Katzen nachgewiesen. In einer Studie bei Katzen mit chronischer Rhinosinusitis wurden bei zwei von zehn Katzen *Mycoplasma* spp. in Nasenspülproben, nicht aber in Biopsien identifiziert (JOHNSON et al., 2005).

Im Gegensatz zur Nase scheinen im unteren Respirationstrakt die Bakterien nicht Bestandteil der normalen Flora zu sein. In zwei Studien wurde bei keiner der untersuchten gesunden Katzen Mykoplasmen in der BAL nachgewiesen (PADRID et al., 1991; RANDOLPH et al., 1993). Andere Studien evaluierten das Vorkommen der Bakterien im unteren Respirationstrakt beim Vorliegen von respiratorischen Symptomen. In Lungengewebe waren Mykoplasmen bei bis zu 2 % und in der BAL bei bis zu 62 % der Katzen nachweisbar (BART et al., 2000; FOSTER et al., 2004a). Zudem liegen einige Fallberichte vor, in denen Mykoplasmen bei Katzen mit Pneumonie in der BAL und aus Lungengewebe isoliert wurden (BLACKMORE et al., 1971; FOSTER et al., 1998; CHANDLER & LAPPIN, 2002). Aufgrund des Vorkommens in Verbindung mit Erkrankungen im unteren Respirationstrakt werden Mykoplasmen als primäre Erreger eingestuft (RANDOLPH et al., 1993; FOSTER et al., 1998; CHANDLER & LAPPIN, 2002; FOSTER et al., 2004b). Infektionen des unteren Respirationstraktes mit Mykoplasmen können ebenso sekundär auf bereits vorhandene primäre Lungenerkrankungen folgen (FOSTER et al., 2004a; FOSTER et al., 2004b).

In einer experimentellen Studie, in der vier Katzen mit *M. felis*, vier Katzen mit *M. gateae* und fünf Katzen mit *M. arginini* infiziert wurden, entwickelten die Tiere keine klinischen Symptome während der Beobachtungsperiode von 21 Tagen. *Post mortem* waren keine makroskopisch und histologisch sichtbaren Veränderungen der Trachea und der Lunge nachweisbar (BLACKMORE & HILL, 1973).

In selten Fällen sind *Mycoplasma* spp. im Exsudat eines Pyothorax vorhanden (MALIK et al., 1991; GULBAHAR & GURTURK, 2002; BARRS et al., 2005). In den zwei publizierten Fällen befand sich ein rötlich-braunes, geruchloses Exsudat im Thorax (MALIK et al., 1991; GULBAHAR & GURTURK, 2002). Eine Speziesdifferenzierung wurde in einem der beiden Fälle anhand Kolonienmorphologie, Hämolyse und biochemischen Ergebnissen durchgeführt und der Erreger als *M. felis* eingestuft (MALIK et al., 1991). Die Entwicklung eines Pyothorax scheint nicht unbedingt mit Erkrankungen des Respirationstraktes verbunden zu sein, da nur eine Katze an Katzenschnupfen und Bronchopneumonie erkrankt war, während die andere Katze sonst keine Symptome zeigte (MALIK et al., 1991; GULBAHAR & GURTURK, 2002). Eine unzureichende maternale Immunität und Immuninkompetenz werden als Wegbereiter von Mykoplasmen-Erkrankungen angesehen (MALIK et al., 1991).

In einem Fallbericht wurde von einer sechs Jahre alten Katze mit pulmonärem Abszess berichtet (CRISP et al., 1987). Bei Vorstellung lag trockener Husten und eine inspiratorisch verschärfte Atmung vor. Die röntgenologisch sichtbare thorakale Masse wurde entfernt und histologisch als chronisch pulmonäre Fibrose mit schwerer chronischer neutrophiler und lymphozytärer Entzündung eingestuft. Aus dem Abszess wurden *Mycoplasma* spp. isoliert; eine Speziesdifferenzierung erfolgte nicht. Die Autoren vermuten, dass ein Biss den Lungenabszess hervorrief, da vier Monate zuvor ein Abszess am Hals der Katze behandelt wurde (CRISP et al., 1987). Ein weiterer *Mycoplasma*-assoziierter Abszess wurde bei einer 10 Jahre alten, männlich kastrierten Katze mit fokaler thorakaler Masse mittels Ultraschallgeführter Feinnadelaspirationszytologie identifiziert (FOSTER et al., 2004a).

2.6.1.4 Gelenke

Sechs Fälle von Katzen mit Mono- bzw. Polyarthrititis und Tendosynovitis wurden bisher publiziert. *M. felis* wurde bei drei Katzen, *M. gateae* bei zwei Katzen identifiziert und bei der sechsten Katze erfolgte keine Speziesdifferenzierung

(MOISE et al., 1983; HOOPER et al., 1985; ERNST & GOGGIN, 1999; LIEHMANN et al., 2006; ZEUGSWETTER et al., 2007). Geschwollene, schmerzhafte Gelenke, Lahmheit und Fieber waren die häufigsten Symptome. Die Farbe der Synovia variierte von klar über creme-gelb bis gelb-grau, und die Konsistenz wurde als normal viskös oder dickflüssig beschrieben. Fibrinauflagerungen waren an der ödematösen Kapsel und an den periartikulären Geweben vorhanden (HOOPER et al., 1985; ERNST & GOGGIN, 1999; LIEHMANN et al., 2006). Da bei einer Katze eine hochgradige Lymphopenie vorlag, wurde angenommen, dass die Immunsuppression die Verbreitung der Erreger begünstigte (HOOPER et al., 1985).

M. gateae wurde bei einer chronischen, nekrotisierenden, fibropurulenten Polyarthrititis und Tendosynovitis von einer Katze mit Lahmheit, geschwollenen Gelenken und Fieber isoliert. In einer experimentellen Studie mit diesem Mykoplasmenstamm entwickelten alle sechs Katzen eine akute fibropurulente Arthritis mit Lahmheit. Bei drei der sechs Katzen wurde *M. gateae* aus den Gelenken wieder isoliert (MOISE et al., 1983). In einer anderen Fallbeschreibung einer Katze mit *M.-gateae*-assoziiertes erosiver Polyarthrititis wurde der Erreger aus der Synovialflüssigkeit eines Karpal- und eines Tarsalgelenkes angezüchtet. Symptome entwickelten sich eine Woche nach Beginn einer immunsuppressiven Therapie wegen einer zuvor diagnostizierten miliaren Dermatitis. Die Behandlung mit Enrofloxacin verbesserten die Symptome, allerdings wurde die Katze zwei Monate später wegen einer nicht-regenerativen auto-immunen Anämie und chronischen Nierenversagen euthanasiert. Dieser Fallbericht konnte abschließend nicht klären, ob es sich um eine immunmedierte oder infektiöse Arthritis handelt (ZEUGSWETTER et al., 2007).

2.6.1.5 Weitere Manifestationen

Die Isolation eines *M.-arginini*-Stamms aus dem Gehirn eines alten Katers, der aufgrund Ataxie euthanasiert wurde, lässt eine Beteiligung an Krankheitskomplexen des zentralen Nervensystems vermuten (TAN et al., 1977b). Es wurde in diesem Fall keine histopathologische Untersuchung durchgeführt; auch andere Studien konnten die Frage der ätiologischen Rolle von Mykoplasmen im Gehirn nicht klären (HEYWARD et al., 1969; TAN et al., 1977b).

Mykoplasmen waren scheinbar die Ursache von chronischen, subkutanen Abszessen bei drei Katzen. Der Abszessinhalte einer Katze war rötlich-braun bis purulent und geruchlos; Erreger waren kulturell nicht nachweisbar. Einer gesunden Katze wurde dieses Exsudat subkutan injiziert; dies hatte die Entwicklung von zwei großen Abszessen zur Folge. Aus diesen und aus eingeschickten Tupferproben des überweisenden Tierarztes wurden Mykoplasmen angezüchtet (KEANE, 1983).

In einer Studie über mögliche infektiöse Ursachen der felines infektiösen Pododermatitis war die Mykoplasmen-PCR in allen Gewebeproben negativ. Die Autoren schlussfolgern, dass die Erreger nicht vorhanden waren und damit auch nicht an der Pathogenese beteiligt sind. Dennoch wurde Möglichkeit nicht vollständig ausgeschlossen und weitere Untersuchungen mit Gewebeproben gepaart mit Antikörpertitern empfohlen (BETTENAY et al., 2007).

2.6.2 Symptome bei anderen Feliden

Mykoplasmen waren an Erkrankungen des Respirationstraktes bei einem Serval und des zentralen Nervensystems bei einem Löwen beteiligt (HEYWARD et al., 1969; JOHNSRUDE et al., 1996)

2.6.2.1 Respirationstrakt

Ein in einem privaten Haushalt mit engem Kontakt zu Hauskatzen aufgezogener Servalwelpen entwickelte eine Pneumonie. Die im Ausstrich der BAL vorhandenen ca. 1 µm großen, intra- und extrazellulären Bakterien wurden als *M. felis* identifiziert. Obwohl kein Hinweis auf eine Immunsuppression vorlag, vermuten die Autoren, dass ein Mangel an Kollostrum am ersten Lebenstag die Infektion begünstigte (JOHNSRUDE et al., 1996).

2.6.2.2 Zentrales Nervensystem

Bei einem Löwen, der mit Symptomen des Großhirns verstarb, wurde aus tiefen Gehirnbiopsien und aus Lungengewebe *Mycoplasma leonis* isoliert (HEYWARD et al., 1969). *Mycoplasma leonis* wurde später als identisch mit *Mycoplasma arginini* identifiziert (TULLY et al., 1972).

2.6.3 Symptome beim Pferd

Pferde scheinen ein weiterer Wirt für *M. felis* zu sein. Der Respirations- und der Genitaltrakt wird bevorzugt besiedelt (AMMAR et al., 1980; KIRCHHOFF et al., 1982; HOFFMAN et al., 1991; WOOD et al., 1997; SPERGSER et al., 2002).

2.6.3.1 Respirationstrakt

In Studien über die Keimzusammensetzung des Respirationstraktes gesunder Pferde wurde in seltenen Fällen *M. felis* aus nasopharyngealen Tupferproben oder aus der BAL angezüchtet (ALLAM & LEMCKE, 1975; HOFFMAN et al., 1991; WOOD et al., 1997). Das Vorkommen von subklinischen Infektionen wird wegen des Nachweises von Antikörpern bei klinisch gesunden Fohlen vermutet (ROSENDAL et al., 1986).

Bei Pferden mit respiratorischen Symptomen konnte *M. felis* aus nasopharyngealen Tupferproben und aus Trachealspülproben isoliert werden. Zum Zeitpunkt der Probenentnahme waren reduziertes Allgemeinbefinden, Husten (in Ruhe und unter Belastung), Augen- und Nasenausfluss, Fieber und Vergrößerung der Lymphknoten vorhanden. Antikörper konnten bei einigen Pferden ebenfalls nachgewiesen werden (CARMAN et al., 1997; WOOD et al., 1997). Der Erregernachweis und der Antikörpertiter korrelierten mit dem Vorkommen klinischer Symptome, wie z. B. Husten und erhöhte Mukusproduktion, im Respirationstrakt (WOOD et al., 1997; NEWTON et al., 2003). Dennoch bleibt die Rolle von *M. felis* bei Erkrankungen des unteren Respirationstraktes von Pferden unklar (CARMAN et al., 1997; WOOD et al., 1997; CHANTER, 2002).

M.-felis-Infektionen wurden auch als seltene Ursache von Pleuritiden bei Pferden beschrieben. Bei den sieben in der Literatur erwähnten spontan erkrankten Pferden konnte der Erreger direkt aus dem Pleuralerguss angezüchtet werden (OGILVIE et al., 1983; ROSENDAL et al., 1986; HOFFMAN et al., 1992; MORLEY et al., 1996). Die experimentelle Infektion eines Ponies mit einem aus einem Pleuralerguss isolierten *M.-felis*-Stammes führte zur Entwicklung klinischer Symptome (Fieber, erhöhte Atemfrequenz, Thoraxerguss, Schmerzen) zwei Tage *post infectionem* (OGILVIE et al., 1983). Zusätzliche Hinweise für die Pathogenität lieferten Befunde der pathologischen und histopathologischen Untersuchung, die Isolierung von *M. felis* während der akuten Phase der Pleuritis und der Anstieg des Antikörpertiters nach Infektion (OGILVIE et al., 1983;

ROSENDAL et al., 1986). Bei einem Pferd lag zusätzlich eine Perikarditis mit Perikarderguss vor, in dem ebenfalls *M. felis* nachgewiesen wurde (MORLEY et al., 1996).

2.6.3.2 Genitaltrakt

Der Genitaltrakt von Hengsten stellt nach Spergser und Mitarbeiter (2002) ein Reservoir für *M. felis* dar, auf dessen Schleimhaut der Erreger als Kommensale vorkommt. *M. felis* wurde bei acht von 438 Abstrichen aus dem Genitaltrakt asymptomatischer Hengste isoliert. Es lag keine signifikante Korrelation zwischen klinischen Symptomen, Samenqualität und Alter der Pferde vor (SPERGSER et al., 2002).

In zwei Studien konnten Antikörper gegen *M. felis* mittels ELISA bei Vollblutstuten nach Abort nachgewiesen werden. Die Prävalenz lag bei 45 % (26 von 58 Seren) und 50 % (19 von 38 Seren) (AMMAR et al., 1980; KIRCHHOFF et al., 1982). In keiner der beiden Studien wurde ein direkter Nachweis der Erreger durchgeführt, so dass die Beteiligung an den Aborten fraglich bleibt.

2.6.4 Symptome beim Menschen

Ein Nachweis von Mykoplasmen beim Menschen wurde in der Literatur zweimal beschrieben. Eine Kratzverletzung an der Hand, hervorgerufen durch eine Katze, führte bei einer Tierärztin zur Entwicklung einer Zellulitis (MCCABE et al., 1987). Eine immunsupprimierte Patientin entwickelte eine Arthritis im linken Hüftgelenk und im rechten Knie; aus beiden Gelenken wurde *M. felis* isoliert. Als Infektionsquelle wurde entweder die eigene Katze oder Katzen aus dem Tierheim, in dem Patientin arbeitete, angesehen (BONILLA et al., 1997).

2.7. Diagnose

Mykoplasmeninfektionen können durch indirekte und direkte Methoden nachgewiesen werden. Kommerzielle Testkits gibt es bisher noch nicht.

2.7.1 Indirekte Nachweisverfahren

Zum indirekten Nachweis von feline Mykoplasmen werden die in Abbildung 7 gelisteten Methoden verwendet.

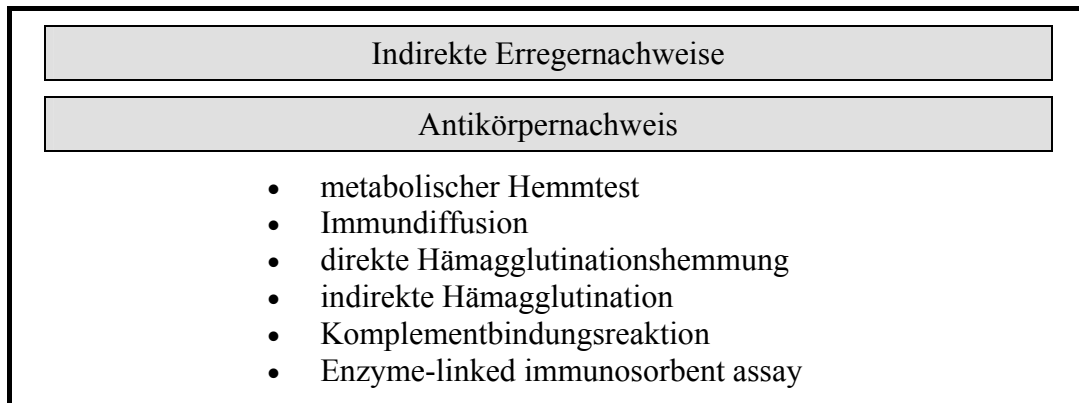


Abbildung 7: Mögliche serologische Verfahren zum Nachweis von Antikörpern gegen feline Mykoplasmen (TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a; KIRCHHOFF et al., 1982; ROSENDAL et al., 1986; WOOD et al., 1997)

2.7.1.1 Metabolischer Hemmtest

Der metabolische Hemmtest beruht auf der Suppression des Wachstums der zu untersuchenden Mykoplasmenart. Ob ein Wachstum der zu untersuchenden Spezies vorliegt, wird anhand der Farbveränderung des Agars durch die Umsetzung der zugefügten Substrate beurteilt (siehe 2.7.2.2.2 Biochemische Reaktion). Die höchste Serumkonzentration, die eine Farbveränderung von mehr als 50 % im Vergleich zur gleichen Verdünnung von Mykoplasmen (gewachsen auf Medium ohne Antiserum) hervorruft, wird als Endpunkt der Antikörpertitration angesehen (PURCELL et al., 1966; TAYLOR-ROBINSON et al., 1966). Um eine richtige Interpretation zu gewährleisten, werden die Ergebnisse erst ermittelt, nachdem die Kontrollen (Mykoplasmenzellen ohne Serum) ihre Farbe zu gelb (Dextroseverwerter) bzw. rot (Argininverwerter) verändert haben (TAN & MILES, 1974a).

2.7.1.2 Immundiffusion

Für die Immundiffusion werden besondere Agarplatten verwendet, die insgesamt fünf oder sieben Vertiefungen aufweisen (eine zentrale und vier bzw. sechs periphere Vertiefungen), in die die Reagenzien (Antigen oder Antikörper) verbracht werden (TAYLOR-ROBINSON et al., 1963; TAN & MILES, 1971). Ausgewertet werden Präzipitationslinien, die entsprechend der Anzahl der Vertiefungen entweder eine quadratische oder eine hexagonale Form bilden (Abbildung 8) (HEYWARD et al., 1969; TAN & MILES, 1971). Fotografien erlauben eine spätere Auswertung der Platten (TAYLOR-ROBINSON et al., 1963; HEYWARD et al., 1969).

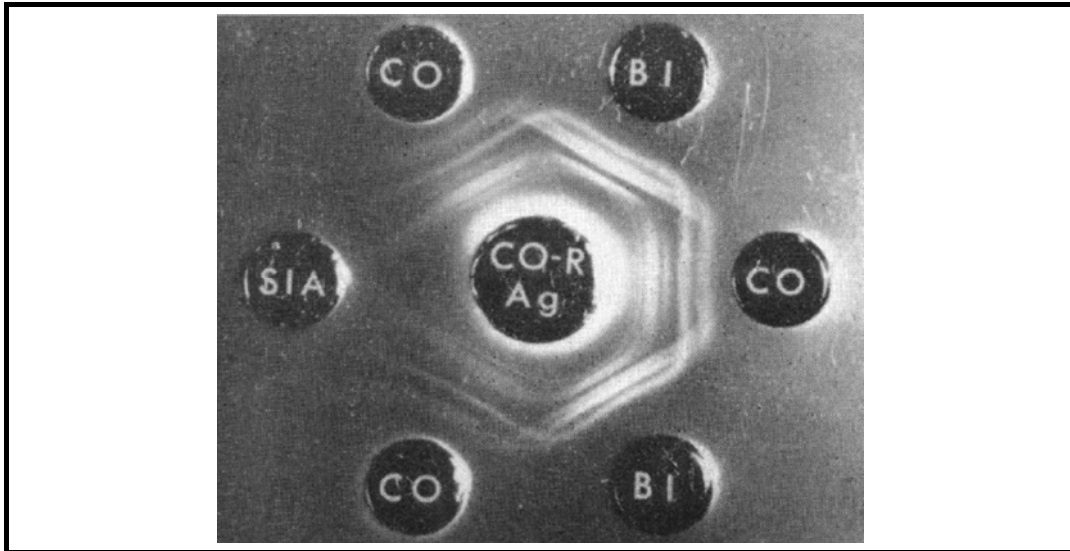


Abbildung 8: Gel-Immendiffusionsplatte, die die Beziehung zwischen den drei *M. felis*-Stämmen (CO, CO-R, BI) und dem *M. gateae*-Stamm (SIA) zeigt. Das CO-R-Antigen befindet sich in der zentralen Vertiefung, die Antisera sind in den peripheren Vertiefungen (nach COLE et al., 1967)

2.7.1.3 Direkte Hämagglutinationshemmung

Die ursprünglich für den *Mycoplasma-synoviae*-Antikörpernachweis von Vardeman und Yoder (1969) entwickelte Methode wurde in einer modifizierten Form in der Studie von Tan und Miles (1974) angewendet (VARDAMAN & YODER, 1969; TAN & MILES, 1974a). Im ersten Schritt werden Antigene der zu untersuchenden Mykoplasmenart hergestellt und deren Fähigkeit zur Hämagglutination in Verdünnungsreihen getestet. Eine komplette Hämagglutination wird als Endpunkt gewertet. Zur Bestimmung der Titerhöhe werden die zu untersuchenden Serumproben bis 1:1280 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und hämagglutinierende Antigene und Erythrozyten hinzugefügt. Erfolgt eine komplette Hemmung der Hämagglutination bei einer Verdünnung von 1:80 und mehr, ist das Ergebnis positiv, bei Verdünnung von 1:40 ist das Ergebnis als zweifelhaft zu werten (VARDAMAN & YODER, 1969).

2.7.1.4 Indirekter Hämagglutinationstest

Mykoplasmenantigene werden zur Sensibilisierung der Erythrozyten zusammen mit Mykoplasmenantigenen inkubiert und anschließend gewaschen. Aus den zu untersuchenden Seren werden Verdünnungsreihen in Mikrotiterplatten hergestellt, zu denen die sensibilisierten Erythrozyten hinzugefügt werden. Das Testergebnis wird nach Inkubation abgelesen (KIRCHHOFF et al., 1982). Antikörpertiter

gegen *M. arginini* und *M. gateae* waren in überwiegenden Zahl der untersuchten Serumproben nicht signifikant (TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a).

2.7.1.5 Komplementbindungsreaktion

Für eine KBR werden Mikrotiterplatten verwendet, in dessen Vertiefungen Serum (in einer Verdünnungsreihe) mit Antigen, Komplement und Erythrozyten inkubiert wird (SEVER, 1962). Zur Bestimmung der Titerhöhe bei Mykoplasmeninfektionen der Katze und der Pferde werden Komplement von Meerschweinchen und Schaferythrozyten verwendet (TAN & MILES, 1974a; KIRCHHOFF et al., 1982).

2.7.1.6 Enzyme-linked immunosorbent assay

Ein ELISA zum Nachweis von *M.-felis*-Antikörpern bei Pferden wurde in allen Studien eingesetzt (AMMAR et al., 1980; KIRCHHOFF et al., 1982).

2.7.2 Direkte Nachweisverfahren

Der direkte Nachweis ist durch verschiedene Methoden möglich (Abbildung 9). Die Anzucht in speziellen Nährmedien ist die Grundlage für weitere Untersuchungen, die dann eine Speziesdifferenzierung möglich machen (WALKER, 2004).

2.7.2.1 Elektronenmikroskopie

In Nativausstrichen von Exudat können mit dem Elektronenmikroskop die Organismen sichtbar gemacht werden (JONES & SABINE, 1970; MALIK et al., 1991; GREENE, 2006b). Diese Methode ist allerdings zu Routinediagnostik nicht geeignet.

2.7.2.2 Erregeranzüchtung

Zum Transport von Untersuchungsmaterial sind Hayflick-, Amies- (ohne Charcoal) oder modifiziertes Stuart-Medium geeignet. Dauert der Transport länger als 24 Stunden, sollten die Proben eingefroren werden und auf Trockeneis oder mit flüssigem Stickstoff verschickt werden (WALKER, 2004; GREENE, 2006b).

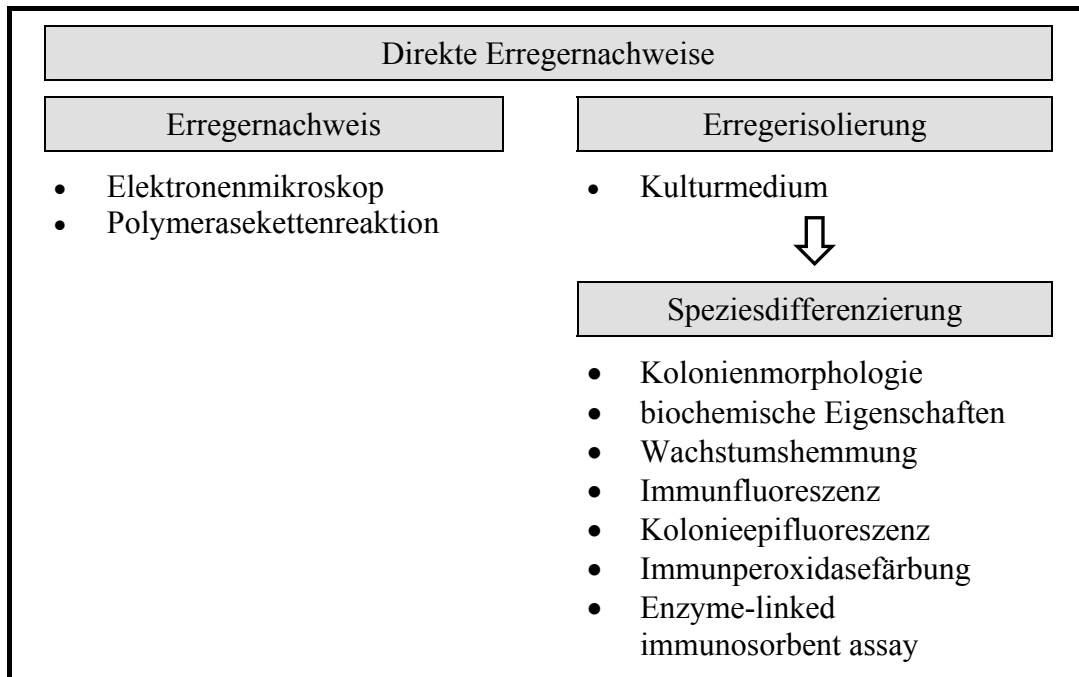


Abbildung 9: Diagnostische Verfahren zum direkten Nachweis von Mykoplasmen und Möglichkeiten zur Speziesdifferenzierung (WALKER, 2004)

Mykoplasmen sind fakultativ anaerobe Keime. Das schnellste Wachstum wird unter aeroben Bedingungen mit einem erhöhten Kohlenstoffdioxidgehalt (5 % - 10 % CO₂) bei 37 °C erzielt. Der optimale pH-Wert beträgt 7,5. Die speziellen Nährmedien sind sehr komplex. Sie enthalten Serum als Cholesterolgehalt, da Mykoplasmen nicht zur selbständigen Fettsäuresynthese befähigt sind, und ein Hefeextrakt, das zusätzliche Wachstumsfaktoren liefert (EDWARD & FITZGERALD, 1951; WALKER, 2004). Die Zugabe eines Antibiotikums, das das Wachstum der Mykoplasmen nicht hemmt (Penicillin, Thalliumacetat), und eines Antimykotikums (Amphotericin B), verhindert die Überwucherung mit anderen Bakterien oder Pilzen (WALKER, 2004; GREENE, 2006b). Flüssige Medien sind im Vergleich zu festen Medien zur Kultur von Mykoplasmen besser geeignet (HILL, 1971).

Um Mykoplasmen von anderen Bakterien unterscheiden zu können, besteht die Möglichkeit, die Kulturen mit Methylenblau (Dienes-Färbung) zu färben. Mykoplasmen erscheinen blau, während Kolonien mit anderen Bakterien durch den Abbau des Farbstoffs farblos sind (WALKER, 2004). Die direkte Anwendung von Immunfluoreszenz auf Agarplatten ermöglicht die Differenzierung von verschiedenen Mykoplasmenspezies in gemischten Kulturen. Mit dieser Technik können auch Mykoplasmenkulturen entdeckt werden, die nicht in der typischen

Form wachsen und Kulturen, die mit Pilzen oder Bakterien überwucherte sind (DEL GIUDICE et al., 1967).

2.7.2.2.1 Kolonienmorphologie

Mykoplasmen wachsen in charakteristischen, Spiegelei-förmigen („fried egg“) Kolonien (Abbildung 10) (GREENE, 2006b). Das Wachstum ist oberflächlich, nur in der Mitte der Kultur penetrieren die Bakterien in den Agar, so dass sich der zentrale Kern bildet (QUINN et al., 2002). Die Eigenschaften in der Kultur sind in Tabelle 17 ersichtlich. Kulturen von *M. felis* sind anfänglich weiß mit braunem, zentralen Kern. In den folgenden sieben bis 14 Inkubationstagen färben sie sich zunehmend auch in der Peripherie braun (HILL, 1971).

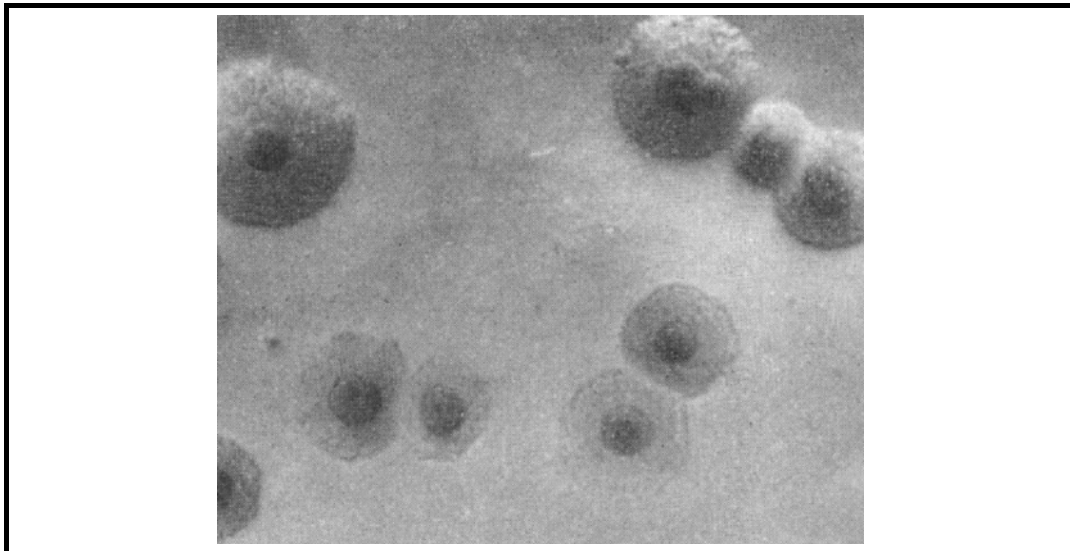


Abbildung 10: Kulturen von *Mycoplasma felis* (Stamm CO) zwei Tage nach aerober Inkubation (nach COLE et al., 1967)

2.7.2.2.2 Biochemische Reaktionen

Die Eigenschaft, verschiedene Substanzen (Glukose, Arginin, Tetrazoliumchlorid, Tetrazoliumblau, Methylenblau) metabolisieren zu können, wird zur Speziesdifferenzierung genutzt (Tabelle 18). Die Metaboliten, die bei der enzymatischen Umsetzung von Glukose und L-Arginin entstehen, diffundieren in den Agar und führen zu einer Verschiebung des pH-Wertes in den sauren oder basischen Bereich. Der Nachweis erfolgt durch den Farbumschlag des zugefügten Indikators (Phenolrot) (PURCELL et al., 1966; TAYLOR-ROBINSON et al., 1966). Sogenannte „Säure-produzierende Mykoplasmen“ fermentieren Glukose zu

Laktat; „nicht-Säure-produzierende Mykoplasmen“ setzen L-Arginin in Citrullin und Ammoniak um (SMITH, 1955; SMITH, 1960; TAYLOR-ROBINSON et al., 1966). Die Auswertung der pH-Wert-Veränderung erfolgt wie folgt von keine Veränderung – (pH 7,8 bzw. ca. 7,0), + (pH ca. 7,3 bzw. ca. 7,5), ++ (pH ca. 6,8 bzw. ca. 7,8) und +++ (pH ca. 6,2 oder weniger oder ca. 8,0 oder mehr) (PURCELL et al., 1966; TAYLOR-ROBINSON et al., 1966).

Tabelle 17: Eigenschaften von felinen Mykoplasmen in der Kultur (HEYWARD et al., 1969; HILL, 1971) (h = Stunden, *M.* = *Mycoplasma*, Ø = Durchmesser, + bis ++++ = langsames bis sehr schnelles Wachstum, + = vorhanden, – = nicht vorhanden)

Eigenschaften	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. feliminutum</i>
Ø der Kolonien in µm nach 24 h	500 – 670	120 – 250	120 – 250	
Ø der Kolonien in µm nach 72 h				100 – 180
Wachstumsgeschwindigkeit	++++	+++	+++	+
Form	rund	rund	rund	unregelmässig
Farbe	weiss mit braunem Kern	farblos	farblos	farblos
Vakuolen	–	+	–	–
zentraler Kern	+	+/-	+	–

Tabelle 18: Substanzen zur biochemischen Speziesdifferenzierung (PURCELL et al., 1966; TAYLOR-ROBINSON et al., 1966; HEYWARD et al., 1969)

Substanz	Metabolit	Indikator	Substrat	Farbumschlag
Glukose	Laktat	Phenolrot	Medium	rosa → gelb
L-Arginin	Ammoniak	Phenolrot	Medium	rosa → rot
TTC	Formazan		Kultur	farblos → rot
Tetrazoliumblau	Formazan		Kultur	blau → rot
Methylenblau			Medium	blau → farblos

Das farblose Tetrazoliumchlorid (2,3,5,-Triphenyltetrazoliumchlorid, TTC) und das blaugelbe Tetrazoliumblau wird durch Reduktion in ein rotes Formazan (1,3,5-Triphenylformazan) umgewandelt. Mykoplasmenkulturen, die auf einem

TTC-angereicherten Medium wachsen, färben sich rosa, wobei der Gehalt an Formazan zentral am höchsten ist und in Richtung Peripherie abnimmt (SOMERSON & MORTON, 1953; KRAYBILL & CRAWFORD, 1965). Die Reduktion von Methylenblau durch Mykoplasmen führt zur Entfärbung des Agars (COLE et al., 1967).

2.7.2.2.3 Hämolyse

Manche humanen Mykoplasmenstämme produzieren Hämolysin. Ob eine Hämolyse vorhanden ist, ist 1) abhängig vom Stamm (da nicht alle Mykoplasmen Hämolysin produzieren), und 2) von der Spezies (Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen), von der die Erythrozyten gewonnen wurden (WARREN, 1942; EDWARD, 1950; SOMERSON et al., 1963). Im allgemeinen wird zwischen „keiner Hämolyse“, „partieller Hämolyse“ (α -Hämolyse) und „vollständiger Hämolyse“ (β -Hämolyse) unterschieden (SOMERSON et al., 1963). Zum Nachweis hämolytischer Aktivität von feline Mykoplasmen wurde mit Erythrozyten von Schafen, Meerschweinchen, Hühnern und Enten durchgeführt (COLE et al., 1967; HEYWARD et al., 1969). Dieser Test wurde früher zur Differenzierung von Mykoplasmenpezies verwendet (EDWARD, 1954; EDWARD & FREUNDT, 1956) (Tabelle 19).

2.7.2.3 Hämagglutination

Die Eigenschaft, mit Erythrozyten zu agglutinieren, wird getestet, in dem eine Antigensuspension mit einer Suspension aus gewaschenen Erythrozyten gemischt und inkubiert wird (MANCHEE & TAYLOR-ROBINSON, 1968). Das Hämagglutinationsmuster wird abgelesen, wenn die Erythrozyten der Kontrolle ebenfalls abgesunken sind (HEYWARD et al., 1969). Beurteilt wird das Ergebnis anhand einer Skala mit fünf Graden von 0 % (-), 25 % (+), 50 % (++) , 75 % (+++) bis 100 % (++++). Eine Hämagglutinationseinheit entspricht der Verdünnung, in der 75 % oder mehr Erythrozyten agglutiniert sind (MANCHEE & TAYLOR-ROBINSON, 1968). Von den getesteten Mykoplasmen zeigte nur *M. felis* die Eigenschaft, mit Erythrozyten zu agglutinieren (Tabelle 19) (HEYWARD et al., 1969).

Tabelle 19: Biochemische Eigenschaften von felinen Mykoplasmen (COLE et al., 1967; HEYWARD et al., 1969) (*M.* = *Mycoplasma*, n. u. = nicht untersucht, α = α -Hämolyse, β = β -Hämolyse, + = vorhanden, - = nicht vorhanden)

Eigenschaften	<i>M. felis</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. feliminutum</i>
Glukosefermentation	+	-	-	-
Argininverwertung	-	+	+	-
Tetrazoliumblau-reduktion	-	-	n. u.	n. u.
• aerob	+	+	n. u.	n. u.
• anaerob	-	-	-	-
Methylenbrautoleranz (0,002 %)	+	-	-	-
Tetrazolium-reduktion	-	-	-	-
Methylenblau-reduktion	-	-	-	-
Hämolyse	+	-	-	-
• Schaferythrozyten	(α)	-	-	-
• Meerscheinchenerythozyten	(β)	-	n. u.	n. u.
• Hühnererythrozyten	(α)	-	n. u.	n. u.
• Entenerythozyten	(α)	-	n. u.	n. u.
Hämagglutination	+	-	-	-
• Schaferythrozyten	-	-	-	-
• Meerscheinchenerythozyten	+	-	-	-
• Rattenerythozyten	+	-	-	-
• Rhesuserythozyten	+	-	-	-
• Hühnererythrozyten	+	-	-	-

2.7.2.4 Wachstumshemmung

Für die Wachstumshemmung werden entweder mit Antiserum imprägnierte Filterpapierdisketten verwendet oder Antiserum wird direkt auf in Mikrotiterplatten vorhandenes Medium verbracht (CLYDE, 1964; WALKER, 2004). In der von Clyde und Mitarbeitern (1963) entwickelte Methode wird das Antiserum von Kaninchen gewonnen, die zuvor mit Mykoplasmen infiziert wurden (CLYDE, 1964). Die Wachstumshemmung wird durch eine Kolonienfreien Zone um die Disketten ersichtlich (WALKER, 2004).

Methylenblau hemmt das Wachstum von Mykoplasmenarten und wird daher als Zusatz in Selektivmedien für *Mycoplasma pneumoniae* verwendet (KRAYBILL & CRAWFORD, 1965).

2.7.2.5 Immunobinding assay

Ein „Immunobinding assay“ zur Identifikation von *M. felis* nach Anzucht in Kulturmedien wurde durch Brown und Mitarbeiter (1990) entwickelt. Polyklonale Antikörper gegen *M. felis* werden aus dem Serum von zuvor mit *M.-felis*-infizierten Kaninchen gewonnen. Die zu untersuchenden Kolonien werden mit dem Kaninchen-Antiserum beschichtet, inkubiert und nach Entfernung des Antiserum mit alkalischer Phosphatase-konjugierten Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG beschichtet. Zur farblichen Markierung dient ein Substrat mit Nitro-Blue-Tetrazolium-5-bromo-4-chloro-3-indolyl-Phosphat. Die Methode eignet sich zum Nachweis von *M. felis* auf Agarplatten, primären Isolationsplatten, in flüssigen Medien und in gemischten Kulturen (BROWN et al., 1990).

2.7.2.6 Polymerasekettenreaktion

Brown und Mitarbeiter (1995) identifizierten spezifische Nukleotidsequenzen der 16S rRNA feliner Mykoplasmen zur genaueren taxonomischen Klassifizierung. Insgesamt acht Nukleotidsequenzen der 16S rRNA „gene variable region“ wurden identifiziert (Tabelle 20) (BROWN et al., 1995).

Die Gensequenzen der 16S rRNA von *M. felis* weisen eine hohe Ähnlichkeit zu anderen Mykoplasmenpezies auf. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Sequenzen der 16S/23S rRNA „intergenic spacer“ (IGS) DNA sich deutlicher von anderen Mykoplasmen unterscheiden (CHALKER & BROWNLIE, 2004). Zur Amplifikation der IGS-Sequenzen werden zwei Primer eingesetzt, die die letzten 147 Basenpaare der 16S RNA-Gene, die gesamte IGS und die ersten 37 Basenpaare der 23S rRNA-Gene amplifizieren. Zur Identifikation von *M. felis* wird ein *M.-felis*-spezifischer Primer (MfelR1) synthetisiert (Tabelle 21). Bei der Untersuchung von einer limitierten Anzahl an klinischen Proben erwies sich diese PCR als sehr sensitiv und spezifisch für *M. felis* (CHALKER et al., 2004b). Das im Vergleich zur Kultur schnellere Verfahren erlaubt eine frühzeitige Versorgung der Patienten mit einer gezielten Therapie (GRAY et al., 2005).

Tabelle 20: Nukleotidsequenzen der 16S rRNA “gene variable region” von *Mycoplasma felis* (BROWN et al., 1995).

“gene variable region”	Nukleotidsequenz
V1	AGCGGAGTTCTTTTAGGACTTAGC
V2	ATACTTTTTTATTTACATGAGATTTAAATAAA AGGAACTTCAAAGTTTCA
V3	GTGCAGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACTGC TGTTATAAGGGAAGNNNAATATTATAAGAAA AGATAATATCTTGACGGTACCTTATCAGA
V5	ATTAGCTGATAGAGAATCTATCGGCACAGCTAA
V6	CTTCTGCAAAGCTATAGAGATATAGTGG
V7	TTGGTCCCTTAGTTAAATATTCTAGGGAGACTG CCCGAGTAATTG
V8	TGGATGGTACAAAGAGAAGCAATACGGCGACG TNGAGCAAATCTCAAAAAACCATTCT
V9	CACCATGGGAGCTGGTAATGCCCGAAGTCGGTT TGTTAACTACGGAGACCACTGCCTAAGGCAGG GCCGGTGA

Tabelle 21: Primer zum Nachweis von *Mycoplasma felis* (CHALKER & BROWNLIE, 2004) (Myc = *Mycoplasma*, MfelR = *Mycoplasma felis* reverse)

Primer	Nukleotidsequenz
forward Myc1	5'-CACCGCCCGTCACACCA-3'
reverse Myc2	5'-AAGGCATCCACCAAAAACCTCT-3'
MfelR1	5'-GGACTATTTATCAAAGCACATAAC-3'

2.8. Therapie

Makrolide, Pleuromutiline, Tetracycline, Fluoroquinolone, Chloramphenicol und Aminoglykoside haben eine anti-mykoplasmatische Wirkung. Empfohlene Wirkstoffe zur Therapie von nicht-hämotrophen feline Mykoplasmen sind Doxycyclin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Clindamycin und Enrofloxacin (Tabelle 22) (MARTIN, 1981; GREENE, 2006b).

2.8.1 Fluorochinolone

Fluorochinolone sind *in vitro* und *in vivo* gegen Mykoplasmen wirksam (FOSTER et al., 1998; ERNST & GOGGIN, 1999; LORIA et al., 2003). Sie haben eine

mykoplasmazide Wirkung (HANNAN et al., 1989; COOPER et al., 1993; BALL et al., 1995 ; HANNAN et al., 1997a; THOMAS et al., 2003).

2.8.1.1 Wirksamkeit

Von allen getesteten Fluorochinolonen wurden nur Enrofloxacin und Ciprofloxacin *in vivo* bei zwei Patienten angewendet (FOSTER et al., 1998; ERNST & GOGGIN, 1999).

2.8.1.1.1 Enrofloxacin

Die Werte zur minimalen Hemmkonzentration (MHK) belegen eine effektive Wirksamkeit gegen veterinärmedizinisch relevanten Mykoplasmeninfektionen (BALL et al., 1995; HANNAN et al., 1997a; TER LAAK et al., 1991; ABRAHAM et al., 2002; GAUTIER-BOUCHARDON et al., 2002; LORIA et al., 2003; THOMAS et al., 2003; VICCA et al., 2004; FRANCOZ et al., 2005). Enrofloxacin wurde in einer Dosierung von 2,5 bis 5 mg/kg alle zwölf Stunden an eine Katze mit Arthritis verabreicht, bei der Doxycyclin nicht zum Therapieerfolg geführt hat. Die Therapiedauer betrug sechs Wochen. Der Nachweis von Mykoplasmen aus Synovia war nach sechs Monaten negativ (ERNST & GOGGIN, 1999).

2.8.1.1.2 Ciprofloxacin

Mit 25 mg/kg Ciprofloxacin alle zwölf Stunden wurde eine Katze mit Pneumonie behandelt. Sechs Wochen nach Erstvorstellung waren keine klinischen Symptome vorhanden und Röntgenbilder des Thorax zeigten eine deutliche Verbesserung der veränderten Lungenareale (FOSTER et al., 1998).

2.8.1.1.3 Andere Fluorochinolone

In vitro Studien zeigen, dass Danofloxacin, Difloxacin, Marbofloxacin, Ofloxacin und Orbifloxacin ebenfalls effektiv zur Therapie von Mykoplasmeninfektionen eingesetzt werden können (KENNY & CARTWRIGHT, 1991; TER LAAK et al., 1991; COOPER et al., 1993; HANNAN et al., 1997a; AYLING et al., 2000; ABRAHAM et al., 2002; THOMAS et al., 2003).

2.8.1.2 Resistenzen

Bei einigen Isolaten wurden erworbene Resistenzen gegen verschiedene Fluorchinolone entdeckt (TER LAAK et al., 1993; VICCA et al., 2004). Im *in-vitro*-Versuch entwickelten sich Resistenzen gegen Enrofloxacin graduell (GAUTIER-BOUCHARDON et al., 2002).

2.8.2 Makrolid-Antibiotika

Makrolid-Antibiotika werden anhand ihrer chemischen Struktur in zwei Gruppen eingeteilt, „14-membered-group“ (Erythromycin) und „16-membered-group“ (Tylosin) (FELMINGHAM et al., 1991). Mitglieder der „16-membered“-Gruppe weisen eine bessere Wirksamkeit gegenüber Mykoplasmen auf (TER LAAK et al., 1991).

2.8.2.1 Wirksamkeit

Von den zur Behandlung von Mykoplasmeninfektionen angewendeten Makrolid-Antibiotika, wurde nur Tylosin bei einer Katze erfolgreich angewendet. (CRISP et al., 1987).

2.8.2.1.1 Azithromycin

In der Humanmedizin wird Azithromycin zur Behandlung von Mykoplasmeninfektionen in einer Dosierung von 5 – 10 mg/kg empfohlen. Während der ersten zehn Tage der Therapie erfolgt die Verabreichung täglich, danach nur noch alle 48 bis 72 Stunden (JORDAN, 2001). *In vitro* hat Azithromycin eine gute bis intermediäre Wirkung bei 66 % der *Mycoplasma-bovis*-Isolate (FRANCOZ et al., 2005).

2.8.2.1.2 Erythromycin

Bisher gibt es nur Studien in der Humanmedizin mit der humanpathogenen Spezies *Mycoplasma pneumoniae*, in der eine effektive Wirksamkeit festgestellt wurde (KENNY & CARTWRIGHT, 1991; SLAVIK & BEASLEY, 1992). Trotzdem wird Erythromycin in einer Dosierung von 10 bis 20 mg/kg alle zwölf bis 24 Stunden zur Behandlung von feline Mykoplasmen empfohlen.

2.8.2.1.3 Tylosin

Tylosin zeigt *in vitro* eine gute Effektivität gegen unterschiedliche Mykoplasmenspezies (SCHNECK, 1973; COOPER et al., 1993; TER LAAK et al., 1993; HANNAN et al., 1997a; WU et al., 2000; LORIA et al., 2003; VICCA et al., 2004). Einer Katze wurde nach Entfernung eines pulmonären Abszesses Tylosin über 14 Tage in einer Dosierung von 10 mg/kg alle zwölf Stunden *per os* verabreicht. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes traten keine Symptome mehr auf (CRISP et al., 1987).

2.8.2.2 Resistenzen

Im experimentellen *in-vitro*-Versuch mit aviären Mykoplasmen traten Resistenzen gegen Erythromycin und Tylosin auf. Die Mutaten wiesen zum Teil eine Mehrfachresistenz gegenüber unterschiedliche Makrolide auf (GAUTIER-BOUCHARDON et al., 2002). Die Untersuchung von Feldisolaten bestätigte das Vorkommen von Resistenzen gegen Makrolide unter Mykoplasmen (KOBAYASHI et al., 1996a; WU et al., 2000; THOMAS et al., 2003; VICCA et al., 2004). So waren bis zu 34 % der *Mycoplasma-bovis*-Isolate resistent gegen Azitromycin, während bis zu 100 % verschiedener veterinärmedizinisch relevanter Mykoplasmen resistent gegen Erythromycin sind (TER LAAK et al., 1991; KOBAYASHI et al., 1996a; WU et al., 2000; FRANCOZ et al., 2005). Es wird vermutet, dass mykoplasmastatisch wirkende Substanzen die Entstehung von Resistenzen beschleunigen (LORIA et al., 2003).

2.8.3 Tetracycline

Die Substanzklasse der Tetracycline haben eine gute Wirksamkeit gegen veterinärmedizinisch relevante Mykoplasmenspezies *in vitro* (TER LAAK et al., 1991, LORIA et al., 2003; VICCA et al., 2004). Sie gelten als mykoplasmastatisch (LORIA et al., 2003)

2.8.3.1 Wirksamkeit

Von allen Tetracyclinen wird Doxycyclin zur Behandlung von feline Mykoplasmeninfektionen bevorzugt verwendet (KEANE, 1983; FOSTER et al., 1998; ERNST & GOGGIN, 1999; LIEHMANN et al., 2006).

2.8.3.1.1 Tetracyclin

In vitro sind feline Mykoplasmen sensitiv gegenüber Tetracyclin (SCHNECK, 1972; CAMPBELL et al., 1973b). Greene (2006) empfiehlt eine systemische Behandlung mit 22 bis 30 mg/kg Tetracyclin alle acht Stunden über sieben Tage (GREENE, 2006b). Eine Verbesserung der klinischen Symptome sollte zwei bis drei Tage nach Therapiebeginn festgestellt werden (SLAVIK & BEASLEY, 1992).

2.8.3.1.2 Doxycyclin

In den Fallberichten wurde Doxycyclin systemisch an Katzen in unterschiedlichen Dosierungen und Zeiträumen verabreicht. In einer Dosierung von 5 mg/kg alle zwölf Stunden konnten Foster und Mitarbeiter (1998) eine Verbesserung der klinischen Symptome innerhalb der ersten Therapiewoche und der röntgenologisch nachgewiesenen Lungenveränderungen nach sechs Wochen erreichen (FOSTER et al., 1998). Die gleiche Dosierung, verabreicht über einen Zeitraum von acht Wochen, führte bei einer Katze mit Arthritis nur zur partiellen Heilung der Läsionen. Zudem wurden Mykoplasmen aus der Synovia reisoliert (ERNST & GOGGIN, 1999). Bei zwei anderen Katzen mit Arthritis verbesserten sich die klinischen Symptome, so dass die Katzen nach acht bzw. neun Wochen lahmheitsfrei waren. Ein erneuter Nachweis wurde zur Therapiekontrolle nicht durchgeführt. Doxycyclin wurde in einer Dosierung von 10 mg/kg alle zwölf Stunden über vier und fünf Wochen verabreicht (LIEHMANN et al., 2006). Die Behandlung mit 15 mg/kg alle acht Stunden führte bei drei Katzen mit *Mycoplasma*-assoziierten Abszessen innerhalb von maximal zehn Tagen zur Abheilung (KEANE, 1983). Empfohlen wird eine Behandlung mit 10 – 20 mg/kg Doxycyclin alle zwölf Stunden über sieben Tage (GREENE, 2006b).

2.8.3.1.3 Oxytetracyclin

In vitro sind Mykoplasmen sensitiv gegenüber Oxytetracyclin (CAMPBELL et al., 1973b; SCHNECK, 1973). Im Vergleich zu anderen Wirkstoffen sind die *in vitro* ermittelten MHK-Werte für Oxytetracyclin jedoch höher; eine weniger gute Wirkung *in vivo* wäre demnach zu erwarten (COOPER et al., 1993; HANNAN et al., 1997a). Campbell und Mitarbeiter (1973) behandelten drei Katzen lokal mit Oxytetracyclin-Polymyxin-B-Augensalbe alle acht Stunden über fünf Tage. Am

Ende der Therapie waren weder klinische Symptome vorhanden, noch konnte der Erreger aus Kontrolltupferproben reisoliert werden (CAMPBELL et al., 1973b).

2.8.3.2 Resistenzen

Im *in-vitro*-Versuch ist es nicht möglich, Resistenzen gegen aviäre Mykoplasmen hervorzurufen (GAUTIER-BOUCHARDON et al., 2002). *Mycoplasma-bovis*-Feldisolate können hingegen resistent gegen Tetracyclin und Oxytetracyclin sein (THOMAS et al., 2003; FRANCOZ et al., 2005).

2.8.4 Aminoglykoside

In vitro besteht eine gute bis intermediäre Wirksamkeit von den Aminoglykosid-Derivaten Gentamycin, Spiramycin und Streptomycin gegen verschiedene Mykoplasmenspezies *in vitro* (JONES & SABINE, 1970; SCHNECK, 1972; CAMPBELL et al., 1973b; SCHNECK, 1973; LORIA et al., 2003; VICCA et al., 2004). Je nach dem, welche Mykoplasmenspezies *in vitro* untersucht wurde, konnten erworbene Resistenzen gegen unterschiedliche Aminoglykoside festgestellt werden (WILLIAMS, 1978; TER LAAK et al., 1993).

Spiramycin war der einiger Wirkstoff dieser Substanzklasse, der bei Katzen mit Mykoplasmeninfektionen der oberen Atemwege bislang systemisch eingesetzt wurde. Colegrave und Mitarbeiter (1964) verabreichten 50 mg/kg einmalig intramuskulär, während Schneck (1973) mindestens zwei Injektionen im Abstand von 48 Stunden verwendete (COLEGRAVE et al., 1964; SCHNECK, 1973). Innerhalb von zwei bis fünf Tagen kam es zur vollständigen Remission der klinischen Symptome (COLEGRAVE et al., 1964).

2.8.5 Chloramphenicol

Mycoplasma-felis-Isolate sind *in vitro* sensitiv gegenüber Chloramphenicol (CAMPBELL et al., 1973b). Erworbene Resistenzen gegen Chloramphenicol sind beschrieben (TER LAAK et al., 1993). Empfohlen wird die systemische Verabreichung von 25 mg/kg Chloramphenicol alle zwölf Stunden über einen Zeitraum von mindestens einer Woche (GREENE, 2006b).

2.8.6 Pleuromutiline

Pleuromutiline wirken bakteriostatisch durch Hemmung der ribosomalen Proteinbiosynthese (KAVANAGH et al., 1951; HODGIN & HOGENAUER,

1974; DREWS et al., 1975; HOGENAUER, 1975; EGGER & REINSHAGEN, 1976b). Die Ursprungssubstanz Pleuromutilin wurde in dem Pilz *Pleurotus mutilus*, heute *Clitopilus scyphoides*, entdeckt (KAVANAGH et al., 1951; SINGER, 1986). Mehrere Derivate mit antibiotischer Wirkung sind seither entwickelt worden, von denen Tiamulin und Valnemulin in der Veterinärmedizin zum Einsatz kommen (EGGER & REINSHAGEN, 1976a). Die Wirksamkeit beider Substanzen wurde durch zahlreiche *in vitro* Studien mit porcinen, bovinen und aviären Mykoplasmenspezies bestätigt (TER LAAK et al., 1991; TER LAAK et al., 1993; KOBAYASHI et al., 1996a; KOBAYASHI et al., 1996b; HANNAN et al., 1997a; HANNAN et al., 1997b; AARESTRUP & FRIIS, 1998; JORDAN et al., 1998; AITKEN et al., 1999; GAUTIER-BOUCHARDON et al., 2002; THOMAS et al., 2003).

Infektionen mit *Mycoplasma bovis* bei Rindern konnten unter Feldbedingungen und im experimentellen Versuch mit Valnemulin kontrolliert werden (STIPKOVITS et al., 2001; STIPKOVITS et al., 2005). Der gleiche Wirkstoff wurde bei einem 16-jährigen, immunsupprimierten Jungen mit *Mycoplasma maculosum*-induzierter Meningoenzephalitis über einen Therapiezeitraum von sechs Monaten verabreicht. Das negative PCR-Ergebnis aus der gewonnenen cerebrospinalen Flüssigkeit bewies die Elimination des Erregers (HEILMANN et al., 2001). Pleuromutilin-Derivate wurden bisher weder *in vitro* gegen feline Mykoplasmen getestet noch im Feldversuch bei Katzen mit Mykoplasmeninfektionen angewendet.

Tabelle 22: Empfohlene Behandlungsschemata (nach GREENE, 2006b)

Wirkstoff	Dosierung	Intervall (Stunden)	Dauer (Wochen)
Tetracyclin	22 – 30 mg/kg	8	1
Doxycyclin	10 – 20 mg/kg	12	1
Chloramphenicol	25 mg/kg	12	1
Clindamycin	5 – 11 mg/kg	12	1
Enrofloxacin	5 mg/kg	24	1

III. Kapitel I: Pharmacokinetics of pradofloxacin and doxycycline in serum, saliva, and tear fluid of cats after oral application

Pharmacokinetics of pradofloxacin and doxycycline in serum, saliva, and tear fluid of cats after oral administration

Anja Hartmann

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Ralph Krebber

Bayer CropScience AG, Development – Residues, Operator and Consumer Safety, 40789 Monheim am Rhein, Deutschland

Gert Daube, Dr. med. vet.

Bayer HealthCare AG, Animal Health Division, Clinical R & D – Antibiotics, 51368 Leverkusen, Deutschland

Katrin Hartmann, Prof., Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (J Vet Pharmacol Therap 2008; 31: 87–94)

**Pharmacokinetics of pradofloxacin and doxycycline in serum, saliva, and
tear fluid of cats after oral administration**

Pharmacokinetics of pradofloxacin and doxycycline in cats

ANJA HARTMANN¹

RALPH KREBBER²

GERT DAUBE³ &

KATRIN HARTMANN¹

¹ Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität, Veterinärstr. 13,
80539 München, Germany;

² Bayer CropScience AG, Development – Residues, Operator and Consumer
Safety, 40789 Monheim am Rhein, Germany

³ Bayer HealthCare AG, Animal Health Division, Clinical R & D – Antibiotics,
51368 Leverkusen, Germany;

Corresponding author: Prof. Dr. Katrin Hartmann, Medizinische Kleintierklinik,
Ludwig-Maximilians-Universität, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Germany.
Fax: +49-89-2180-16501. E-mail: Hartmann@uni-muenchen.de

ABSTRACT

The pharmacokinetic properties of pradofloxacin and doxycycline were investigated in serum, saliva, and tear fluid of cats. In a cross-over study design, 6 cats were treated orally with a single dose of pradofloxacin (Veraflox[®] Oral Suspension 2.5 %) and doxycycline (Ronaxan[®] 100 mg) at 5 mg/kg body weight. Following administration, samples of serum, saliva, and tear fluid were taken in regular intervals over a period of 24 hours and analysed by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry. All values are given as mean \pm SD. Pradofloxacin reached a mean maximum serum concentration (C_{\max}) of 1.1 ± 0.5 $\mu\text{g/mL}$ after 1.8 ± 1.3 h (T_{\max}). In saliva and tear fluid, mean C_{\max} was 6.3 ± 7.0 $\mu\text{g/mL}$ and 13.4 ± 20.9 $\mu\text{g/mL}$, respectively, and mean T_{\max} was 0.5 ± 0 h and 0.8 ± 0.3 h, respectively. Doxycycline reached a mean C_{\max} in serum of 4.0 ± 0.8 $\mu\text{g/mL}$ after 4.3 ± 3.2 h. Whilst only at 2 time points doxycycline concentrations close to the limit of quantification were determined in tear fluid, no detectable levels were found in saliva. The high concentrations of pradofloxacin in saliva and tear fluid are promising to apply pradofloxacin for the treatment of conjunctivitis and upper respiratory tract infections in cats. As doxycycline is barely secreted into these fluids after oral application the mechanism of its clinical efficacy remain unclear.

KEY WORDS

doxycycline, pradofloxacin, cat, saliva, tear fluid

INTRODUCTION

Chlamydomphila felis (*C. felis*) is a Gram negative bacterium classified as one of the primary pathogens causing upper respiratory tract disease (URTD) and conjunctivitis in cats (Greene, 2006). The presence in cells of the conjunctiva was demonstrated in up to 60 % of cats with clinical signs (Helps *et al.*, 2005; Gerhardt *et al.*, 2006; Low *et al.*, 2007). As *C. felis* is an obligate intracellular bacterium, tetracyclines and fluoroquinolones are preferred antimicrobial classes used to treat this pathogen.

Doxycycline is known for its good efficacy against a broad spectrum of bacterial species, especially intracellular organisms. Its improved lipid solubility leads to higher intracellular concentrations compared to other tetracyclines. Therefore, it has been recommended as substance of first choice in the treatment of *C. felis*-induced conjunctivitis. Its efficacy has been demonstrated *in vitro* (Hammerschlag, 1994; Butaye *et al.*, 1997) and *in vivo* (Sykes *et al.*, 1999; Sturgess *et al.*, 2001; Dean *et al.*, 2005). Reported side effects are irritation of the gastrointestinal tract (Riviere & Spoo, 2001) and oesophageal strictures after treatment with doxycycline tablets (Melandez *et al.*, 2000; McGrotty & Knottenbelt, 2002; German *et al.*, 2005) as well as tooth discolouration and growth retardation when administered to pregnant and young animals (Majcherczyk & Szymanska-Jachimczak, 1965). These side effects limit the use of doxycycline in cats.

Pradofloxacin is a novel 8-cyanofluoroquinolone which was developed for the treatment of bacterial infections in cats and dogs (Himmler *et al.*, 2002). The antibacterial mechanism is based on the inhibition of subunit A of the DNA gyrase (topoisomerase II) and topoisomerase IV (Koerber *et al.*, 2002). *In vitro* studies demonstrated that pradofloxacin is highly active against Gram-negative, Gram-positive, *Mycoplasma* spp. and anaerobic bacteria (Abraham *et al.*, 2002; de Jong & Bleckmann, 2003; Stephan *et al.*, 2003).

Serum kinetic studies in cats treated either orally or by injection demonstrated that high concentrations are achieved (Daube *et al.*, 2006; Fraatz, 2006). After oral administration pradofloxacin is rapidly absorbed with T_{\max} reached between 0.5 h and 1 h after administration. High maximum serum concentrations (C_{\max}) of 1.7 mg/L and 2.1 mg/L were observed with a bioavailability of about 70 % (Daube *et al.*, 2006; Fraatz, 2006). *In vitro*, low protein binding of pradofloxacin in plasma of cats (29 – 31 %) was assessed (Bregante *et al.*, 2003). Tissue concentrations of pradofloxacin including saliva and tear fluid have not been reported yet.

The aim of this study was to determine and compare the concentration time profiles of pradofloxacin and doxycycline in saliva and tear fluid of cats with respect to respiratory tract and conjunctival infections. Serum kinetics were included for comparison.

MATERIAL AND METHODS

Cats

The study population consisted of 6 healthy (2 male and 4 female) domestic short hair cats. The cats had an average age of 20 months (4 cats 16 months, 2 cats 28 months) and an average weight of 3.6 kg (3.1 – 4.4 kg). All cats were neutered, regularly vaccinated, and dewormed. They received water *ad libitum* and were fed a commercial diet twice daily. On experimental days, feeding took place 12 hours before and 6 hours after drug administration. During acclimatization and washout period, the cats were housed in one group. During the sampling period, the cats were housed individually in cages (0.65 m x 0.70 m x 0.90 m) with no contact to each other. Humidity was kept at mean 65 ± 20 %, temperature at a mean of 21 ± 3 °C. The daily lighting period was 12 hours. All cats were clinically examined and weighed before and after each sampling period.

Study Design

The study was carried out in a 2-way cross-over design with 2 treatment groups. Test substances were pradofloxacin (Veraflox[®] Oral Suspension 2.5 %, Bayer HealthCare AG, Monheim, Germany) and doxycycline hyclate (Ronaxan[®] 100 tablets, Merial, Lyon, France).

A syringe was used to administer the correct amount of oral suspension to each cat. For the administration of doxycycline, one tablet was homogenized and the correct amount according to the body weight of each cat was determined by scale. Gelatine capsules were used to store and administer the drug. The cats received both test items at a single oral dose of 5 mg/kg body weight according to the recommendation of the manufacturers. Care was taken that the test substances were not spilled after their administration. Between treatments, a washout period of 14 days was kept. Blood, saliva, and tear fluid were taken prior to treatment and 0.5, 1, 2, 4, 6, 10, and 24 h thereafter.

Sample Collection and Preparation

Sterile blood samples (2 mL) were taken by puncture of the *Vv. cephalicae antebrachii*. Samples were centrifuged at 1800 g for 10 min. and serum was stored.

To collect a saliva sample, 2 handmade cotton balls (Fig. 1) were placed one after another into the mouth of the cat, so that the cats had to chew on them for two minutes. Saliva was separated by centrifugation (20 min. at 4600 g) using a collecting tube with a cell strainer resulting in a sample volume of about 50 μ l.

Tear fluid was collected by placing a filter paper strip (2 x 0.3 cm) with one round-shaped ending under the upper palpebrae (Fig. 2). After half of the strip was imbued with tear fluid, it was removed, transferred into a collecting tube and stored. The amount of tear fluid was determined by calculating the difference of the weight of the paper strips before and after sampling. Sample volume was about 10 μ l.

All samples collected were immediately stored at -18 °C until analysis.

Analytical Methods

Concentrations of pradofloxacin and doxycycline in serum were analyzed by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry (TFC-MS/MS) according to the method described previously (Krebber, 2003); minor amendments were made for analysis of saliva and tear fluid. Serum samples were injected directly into the turbulent flow chromatography system while it was in the loading position. Matrix components contained in the injected samples were separated from the retained analytes on an extraction column (Oasis HLB 25 μ m polymer, Waters GmbH, Eschborn, Germany) suited for pretreatment of samples of biological fluids at high flow rates. After switching to the eluting position, the analytes were eluted for quantitative determination to a tandem mass spectrometric detector. The quantification of pradofloxacin was performed as previously described (Krebber, 2003). Pradofloxacin-d₄ served as an internal standard for the determination of pradofloxacin (precursor ion $m/z = 401$, product ion $m/z = 357$). The transition of $m/z = 445$ ($[M + H]^+$) to its product ion $m/z = 428$ was used to determine the quantification of doxycycline, whereas sarafloxacin (precursor ion $m/z = 386$, product ion $m/z = 342$) served as an internal standard. The limit of quantification for each substance was 0.025 μ g/mL.

Saliva samples of pradofloxacin were diluted 1:1 with water (in samples with a volume of less than 0.01 mL, 0.01 mL were diluted with 0.09 mL water) and injected directly into the turbulent flow chromatography system as described for serum samples. For analysis of doxycycline in saliva, the samples were 10 fold diluted with water. In addition to the extraction column, an analytical column

Chromolith Speed Rod (50 x 4.6 mm RP 18e, Merck, Darmstadt, Germany) was used. The limit of quantitation was 0.025 µg/mL and 0.05 µg/mL for pradofloxacin and doxycycline, respectively.

To determine the drug concentration in tear fluid, the paper strips were placed into a glass vial and 400 µL extraction mixture was added. The extraction mixture consisted of equal volumes of acetonitrile and water and 2 mL/L trifluoroacetic acid and 0.77 g/L ammonium acetate as well as the appropriate internal standard. The vial was treated for 5 min. in an ultrasonic bath. In addition to the extraction column, an analytical column, as described above was used. For both substances the limit of quantitation was 0.1 µg/mL.

Pharmacokinetics

Pharmacokinetic (PK) parameters including area under the curve (*AUC*), maximum serum concentration (C_{\max}), mean residence time (*MRT*), time of C_{\max} (T_{\max}), and terminal half-life ($t_{1/2}$) were calculated. The values were determined for each individual animal using non-compartmental methods (WinNonlin[®] software, Version 4.1, Pharsight Corp., Mountain View, CA, USA).

Individual saliva to serum concentration ratios (S/S) and tear fluid to serum concentration ratios (TF/S) were calculated for pradofloxacin at each sampling time in order to assess mean S/S and TF/S ratios.

RESULTS

None of the cats showed adverse reactions and all remained clinically healthy throughout the experiment. Spillage has not been observed. PK parameters of the single oral application of pradofloxacin and doxycycline are summarized in Table 1. After application, pradofloxacin was rapidly absorbed and distributed (Fig. 3). A serum C_{\max} of 1.1 µg/mL was assessed after 1.8 h. Serum concentrations then progressively decreased with a elimination $t_{1/2}$ of 2.95 h with only one sample slightly exceeding the limit of quantitation at 24 h. Concentrations of pradofloxacin in tear fluid markedly exceeded serum concentrations with a C_{\max} of 13.4 µg/mL within the first hour after administration. Following the peak, concentrations decreased quickly and after 10 h the drug could not be detected in any sample anymore. A similar pattern was observed for saliva, but owing to the long $t_{1/2}$ pradofloxacin was still detectable in saliva after 24 h (Fig. 3). The

concentrations of pradofloxacin especially in saliva and tear fluid varied considerably among the subjects. Ratios of S/S concentrations for pradofloxacin were 9.01 ± 10.50 , 2.19 ± 4.67 , 0.44 ± 0.41 , 0.26 ± 0.70 , 0.48 ± 1.72 , and 0.91 ± 2.68 at 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, and 10 h, respectively. Ratios of TF/S concentrations at 0.5 h, 1 h, and 2 h were 18.18 ± 31.98 , 1.93 ± 3.07 , and 0.36 ± 0.71 , respectively.

The serum concentration profile of doxycycline was characterized by a continuous increase during the first 4 h (C_{\max} of 4.0 $\mu\text{g/mL}$ at 4.3 h) followed by a slow decrease ($t_{1/2}$ of 4.24 h) during the following 20 h (Fig. 3). Concentrations of doxycycline slightly exceeding the limit of quantitation could only be determined in tear fluid after 4 and 6 h and amounted to 0.11 and 0.10 $\mu\text{g/mL}$, respectively. None of the doxycycline concentrations of the saliva samples exceeded the limit of quantitation. Consequently, no PK values could be determined for tear fluid and saliva.

DISCUSSION

Fluoroquinolones and tetracyclines are commonly used drugs for the treatment of infections, e. g. *C. felis*, of the upper respiratory tract and the conjunctiva in cats. They are characterized by a good efficacy against a variety of bacterial species as well as by their ability to penetrate into tissue and body fluids. In order to support dosage regimens of above drugs, it is important to know the concentrations in the relevant tissues for these infections. Therefore, the PK properties of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, were studied in comparison to those of doxycycline. To achieve so, we developed a new technique to sample from saliva and tears.

After oral administration, pradofloxacin was rapidly absorbed, resulting in high serum concentrations. The serum concentrations were slightly lower compared to data of cats obtained in another study (Daube *et al.*, 2006). Since the cats were carefully checked for spillage of the suspension for 30 min. after administration, incorrect dosing can be excluded. It is known that food intake can affect the serum kinetics of fluoroquinolones (Küng & Wanner, 1993). Our cats were always fed 12 hours before and 6 hours after drug administration on the experimental day, but it is possible that food remained in the gastro-intestinal tract which might have affected the level of absorption.

The secretion of other fluoroquinolones into saliva and tear fluid has been demonstrated in cats, rats, rabbits, mice, and human volunteers (Fukuda *et al.*, 1994; Kelentey *et al.*, 1995; Kozjek *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2002; Gerhardt *et al.*, 2006). In the present study, concentrations of pradofloxacin in saliva and tear fluid exceeded the concentrations in serum several times within the first 90 min. after administration. General factors regarding the compound (lipophilicity, molecular mass, degree of ionization, protein binding) and the body fluids (pH, flow rate) have been suggested to influence the distribution of fluoroquinolones (Sorgel *et al.*, 1989; Jusko & Milsap, 1993; Li *et al.*, 2002). However, peak concentrations as mentioned in the present study are more likely to be due to an active transport of the compound into the fluids. The presence of an active transport mechanism was shown as the secretion of ciprofloxacin across human intestinal epithelial (Caco-2) cells was demonstrated *in vitro* (Griffiths *et al.*, 1993; Griffiths *et al.*, 1994; Cavet *et al.*, 1997). Recent studies have shown that fluoroquinolones are substrates of transporter belonging to the ATP-binding cassette (ABC) group, such as the multidrug resistance protein 1 (MDR1), a P-glycoprotein (P-gp) (Yamaguchi *et al.*, 2000; Lowes & Simmons, 2002; Schrickx & Fink-Gremmels, 2007), the multidrug resistance-associated proteins 1 and 2 (MRP1, MRP2) (Lowes & Simmons, 2002; Sasabe *et al.*, 2004; Schrickx & Fink-Gremmels, 2007), and the breast cancer resistance protein (BCRP) (Merino *et al.*, 2006; Pulido *et al.*, 2006). ABC transporter are found in all body cells, but expression and location varies depending on the type of transmembrane protein (Dean *et al.*, 2001; Sasabe *et al.*, 2004). In the upper respiratory tract, P-gp/MDR1 was expressed by serous gland cells of normal human nasal mucosa, by excretory duct cells of the salivary glands, and by conjunctival cells, whereas MRP1 was only found in nasal serous gland cells (Yang *et al.*, 2000; Wioland *et al.*, 2000; Uematsu *et al.*, 2001). P-gp/MDR1 is capable to transport a variety of fluoroquinolones. In addition, this transporter is expressed in the respiratory tract. These findings would support the hypothesis that pradofloxacin is secreted into saliva and tear fluid by the P-gp/MDR1 transporter. However, not all fluoroquinolones are substrates of this system as it was shown for ciprofloxacin which was not transported by P-gp/MDR1 in Caco-2 cells (Cavet *et al.*, 1997). Further studies are necessary to evaluate the transport systems used for the secretion of pradofloxacin into saliva and tear fluid.

Relationships between PK and pharmacodynamic (PD) parameters have been used

to optimize dosing schedules in order to increase the efficacy of a drug and to minimize the selection of resistant organisms. For concentration-dependent antibiotics such as fluoroquinolones the ratios of the maximum serum concentration to *MIC* (C_{\max}/MIC) > 10 and the ratio of the area under the concentration-time curve over 24 h to *MIC* (AUC_{0-24}/MIC) > 125 are considered to be the most important parameters (McKellar *et al.*, 2004). Based on the results of the present study, pradofloxacin would exhibit a good efficacy against organisms with *MIC* of ≤ 0.11 $\mu\text{g/mL}$. This would include many susceptible bacteria associated with URTD and conjunctivitis in cats such as *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pasteurella* spp., *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* (Abraham *et al.*, 2002; de Jong & Bleckmann, 2003). Even *C. felis* is among the susceptible organisms as *MIC* values determined for *Chlamydophila psittaci* B577 and *Chlamydophila pectorum* LW613 were 0.015 and 0.03, respectively. In addition, replication of this organisms is prevented by high concentrations in tear fluid.

In case of intracellular organisms such as *C. felis*, sufficient concentrations of the compounds within the cells are essential (van Bambeke & Tulkens, 2001). Fluoroquinolones are known to have 2 to 8 times elevated intracellular concentrations and are primarily localized in the cytoplasm (Schentag, 1989; Barza, 1994). This was demonstrated for pradofloxacin as well. In neutrophils, C_{\max} and *AUC* were reported to be 6 to 8 fold and 4 to 8 fold the plasma concentration, respectively (Boothe, 2006). Because of the high degree on intracellular accumulation, bacteria residing within neutrophils would be susceptible with this dosage regime. For *C. felis*, a good efficacy would also be expected based on the intracellular concentration in cells of the conjunctiva. However, the efficacy of the antimicrobials depend on (1) the bacterial susceptibility, (2) the location of the organism in the cell (e.g. cytoplasm, phagosome, phagolysosome) and in combination with the bioavailability of the compound achieved at that sites, and (3) the antimicrobial activity which is basically modulated by the pH value (Barza, 1994; van Bambeke & Tulkens, 2001; Toutain *et al.*, 2002).

C_{\max} of doxycycline was reached 4 hours after application indicating a slower absorption from the gastrointestinal tract. Similar PK data of doxycycline were determined in cats using an initial dose of 10 mg/kg (van Gool *et al.*, 1988). Doxycycline is known for its good distribution into most tissues and some body

fluids, including urine and bile (Barza *et al.*, 1975; Michel *et al.*, 1984). However, in saliva and tear fluid only low concentrations of doxycycline were found. Comparative data in animals are absent, but these findings are in line with results obtained in human volunteers treated orally either with a single dose of 100 mg/day doxycycline or with 2 dosages of 100 mg doxycycline 12 hours apart. The concentrations in samples taken over a period of 24 h after administration were $\leq 0.38 \mu\text{g/mL}$ in saliva and tear fluid (Hoeprich & Warshauer, 1974).

The low concentrations of doxycycline in saliva and tear fluid are in contrast to the findings in pradofloxacin. As pradofloxacin is mainly secreted by active transport systems, it may be possible that doxycycline does not share a common transporter with fluoroquinolones or different routes, e. g. diffusion, for the distribution of tetracyclines are more important. However, active transport systems have been reported to exist for tetracyclines as well. The human organic anion transporters (hOATs) are responsible for the excretion and reabsorption of the drugs in the proximale tubule of the kidneys (Babu *et al.*, 2002). Cells of the kidneys and the liver express hOATs most often (Babu *et al.*, 2002; Kobayashi *et al.*, 2005). Both are excretory organs in which high concentrations of tetracyclines were found (Barza *et al.*, 1975). The upper respiratory tract may lack the expression of tetracycline-specific transporters resulting in low or not detectable drug levels.

Diffusion of antibiotics across capillary walls depend on the lipophilicity and the degree of protein binding. The transcellular route is used by lipid-soluble substrates in addition (Ryan, 1993). A good distribution would be expected for doxycycline as this drug exhibit a higher lipid solubility compared to other tetracyclines (Barza *et al.*, 1975). However, concentration in tear fluid and saliva remained low despite the evidence of penetration of lipid-soluble substrates in the salivary gland (Mann *et al.*, 1979). It might be possible that the gradient between the concentration in the blood and the fluids was not sufficient as this is the driving component for passive diffusion.

Doxycycline is highly protein bound in plasma of cats (Riond & Riviere, 1989). It is known that high protein binding impairs distribution as it was shown for the penetration of doxycycline into interstitial fluids. The concentration of the protein bound fraction was significantly lower between the blood and the interstitial fluid compared to the unbound drug fraction (Bidgood & Papich, 2003). This includes all fluids with a low protein content, such as saliva and tear fluid. However,

doxycycline penetrates into tissue and achieves high intracellular concentrations (Gabler, 1991). Although concentration of doxycycline within the cells of the conjunctiva are not known, this would explain the effectiveness of doxycycline in the elimination of *C. felis* infections as shown in *in vivo* studies (Sykes *et al.*, 1999; Dean *et al.*, 2005).

Killing kinetics of doxycycline is time-dependent (Cunha *et al.*, 2000; Siewert *et al.*, 2005). To predict the effectiveness the time (T) the antibiotic concentration remains $> MIC$ appears to be an appropriate parameter (van Bambeke & Tulkens, 2001; Fridodt-Möller, 2002; Toutain *et al.*, 2002). T can be expressed as (1) the time that is needed for the antibiotic effect, as (2) the percentage of time the drug concentration exceeds the *MIC*, or as (3) the cumulative percentage of time over 24 h (Fridodt-Möller, 2002). For doxycycline, *MIC* values were 0.05 µg/mL for *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydophila pneumoniae* and 0.1 µg/mL for *Chlamydophila psittaci* (Butaye *et al.*, 1997; Siewert *et al.*, 2005). In this study T $> MIC$ is maintained over 24 h when definition (1) is used. In general, doxycycline is given every 12 hours when a dosage of 5 mg/kg was chosen. Based on these considerations, doxycycline should be considered to effective in the treatment of *C. felis* infections. In studies using other time-dependent drugs a bacterial cure was achieved with T of about 50 % when definitions (2) and (3) were used (Leggett *et al.*, 1989; Craig & Andes, 1996).

In conclusion, doxycycline was well absorbed and achieved high serum concentrations. High serum concentrations maintained over a prolonged period of time and the knowledge about a good tissue distribution explains the efficacy of the drug in the treatment of URTD and conjunctivitis as demonstrated in *in vivo* studies. In contrast, the PK of pradofloxacin was characterized by a good distribution into saliva and tear fluid with high peak levels, high *AUC* values, and a slow elimination. PK/PD ratios underline the suitability of pradofloxacin for the treatment of URTD and conjunctivitis in cats. For *C. felis* infections, in conjunctiva and tear fluid as these are the main sites of replication, high concentrations are achieved even with oral administration of pradofloxacin. Although pradofloxacin shows favourable PK abilities, the clinical efficacy against intracellular organisms, e. g. *C. felis*, will have to be evaluated in clinical trials.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Dr. M. Edingloh for initiating this study. Special thanks goes to A. Schulten for her excellent cat handling. This study was supported by Bayer HealthCare AG.

REFERENCES

- Abraham, J., Ewert, K. & de Jong, A. (2002) Comparative *in vitro* activity against selected pathogens from the US. In *Program and Abstracts of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 189. American Society of Microbiology, San Diego.
- Babu, E., Takeda, M., Narikawa, S., Kobayashi, Y., Yamamoto, T., Cha, S.H., Sekine, T., Sakthisekaran, D. & Endou, H. (2002) Human organic anion transporters mediate the transport of tetracycline. *Japanese Journal of Pharmacology*, **88**, 69-76.
- Barza, M. (1994) Challenges to antibiotic activity in tissue. *Clinical Infectious Diseases*, **19**, 910-915.
- Barza, M., Brown, R.B., Shanks, C., Gamble, C. & Weinstein, L. (1975) Relation between lipophilicity and pharmacological behavior of minocycline, doxycycline, tetracycline, and oxytetracycline in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **8**, 713-720.
- Bidgood, T.L. & Papich, M.G. (2003) Comparison of plasma and interstitial fluid concentrations of doxycycline and meropenem following constant rate intravenous infusion in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, **64**, 1040-1046.
- Boothe, D.M. (2006) The accumulation of pradofloxacin in phagocytes. In *Abstracts of the First International Veraflox[®] Symposium*. p. 18. Bayer HealthCare AG, Berlin.
- Bregante, M.A., de Jong, A., Calvo, A., Hernandez, E., Rey, R. & Garcia, M.A. (2003) Protein binding of pradofloxacin, a novel 8-cyanofluoroquinolone, in dog and cat plasma. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **26** (Suppl. 1), 87-88.
- Butaye, P., Ducatelle, R., De Backer, P., Vermeersch, H., Remon, J.P. & Haesebrouck, F. (1997) *In vitro* activities of doxycycline and enrofloxacin

- against European *Chlamydia psittaci* strains from turkeys. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**, 2800-2801.
- Cavet, M.E., West, M. & Simmons, N.L. (1997) Fluoroquinolone (ciprofloxacin) secretion by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *British Journal of Pharmacology*, **121**, 1567-1578.
- Craig, W.A. & Andes, D. (1996) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in otitis media. *Pediatric Infectious Disease Journal*, **15**, 255-259.
- Cunha, B.A., Domenico, P. & Cunha, C.B. (2000) Pharmacodynamics of doxycycline. *Clinical Microbiology and Infection*, **6**, 270-273.
- Daube, G., Krebber, R. & Greife, H.A. (2006) Pharmacokinetic properties of pradofloxacin administered as an oral suspension to cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **29** (Suppl. 1), 266-267.
- de Jong, A. & Bleckmann, I. (2003) Comparative activity of pradofloxacin against clinical canine and feline strains of Germany. In *Program and Abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 223. American Society of Microbiology, Chicago.
- Dean, M., Hamon, Y. & Chimini, G. (2001) The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research*, **42**, 1007-1017.
- Dean, R., Harley, R., Helps, C., Caney, S. & Gruffydd-Jones, T. (2005) Use of quantitative real-time PCR to monitor the response of *Chlamydophila felis* infection to doxycycline treatment. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**, 1858-1864.
- Fraatz, K. (2006) Serum pharmacokinetics of pradofloxacin after oral administration to cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **29** (Suppl. 1), 266.
- Frimodt-Möller, N. (2002) How predictive is PK/PD for antibacterial agents? *International Journal of Antimicrobial Agents*, **19**, 333-339.
- Fukuda, M., Murano, H. & Sasaki, K. (1994) Dynamics of fluoroquinolone agents in tear fluid - a comparison of the dynamic in tears of human and rabbit eyes. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, **98**, 721-726.
- Gabler, W.L. (1991) Fluxes and accumulation of tetracyclines by human blood cells. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, **72**, 39-51.
- Gerhardt, N., Schulz, B.S., Werckenthin, C. & Hartmann, K. (2006)

- Pharmacokinetics of enrofloxacin and its efficacy in comparison with doxycycline in the treatment of *Chlamydomphila felis* infection in cats with conjunctivitis. *Veterinary Record*, **159**, 591-594.
- German, A.J., Cannon, M.J., Dye, C., Booth, M.J., Pearson, G.R., Reay, C.A. & Gruffydd-Jones, T.J. (2005) Oesophageal strictures in cats associated with doxycycline therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **7**, 33-41.
- Greene, C.E. (2006) Chlamydial infections. In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd edn. Ed. Greene, C.E. pp. 245-252. Saunders Elsevier Inc., St. Louis.
- Griffiths, N.M., Hirst, B.H. & Simmons, N.L. (1993) Active secretion of the fluoroquinolone ciprofloxacin by human intestinal epithelial Caco-2 cell layers. *British Journal of Pharmacology*, **108**, 575-576.
- Griffiths, N.M., Hirst, B.H. & Simmons, N.L. (1994) Active intestinal secretion of the fluoroquinolone antibacterials ciprofloxacin, norfloxacin and pefloxacin; a common secretory pathway? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **269**, 496-502.
- Hammerschlag, M.R. (1994) Antimicrobial susceptibility and therapy of infections caused by *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38**, 1873-1878.
- Helps, C.R., Lait, P., Damhuis, A., Bjornehammar, U., Bolta, D., Brovida, C., Chabanne, L., Egberink, H., Ferrand, G., Fontbonne, A., Pennisi, M.G., Gruffydd-Jones, T., Gunn-Moore, D., Hartmann, K., Lutz, H., Malandain, E., Mostl, K., Stengel, C., Harbour, D.A. & Graat, E.A. (2005) Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydomphila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. *Veterinary Record*, **156**, 669-673.
- Himmler, T., Hallenbach, W., Marhold, A., Pirro, F., Wetzstein, H. & Bartel, S. (2002) Synthesis and *in vitro* activity of pradofloxacin, a novel 8-cyanofluoroquinolone. In *Program and Abstracts of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 188. American Society of Microbiology, San Diego.
- Hoeprich, P.D. & Warshauer, D.M. (1974) Entry of four tetracyclines into saliva and tears. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **5**, 330-336.
- Jusko, W.J. & Milsap, R.L. (1993) Pharmacokinetic principles of drug distribution

- in saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **694**, 36-47.
- Kelentey, B.A., Kelentey, B.J., Fekete, I. & Kozma, J. (1995) Excretion of fluoroquinolones into saliva. *Fogorvosi szemle*, **88**, 293-297.
- Kobayashi, Y., Ohshiro, N., Sakai, R., Ohbayashi, M., Kohyama, N. & Yamamoto, T. (2005) Transport mechanism and substrate specificity of human organic anion transporter 2 (hOat2 [SLC22A7]). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **57**, 573-578.
- Koerber, B., Luhmer, E., Wetzstein, H. & Heisig, P. (2002) Bactericidal mechanisms of pradofloxacin, a novel 8-cyanofluoroquinolone. In *Program and Abstracts of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 188. American Society of Microbiology, San Diego.
- Kozjek, F., Suturkova, L.J., Antolic, G., Grabnar, I. & Mrhar, A. (1999) Kinetics of 4-fluoroquinolones permeation into saliva. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, **20**, 183-191.
- Krebber, R. (2003) Analytical method for the determination of pradofloxacin in serum and urine by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry (TFC-MS/MS). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **26** (Suppl. 1), 102-103.
- Küng, K. & Wanner, M. (1993) Einfluß zweier verschiedener Futter auf die Pharmacokinetik von oral appliziertem Baytril® (Enrofloxacin) beim Hund. *Kleintierpraxis*, **38**, 95-102.
- Leggett, J.E., Fantin, B., Ebert, S., Totsuka, K., Vogelmann, B., Calame, W., Mattie, H. & Craig, W.A. (1989) Comparative antibiotic dose-effect relations at several dosing intervals in murine pneumonitis and thigh-infection models. *Journal of Infectious Diseases*, **159**, 281-292.
- Li, Q., Naora, K., Hirano, H., Okunishi, H. & Iwamoto, K. (2002) Comparative study on salivary distribution of fluoroquinolones in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **25**, 1084-1089.
- Low, H.C., Powell, C.C., Veir, J.K., Hawley, J.R. & Lappin, M.R. (2007) Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **68**, 643-648.
- Lowes, S. & Simmons, N.L. (2002) Multiple pathways for fluoroquinolone secretion by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *British Journal of*

Pharmacology, **135**, 1263-1275.

- Majcherczyk, J. & Szymanska-Jachimczak, E.I. (1965) Discoloration of the teeth and bones in young animals caused by tetracycline. *Zahnärztliche Praxis*, **16**, 61-63.
- Mann, G.E., Smaje, L.H. & Yudilevich, D.L. (1979) Permeability of the fenestrated capillaries in the cat submandibular gland to lipid-insoluble molecules. *Journal of Physiology*, **297**, 335-354.
- McGrotty, Y.L. & Knottenbelt, C.M. (2002) Oesophageal stricture in a cat due to oral administration of tetracyclines. *Journal of Small Animal Practice*, **43**, 221-223.
- McKellar, Q.A., Sanchez Bruni, S.F. & Jones, D.G. (2004) Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **27**, 503-514.
- Melendez, L., Twedt, D. & Wright, M. (2000) Suspected Doxycycline-induced esophagitis with esophageal stricture formation in three cats. *Feline Practice*, **28**, 10-12.
- Merino, G., Alvarez, A.I., Pulido, M.M., Molina, A.J., Schinkel, A.H. & Prieto, J.G. (2006) Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) transports fluoroquinolone antibiotics and affects their oral availability, pharmacokinetics, and milk secretion. *Drug Metabolism and Disposition*, **34**, 690-695.
- Michel, G., Mosser, J. & Olle, J. (1984) Pharmacokinetics and tissue localization of doxycycline polyphosphate and doxycycline hydrochloride in the rat. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **9**, 149-153.
- Pulido, M.M., Molina, A.J., Merino, G., Mendoza, G., Prieto, J.G. & Alvarez, A.I. (2006) Interaction of enrofloxacin with breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2): influence of flavonoids and role in milk secretion in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **29**, 279-287.
- Riond, J.L. & Riviere, J.E. (1989) Doxycycline binding to plasma albumin of several species. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **12**, 253-260.
- Riviere, J.E. & Spoo, J.W. (2001) Tetracycline antibiotics. In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8th edn. Ed. Adams, H. pp. 828-840. Iowa State University Press, Ames.

- Ryan, D.M. (1993) Pharmacokinetics of antibiotics in natural and experimental superficial compartments in animals and humans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **31**, 1-16.
- Sasabe, H., Kato, Y., Suzuki, T., Itose, M., Miyamoto, G. & Sugiyama, Y. (2004) Differential involvement of multidrug resistance-associated protein 1 and P-glycoprotein in tissue distribution and excretion of grepafloxacin in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **310**, 648-655.
- Schentag, J.J. (1989) Clinical significance of antibiotic tissue penetration. *Clinical Pharmacokinetics*, **16** (Suppl. 1), 25-31.
- Schrickx, J.A. & Fink-Gremmels, J. (2007) Danofloxacin-mesylate is a substrate for ATP-dependent efflux transporters. *British Journal of Pharmacology*, **150**, 463-469.
- Siewert, K., Rupp, J., Klinger, M., Solbach, W. & Gieffers, J. (2005) Growth cycle-dependent pharmacodynamics of antichlamydial drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49**, 1852-1856.
- Sorgel, F., Jaehde, U., Naber, K. & Stephan, U. (1989) Pharmacokinetic disposition of quinolones in human body fluids and tissues. *Clinical Pharmacokinetics*, **16** (Suppl. 1), 5-24.
- Stephan, B., Pridmore, A. & Silley, P. (2003) *In vitro* activity of pradofloxacin and metronidazol against anaerobic bacteria from dogs and cats. In *Program and Abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. p. 223. American Society of Microbiology, Chicago.
- Sturgess, C.P., Gruffydd-Jones, T.J., Harbour, D.A. & Jones, R.L. (2001) Controlled study of the efficacy of clavulanic acid-potentiated amoxicillin in the treatment of *Chlamydia psittaci* in cats. *Veterinary Record*, **149**, 73-76.
- Sykes, J.E., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (1999) Comparison of the polymerase chain reaction and culture for the detection of feline *Chlamydia psittaci* in untreated and doxycycline-treated experimentally infected cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **13**, 146-152.
- Toutain, P.L., del Castillo, J.R. & Bousquet-Melou, A. (2002) The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, **73**, 105-114.
- Uematsu, T., Yamaoka, M., Matsuura, T., Doto, R., Hotomi, H., Yamada, A., Hasumi-Nakayama, Y. & Kayamoto, D. (2001) P-glycoprotein expression

- in human major and minor salivary glands. *Archives of Oral Biology*, **46**, 521-527.
- van Bambeke, F. & Tulkens, P.M. (2001) Macrolides: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **18** (Suppl. 1), S17-23.
- van Gool, F.J., Santoul, C. & Giuseppin-Huet, A.M. (1988) Doxycycline: pharmacokinetics and suggested dosage in dogs and cats. *Tijdschrift Diergeneeskunde*, **13**, 1189-1193.
- Wioland, M.A., Fleury-Feith, J., Corlieu, P., Commo, F., Monceaux, G., Lacau-St-Guily, J. & Bernaudin, J.F. (2000) CFTR, MDR1, and MRP1 immunolocalization in normal human nasal respiratory mucosa. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, **48**, 1215-1222.
- Yamaguchi, H., Yano, I., Hashimoto, Y. & Inui, K.I. (2000) Secretory mechanisms of grepafloxacin and levofloxacin in the human intestinal cell line caco-2. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **295**, 360-366.
- Yang, J.J., Kim, K.J. & Lee, V.H. (2000) Role of P-glycoprotein in restricting propranolol transport in cultured rabbit conjunctival epithelial cell layers. *Pharmaceutical Research*, **17**, 533-538.

FIGURES

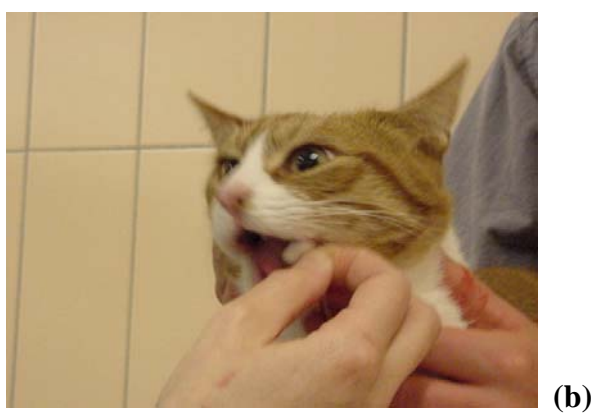


Fig. 1. Pieces of cotton formed to balls and fixed with a silk string (a), then placed into the mouth of every cat for saliva collection (b). Cats had to chew on the balls before the cotton was removed.



Fig. 2. Prepared paper stripes (2 x 0.3 cm) placed under the upper palpebrae in order to collect tear fluid, then removed after half of the paper was soaked with fluid (6 cats).

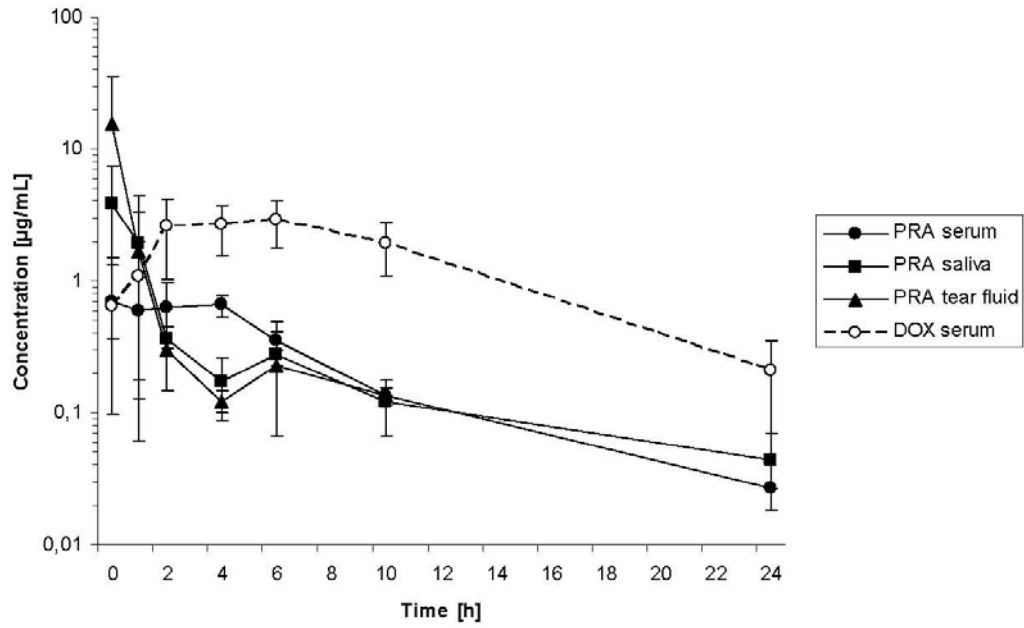


Fig. 3. Concentrations (mean \pm SD) of pradofloxacin (PRA) and doxycycline (DOX) in serum, saliva, and tear fluid following a single oral application of 5 mg/kg body weight. Data below the limit of quantification of 0.025 $\mu\text{g/mL}$ and 0.1 $\mu\text{g/mL}$ in serum and tear fluid are not shown, respectively (6 cats).

TABLES

Table 1. Pharmacokinetic parameters (mean \pm SD) of pradofloxacin (PRA) and doxycycline (DOX) in serum, saliva, and tear fluid after a single oral administration of 5 mg/kg (6 cats).

	serum		saliva		tear fluid	
	PRA	DOX	PRA	DOX	PRA	DOX
C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	1.09 \pm 0.52	3.99 \pm 0.81	6.33 \pm 6.97	-	13.41 \pm 20.85	-
T_{\max} (h)	1.75 \pm 1.26	4.33 \pm 3.20	0.50 \pm 0	-	0.75 \pm 0.27	-
$t_{1/2}$ (h)	2.95 \pm 1.08	4.24 \pm 0.86	18.03 \pm 10.21	-	16.36 \pm 33.45	-
MRT (h)	5.12 \pm 1.54	8.92 \pm 2.28	16.77 \pm 13.23	-	3.30 \pm 4.34	-
AUC_{0-24} (h x $\mu\text{g/mL}$)	5.32 \pm 1.03	33.37 \pm 7.22	6.77 \pm 4.92	-	7.23 \pm 8.40	-

AUC (area under the curve), C_{\max} (maximum serum concentration), MRT (mean residence time), T_{\max} (time of C_{\max}), $t_{1/2}$ (terminal half-life), - (parameter could not be calculated).

IV. Kapitel II: Isolation of bacterial and viral organisms of the conjunctiva in cats with conjunctivitis

Isolation of bacterial and viral organisms of the conjunctiva in cats with conjunctivitis

Anja Hartmann

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Jennifer Hawley, BS Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, 300 West Drake Raod, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523-1678, USA

Christiane Werckenthin, Dr. med. vet.

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Michael Lappin, Prof., Dr. med. vet., PhD, Dipl. ACVIM-CA

Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, 300 West Drake Raod, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523-1678, USA

Katrin Hartmann, Prof., Dr. med. vet., Dr. habil., Dipl. ECVIM-CA

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Journal of Feline Medicine and Surgery, zur Veröffentlichung eingereicht

Isolation of bacterial and viral organisms of the conjunctiva in cats with conjunctivitis

Anja D Hartmann¹

Jennifer Hawley BS²

Christiane Werckenthin DrMedVet³

Michael R Lappin DVM, PhD, DipACVIM²

Katrin Hartmann DrMedVet, DrHabil, DipECVIM-CA^{1*}

¹ Clinic for Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

² Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523, USA

³ Institute for Medical Microbiology, Infectious and Epidemic Diseases, Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

*Corresponding author: Medizinische Kleintierklinik, Ludwig Maximilian Universität Muenchen, Veterinaerstrasse 13, 80539 Muenchen, Germany. Fax: +49-89-2180-16501. E-mail: hartmann@uni-muenchen.de

Summary

A variety of pathogens are involved in conjunctivitis in cats. In this study, the prevalence of feline herpesvirus (FHV), *Chlamydomphila felis*, mycoplasmas, and aerobic bacteria on the conjunctival surface of cats with conjunctivitis were investigated by polymerase chain reaction (PCR), immunofluorescent assay (IFA), and aerobic bacterial culture of ocular swabs. Forty-one cats were included. FHV, mycoplasmas, and *Chlamydomphila felis* were detected by PCR in 11 (27 %), 20 (49 %), and 23 (56 %) cats, respectively. IFA detected 10 cats as positive for *Chlamydomphila felis*. *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma canadense*, *Mycoplasma cynos*, *Mycoplasma gateae*, *Mycoplasma lipophilum*, and *Mycoplasma hyopharyngis* were identified by genetic sequencing. The most common aerobic bacteria cultured included *Staphylococcus* species, *Streptococcus* species,, and *Micrococcus* species. The prevalence of mycoplasmas in cats with conjunctivitis was higher than previously reported, and 4 of the *Mycoplasma* species have not been described in cats so far.

Different aetiologies are known to cause conjunctivitis (e. g., infection, neoplasia, trauma, foreign body, immune-mediated diseases); infection is most common in cats. Feline herpesvirus-1 (FHV) and *Chlamydomphila felis* (*C. felis*) have been proposed to be major primary pathogens (Stiles 2006). Thus, most of the cats with conjunctivitis also have clinical signs of upper respiratory tract disease (URTD). Primary bacterial conjunctivitis (other than *C. felis*) is considered to be rare (Waters and Barnett 2004). However, in recent studies, *Mycoplasma* species (spp.) were commonly isolated in cats with URTD and concurrent conjunctivitis (Low et al 2007, Hartmann et al 2008). Clinical signs of conjunctivitis vary in severity and include blepharospasm, hyperaemia, chemosis, and serous to purulent ocular discharge of one or both eyes. In some cats, clinical signs persist or re-occur after initial improvement.

C. felis has been reported as being responsible for up to 60 % of conjunctivitis cases in cats (Gerhardt et al 2006, Hartmann et al 2008). Although some cats without clinical signs can also test positive, in most studies, *C. felis* is identified in conjunctival swabs from more cats with clinical signs than cats without clinical signs (Zapirain Gastón et al 2005, Low et al 2007). The immunofluorescent assay (IFA) has been used for the identification of *C. felis*, but today, polymerase chain reaction (PCR) is used as an alternative diagnostic tool (Nasisse et al 1993, Gerhardt et al 2006, Low et al 2007).

Mycoplasma spp. have also been isolated from the conjunctiva of cats with and without clinical signs (Tan et al 1977, Haesebrouck et al 1991). In early studies, *Mycoplasma felis* was found with a prevalence of up to 25 % among cats with conjunctivitis (Shewen et al 1980, Haesebrouck et al 1991). A recent study showed that the prevalence of *Mycoplasma felis* in cats with concurrent conjunctivitis was higher than in clinically healthy cats (Low et al 2007). *Mycoplasma gateae* and *Mycoplasma arginini* were identified on the conjunctival surface in healthy cats (Heyward et al 1969, Tan and Miles 1974, Tan et al 1977). For the detection of *Mycoplasma* spp., bacterial culture has been the method of choice in the past and species differentiation was performed by growth inhibition (Walker 2004). These methods, however, are not very sensitive. PCR is now also used to detect and differentiate *Mycoplasma* spp.. It has been shown that PCR is more sensitive, and results are obtained in a shorter period of time (Brown et al 1995, Chalker et al 2004).

The aims of this study were to determine the prevalence of different organisms present on the conjunctiva of cats with conjunctivitis, including FHV, *C. felis*, *Mycoplasma* spp., and aerobic bacteria, determine the sensitivity of IFA compared to PCR for the detection of *C. felis*, and to determine different *Mycoplasma* spp. by means of PCR and blast sequencing.

Material and Methods

Cats

Ocular swabs were taken from 41 cats presented with conjunctivitis. All patients were domestic short hair cats ranging in age between 3 months and 16 years. Cats were excluded from the study if there was a history of antimicrobial therapy within 6 weeks prior to presentation. Also cats with unilateral conjunctivitis or ocular discharge were not included.

Data and sample collection

All cats were examined clinically and the degree of conjunctivitis and ocular discharge was scored on a scale from 0 (no clinical signs) to 4 (very severe clinical signs) (Table 1). Prior to sampling, ocular discharge was removed by using moist swabs. In total, 3 conjunctival swabs were taken from each cat. The swabs were rolled with slight pressure several times over the surface of the lower palpebrae and returned into their covers immediately after sampling. For bacterial culture, a sterile swab with transport medium (single plastic swab Amies Medium 108C, Copan Italia S.P.A., Brescia, Italy) was used. A sterile plain swab (plain dry swab in peel pouches 155C, Copan Italia S.P.A., Brescia, Italy) was used for PCR. After sampling, the swab was frozen and stored at -70 °C until desoxyribonucleic acid (DNA) was extracted. For IFA to detect *C. felis*, a second plain swab was used to collect epithelial cells, which were transferred onto a slide, fixed with acetone, and evaluated for the approximate number of cells under the microscope. Sampling was repeated if slides contained less than 20 cells.

Bacterial culture

Culturing was performed aerobically under standard conditions using blood agar and selective media (Colistin/Nalidixic acid agar (CNA agar), Gassner agar, and Rambach agar). For further differentiation, microscopic examination and biochemical reactions were performed using standard bacteriological test (e. g.,

catalase reaction or cytochrome oxidase test) as well as commercially available kits (BioMérieux, Nürtingen, Germany; Oxoid, Wesel, Germany). Antimicrobial susceptibility was tested using the agar disc diffusion method according to the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standard documents M31-A2 and M31-S1 (NCCLS 2002, NCCLS 2004).

Immunofluorescent assay

The IFA (ImagenTM Chlamydia, Dako Diagnostics, Ely, Cambridgeshire, UK) was performed according to the manufacturers guidelines. The test was considered positive when intracytoplasmatic bodies with a typical size and green fluorescence were detected.

Multiplex real-time polymerase chain reaction for FHV and C. felis

The method used to isolate DNA for the detection of FHV, *C. felis*, and *Mycoplasma* spp. and the setup for the multiplex real-time PCR assay to detect FHV, *C. felis*, and feline 28S rDNA were described previously (Hartmann et al 2008). The data were analysed using the iCycler software version 3 as described previously (Helps et al 2005).

Nested polymerase chain reaction and blast sequencing for Mycoplasma species

The PCR assay to detect *Mycoplasma* spp. was performed utilizing previously described primers for both the flank and the nested reactions (Takashi et al 1992). The 50 µl reactions (both flank and nested) were carried out with 1 µl of sample DNA, and a final concentration of the following: 1 µM of each primer, 800 µM dNTP mix, 1.5 mM MgCl₂, 1X PCR Buffer (16 mM (NH₄)₂SO₄, 67 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25 °C), 0.01 % Tween-20), and 3.75 U Taq polymerase (Biolase DNA Polymerase with 10X PCR Buffer; Bionline Inc., Boston, MA, USA). The flank and nested reactions were carried out the same, using previously described protocols (Baird et al 1999). Known positive (ATCC 23391) and negative (PCR H₂O substituted for template) controls were run with the samples on each PCR assay. PCR products were analyzed for the appropriately sized amplicons on a 2 % agarose gel stained with ethidium bromide. DNA from positive conjunctival samples was purified using a commercially available kit (Qiagen Gel Purification Kit, Valencia, USA) and submitted for sequencing at a commercially available laboratory (Macromolecular Research Core Laboratory, Colorado State

University, Fort Collins, USA). The resulting sequences were then analyzed by comparison to sequences in the GenBank using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program on the National Institutes of Health (NCBI) website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Statistics

The Mann Whitney U test was used to detect significant differences in the severity of clinical signs between groups of cats infected with a single pathogen and between single and multiple infections. A p-value of ≤ 0.05 was considered statistically significant. Numbers for true positives (TP), false positives (FP), true negatives (TN), and false negatives (FN) were calculated, the following formulas were used to assess the sensitivity = $[TP/(TP + FN) \times 100]$ and the specificity = $[TN/(TN + FP) \times 100]$. For statistical analysis, the commercially available software package SPSS 13.0.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) was used.

Results

Clinical examination

Conjunctivitis was present with a mean score of 1.7 ± 0.9 (Table 2). The severity of conjunctivitis was mild in 22 cats (grade 1), moderate in 10 cats (grade 2), severe in 8 cats (grade 3), and very severe in 1 cat (grade 4). Mean scores for conjunctivitis were 1.6 ± 0.7 , 1.4 ± 0.5 , and 1.2 ± 0.4 in cats with single infections of *C. felis*, *Mycoplasma* spp., and FHV, respectively. Cats infected with single and multiple pathogens had a mean score of 1.4 ± 0.6 and 2.3 ± 0.9 , respectively. This difference was statistically significant ($p = 0.023$). Ocular discharge was present in 36 of 41 cats (88 %). The mean score of ocular discharge was 1.3 ± 0.7 . According to the grading system used, grade 0, 1, 2, 3, and 4 was found in 5, 22, 12, 2, and 0 cats, respectively. Neither single infections nor multiple infections had a statistically significant influence on the severity of ocular discharge.

FHV

FHV was detected in 11 of 41 cats (27 %). A single infection was present in 5 cats, whereas multiple infections were found in 6 cats. A co-infection with *C. felis* was present in 1 cat, whereas triple infections with *C. felis* and *Mycoplasma* spp. were present in 5 cats (Table 2).

Chlamydophila felis

Twenty-three of 41 cats were positive to *C. felis* by PCR (56 %) (Table 2), whereas 10 of 41 cats were positive by IFA (24 %) (Table 3). Eighteen samples were not evaluated by IFA due to only small numbers of conjunctival cells present on the slide, even after re-sampling. The sensitivity and specificity of the IFA was 50.0 % and 63.6 %, respectively (Table 3).

Mycoplasma species

An amplicon (150, 200, 300, 400, or 500 bp) consistent with a *Mycoplasma* spp. was amplified from conjunctival swabs from 20 of 41 cats (49 %) (Table 2). In cats tested positive for *Mycoplasma* spp., co-infections with *C. felis* were present in 10 cats (50 %), whereas triple infections with *C. felis* and FHV were found in 5 cats (25 %) (Table 2). Twelve amplicons from 9 cats were most homologous with *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma canadense*, *Mycoplasma cynos*, *Mycoplasma gateae*, *Mycoplasma lipophilum*, and *Mycoplasma hyopharyngis* (Table 4). *Mycoplasma felis* was identified in 4 of 9 cats. In 4 cats, the amplified sequences showed a homology to 2 *Mycoplasma* spp. in which BLAST was unable to differentiate between both species.

Culture results

Positive cultures of conjunctival swabs were obtained in 15 of 41 cases (37 %). *Streptococcus* spp. (5/15), *Staphylococcus* spp. (4/15), , and *Micrococcaceae* (4/15), were present most often. In 2 swabs each, *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, and unclassified Gram-negative rods were cultured (Table 2).

Discussion

In this study, the prevalence of FHV, *C. felis*, *Mycoplasma* spp., and aerobic bacteria in cats with conjunctivitis was evaluated. The number of cats positive for FHV (27 %) is similar to other published data in which a prevalence of 33 and 36 % was reported (Rampazzo et al 2003, Volopich et al 2005).

A high number of cats were tested positive for *C. felis* with a prevalence of 56 %. A similar prevalence was found in Japan and Switzerland (Cai et al 2002, von Bomhard et al 2003), but PCR results were positive in 0 – 20 % of cats with conjunctivitis in other studies (Rampazzo et al 2003, Volopich et al 2005). Some

of the cats included in the present study originated from one household or farm. Close contact between these cats may have contributed to a higher infection rate. IFA is a common method to identify *Chlamydiae* (Wills et al 1984, Nasisse et al 1993). The commercially available test performed in this study is routinely used to detect the human species *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci*, and *Chlamydophila pneumoniae*. It was also used to assess *Chlamydia/Chlamydophila* species prevalence in cats and turkeys (Vanrompay et al 1994, Gerhardt et al 2006). However, in this study, test results could only be obtained in 23 of 41 cats. Low cell numbers were obtained in all other cats resulting in 18 inadequate samples. Reasons such as small sampling site, less shedding of infected cells, and trapping of cells on the swab have to be considered. However, the same test was used in another study in which the same sampling method was used without these problems (Gerhardt et al 2006). One study suggested to take 2 swabs, the first to clean the sampling site and the second to obtain the sample, using this method, a higher number of positive results were present on the second sample (Wood and Timms 1992). In the present study, the surrounding of the eyes were cleaned with a moist swab before sampling and even re-sampling did not yield in better results. Another reason for the discrepant results of IFA and PCR may be a low number of elementary bodies (EB). One experimental study demonstrated that a good visualization of EB is achieved in samples containing 10^7 to 10^5 EB/ml, whereas in less concentrated samples (10^4 to 10^0 EB/ml) fluorescence was less obvious (Wood and Timms 1992). Shedding rate may not have been as high as in cats with acute onset of clinical signs as many of the cats included in this study were considered to be chronically ill. In these cases, the more sensitive PCR is more effective in the detection of a small number of EB (Helps et al 2001). Thus, PCR was shown to be more useful as a diagnostic tool to detect *C. felis* than IFA.

Mycoplasma spp. are found more often in cats with conjunctivitis compared to clinically healthy cats (Low et al 2007). Prevalence has been reported to be 16 % and 25 % (Haesebrouck et al 1991, Low et al 2007). As discussed for *C. felis*, close contact between cats in the same household may have lead to a higher prevalence in the present study. This is the first study evaluating the prevalence of *Mycoplasma* spp. among cats with conjunctivitis in Germany. Thus, different geographic distribution of these pathogens in the cat population may play a role as well.

In previous studies, species differentiation found *Mycoplasma felis* in the majority of cats with conjunctivitis (Shewen et al 1980, Haesebrouck et al 1991). *Mycoplasma gateae* and *Mycoplasma arginini* were found in conjunctival swabs of mainly healthy cats and only to a lesser extent cats with conjunctivitis (Heyward et al 1969, Tan et al 1977). Four of the *Mycoplasma* spp. found in this study have not been described to occur in cats so far and have not been mentioned as pathogens of the conjunctiva in other species. *Mycoplasma canadense* was isolated from mastitis in dairy cows, from granulomatous vulvitis in heifers, from aborted fetuses, and from semen of bulls (Langford et al 1976, Boughton et al 1983, Friis and Blom 1983, Ball and Mackie 1986, Gilbert and Oettle 1990). No lesions in the respiratory tract of cows were found after experimental infection (Gourlay et al 1979). *Mycoplasma hyopharyngis* was detected on the surface of the mucus membranes of the respiratory tract of asymptomatic pigs (Erickson et al 1986, Friis et al 2003). *Mycoplasma cynos* was found in the lower respiratory tract of dogs in correlation with degenerative changes in the bronchial epithelium (Rosendal 1973, Rosendal and Vinther 1977). Although these species were isolated from the respiratory tract of cattle, pigs, and dogs, respectively, the presence in cats may be incidental, and additional research (e. g., experimental infection studies) is necessary to evaluate the role and the pathogenicity in cats.

BLAST finds regions of local similarity between nucleotide or protein sequences and calculates the statistical significance of matches (Altschul et al 1990). An exact determination of the present *Mycoplasma* sp. was not possible in 3 cases of this study. Close phylogenetic relationships based on 16S rRNA analysis had been described to exist between *Mycoplasma gateae* and *Mycoplasma canadense* (*Mycoplasma hominis* cluster) and *Mycoplasma lipophilum* and *Mycoplasma hyopharyngis* (*Mycoplasma lipophilum* cluster) (Weisburg et al 1989, Brown et al 1995, Blank et al 1996, Pettersson et al 1996, Pettersson et al 2001). Although a variety of search tools are available in BLAST, similarity of genome sequences between mycoplasmas limits the exact prediction of the species.

In a study evaluating the bacterial flora of the conjunctiva in cats with concurrent inflammation 34 % of 38 cats yield a positive culture which is comparable to our study (Nasisse et al 1993). The percentage of positive cultures from healthy cats has been reported to be 33, 58, and 67 % (Campbell et al 1973, Gerding et al 1993, Espinola and Lilenbaum 1996). This seems to be a surprisingly low result as a higher percentage of positive cultures would be expected due to the

inflammatory process and the following secondary invasion. It has been suggested that natural local host defence mechanisms are responsible for the low prevalence (Campbell et al 1973).

The bacterial spectrum presented in this study is similar to studies evaluating nasal or oropharyngeal swabs taken from cats with UR TD (Schulz et al 2006, Adler et al 2007, Veir et al 2007). Their presence on the conjunctiva may be explained by distribution due to grooming of the cats. Although aerobic bacteria are thought to be secondary invaders, in 4 cats, bacterial culture was positive for *Streptococcus canis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., or *Klebsiella ozeanae* in the absence of primary pathogens. Although these bacteria are part of the normal bacterial flora, they may have a certain potential to cause respiratory tract problems, but their influence on the pathogenesis of conjunctivitis is unknown (Cox 2006, Greene and Prescott 2006, Kruth 2006). As there were another 4 cats, in which no organisms were identified, false negative PCR results for primary pathogens may also be an explanation.

There was no significant difference in the severity of clinical signs between cats with different pathogens (single infections); however, cats with multiple infections had significantly more severe signs. The damage to conjunctival cells due to replication of several pathogens may be a suitable explanation. In addition, the status of infection (acute or chronic), the pathogenicity of the strains, and the viral and bacterial load have to be considered as well.

In this study, *Chlamydophila felis* and *Mycoplasma* spp. were found frequently in cats with conjunctivitis. BLAST sequencing identified 4 *Mycoplasma* spp. which were not reported to occur in cats before. The pathogenetic importance of these species is unknown, and further studies are needed to evaluate the pathogenicity of *Mycoplasma* spp. in cats with conjunctivitis.

Tables**Table 1.** Scoring system used to describe the degree of conjunctivitis and ocular discharge

Conjunctivitis	0 = no clinical signs 1 = mild conjunctival hyperemia 2 = moderate conjunctival hyperemia and mild chemosis 3 = moderate to severe conjunctival hyperemia and moderate chemosis 4 = severe conjunctival hyperemia and severe chemosis
Ocular discharge	0 = no discharge 1 = minor serous discharge 2 = moderate serous to mucoid discharge 3 = moderate mucopurulent discharge 4 = severe mucopurulent discharge

Table 2. Degree of ocular discharge (0 – 4) and conjunctivitis (0 – 4) in all tested cats with the adjacent pathogens (i. s. = inadequate sample, + = positive PCR result, - = negative PCR result or culture)

Patient no.	Degree of ocular discharge	Degree of conjunctivitis	FHV	<i>C. felis</i>		<i>Mycoplasma</i> spp.	Bacterial species
			PCR	PCR	IFA	PCR	Culture
1	1	1	+	-	+	-	Gram-negative rods (unclassified)
2	2	3	-	+	-	-	-
3	1	1	+	-	+	-	-
4	1	1	-	-	-	-	<i>Klebsiella ozeanae</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
5	2	2	+	-	-	-	<i>Corynebacterium</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
6	2	1	-	-	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	2	1	-	-	i. s.	+	<i>Streptococcus canis</i>
8	1	1	-	-	-	-	-
9	1	1	-	+	-	-	<i>Micrococcus</i> spp.
10	1	1	-	+	i. s.	-	-
11	1	1	+	-	-	-	-
12	1	2	-	+	+	-	-
13	1	1	-	-	+	-	<i>Pseudomonas</i> spp.
14	0	1	+	-	i. s.	-	-
15	2	2	-	+	i. s.	-	Gram-negative rods (unclassified)
16	1	2	-	+	i. s.	+	<i>Enterobacteriaceae</i> , α -hemolytic <i>Streptococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> spp.
17	2	2	-	-	i. s.	+	-
18	1	1	-	-	-	-	-
19	2	3	+	+	+	-	α -hemolytic <i>Streptococcus</i>
20	1	1	-	-	i. s.	+	-
21	0	1	-	-	i. s.	-	-
22	2	3	-	-	i. s.	-	<i>Streptococcus canis</i>
23	1	1	-	-	i. s.	+	α -hemolytic <i>Streptococcus</i> , Gram-negative rods (unclassified)
24	1	2	-	-	-	+	-
25	0	2	-	+	i. s.	+	-

26	1	2	+	+	i. s.	+	<i>Staphylococcus</i> spp.
27	1	3	+	+	i. s.	+	-
28	0	1	-	-	+	-	-
29	2	3	-	+	+	+	-
30	1	1	-	+	+	-	-
31	2	3	-	+	i. s.	+	-
32	2	3	-	+	i. s.	+	-
33	3	4	-	+	+	+	-
34	1	2	-	+	i. s.	+	-
35	1	1	-	+	i. s.	-	-
36	1	1	+	+	-	+	-
37	1	1	-	+	-	+	-
38	3	3	-	+	i. s.	+	<i>Neisseria</i> -like bacteria
39	2	1	-	+	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Enterobacteriaceae</i>
40	1	1	+	+	+	+	<i>Enterobacteriaceae</i>
41	0	2	+	+	-	+	-

Table 3. Comparison of Imagen™ Chlamydia IFA with PCR

Results by IFA	No. of specimens	No. of results obtained by PCR	
		Positive	Negative
Positive	10	6	4
Negative	13	6	7

Table 4. *Mycoplasma* species differentiation based on BLAST sequencing of 12 amplicons isolated from 9 cats

Patient No.	Amplicon size	Accession No.	Strain	% homology
7	200	AY741674.1	<i>M. felis</i> strain ATCC 23391	93
16	400	AY800341 AF443609	<i>M. canadense</i> <i>M. gateae</i>	97
23	200	AY729935 AY816345	<i>M. lipophilum</i> <i>M. hyopharyngis</i>	94 90
26	200	AY274256	<i>M. felis</i> strain MF6 16S rRNA	100
32	200 400	AY471674.1	<i>M. felis</i> strain ATCC 23391	96 97
34	150	AY800341 AY973562	<i>M. canadense</i> <i>M. gateae</i>	99
37	200, 500	AY816345	<i>M. hyopharyngis</i>	95
38	200 400	AY741674.1	<i>M. felis</i> strain ATCC 23391	96 92
39	300	AF5388682	<i>M. cynos</i>	94

References

- Adler K, Radeloff I, Stephan B, Greife H, Hellmann K (2007) Bacteriological and virological status in upper respiratory tract infections of cats (cat common cold complex). *Berlin Münchner Tierärztliche Wochenschrift* **120**, 120-125.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**, 403-410.
- Baird SC, Carman J, Dinsmore RP, Walker RL, Collins JK (1999) Detection and identification of *Mycoplasma* from bovine mastitis infections using a nested polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **11**, 432-435.
- Ball HJ, Mackie DP (1986) Experimental production of bovine and ovine mastitis with a *Mycoplasma canadense* isolate. *Veterinary Record* **118**, 72-73.
- Blank WA, Erickson BZ, Stemke GW (1996) Phylogenetic relationships of the porcine mycoplasmas *Mycoplasma hyosynoviae* and *Mycoplasma hyopharyngis*. *International Journal of Systematic Bacteriology* **46**, 1181-1182.
- Boughton E, Hopper SA, Gayford PJ (1983) *Mycoplasma canadense* from bovine fetuses. *Veterinary Record* **112**, 87.
- Brown DR, McLaughlin GS, Brown MB (1995) Taxonomy of the feline mycoplasmas *Mycoplasma felifaucium*, *Mycoplasma feliminutum*, *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma gateae*, *Mycoplasma leocaptivus*, *Mycoplasma leopharyngis*, and *Mycoplasma simbae* by 16S rRNA gene sequence comparisons. *International Journal of Systematic Bacteriology* **45**, 560-564.
- Campbell LH, Fox JG, Snyder SB (1973) Ocular bacteria and *Mycoplasma* in clinically normal cats. *Feline Practice* **3**, 10-12.
- Chalker VJ, Owen WM, Paterson CJ, Brownlie J (2004) Development of a polymerase chain reaction for the detection of *Mycoplasma felis* in domestic cats. *Veterinary Microbiology* **100**, 77-82.
- Cox HU (2006) Staphylococcal infections. In: Greene CE (ed) *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3rd edn.) St. Louis: Saunders Elsevier Inc. pp. 316-320.
- Erickson BZ, Ross RF, Rose DL, Tully JG, Bove JM (1986) *Mycoplasma hyopharyngis*, a new species from swine. *International Journal of Systematic Bacteriology* **36**, 55-59.
- Espinola MB, Lilenbaum W (1996) Prevalence of bacteria in the conjunctival sac and on the eyelid margin of clinically normal cats. *Journal of Small Animal Practice* **37**, 364-366.

Friis NF, Blom E (1983) Isolation of *Mycoplasma canadense* from bull semen. *Acta Veterinaria Scandinavica* **24**, 315-317.

Friis NF, Ahrens P, Hagedorn-Olsen T, Nielsen EO, Kokotovic B (2003) *Mycoplasma hyopharyngis* isolation from swine. *Acta Veterinaria Scandinavica* **44**, 103-104.

Gerding PA, Jr., Cormany K, Weisiger R, Kakoma I (1993) Survey and topographic distribution of bacterial and fungal microorganisms in eyes of clinically normal cats. *Feline Practice* **21**, 20-23.

Gerhardt N, Schulz BS, Werckenthin C, Hartmann K (2006) Pharmacokinetics of enrofloxacin and its efficacy in comparison with doxycycline in the treatment of *Chlamydomydia felis* infection in cats with conjunctivitis. *Veterinary Record* **159**, 591-594.

Gilbert RO, Oettle EE (1990) An outbreak of granulomatous vulvitis in feedlot heifers. *Journal of the South African Veterinary Association* **61**, 41-43.

Gourlay RN, Howard CJ, Thomas LH, Wyld SG (1979) Pathogenicity of some *Mycoplasma* and *Acholeplasma* species in the lungs of gnotobiotic calves. *Research in Veterinary Science* **27**, 233-237.

Greene CE, Prescott JF (2006) Streptococcal and other Gram-positive bacterial infections. In: Greene CE (ed) *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3rd edn.) St. Louis: Saunders Elsevier Inc. pp. 302-316.

Haesebrouck F, Devriese LA, van Rijssen B, Cox E (1991) Incidence and significance of isolation of *Mycoplasma felis* from conjunctival swabs of cats. *Veterinary Microbiology* **26**, 95-101.

Hartmann AD, Helps CR, Lappin MR, Werckenthin C, Hartmann K (2008) Efficacy of pradofloxacin in cats with feline upper respiratory tract disease due to *Chlamydomydia felis* or *Mycoplasma* Infections. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **22**, 44-52.

Helps C, Reeves N, Tasker S, Harbour D (2001) Use of real-time quantitative PCR to detect *Chlamydomydia felis* infection. *Journal of Clinical Microbiology* **39**, 2675-2676.

Helps CR, Lait P, Damhuis A, Bjornehammar U, Bolta D, Brovida C, Chabanne L, Egberink H, Ferrand G, Fontbonne A, Pennisi MG, Gruffydd-Jones T, Gunn-Moore D, Hartmann K, Lutz H, Malandain E, Möstl K, Stengel C, Harbour DA, Graat EA (2005) Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydomydia felis* and *Bordetella*

bronchiseptica in cats: experience from 218 European catteries. *Veterinary Record* **156**, 669-673.

Heyward JT, Sabry MZ, Dowdle WR (1969) Characterization of *Mycoplasma* species of feline origin. *American Journal of Veterinary Research* **30**, 615-622.

Kruth SA (2006) Gram-negative bacterial infections. In: Greene CE (ed) *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3rd edn.) St. Louis: Saunders Elsevier Inc. pp. 320-330.

Langford EV, Ruhnke HL, Onoviran O (1976) *Mycoplasma canadense*, a new bovine species. *International Journal of Systematic Bacteriology* **26**, 212-219.

Low HC, Powell CC, Veir JK, Hawley JR, Lappin MR (2007) Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research* **68**, 643-648.

Nasise MP, Guy JS, Stevens JB, English RV, Davidson MG (1993) Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **203**, 834-837.

NCCLS (2002) *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved Standard. NCCLS Document M31-A2* (2nd edn.) Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

NCCLS (2004) *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Informational Supplement. NCCLS Document M31-S1* (1st edn.) Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Pettersson B, Uhlen M, Johansson KE (1996) Phylogeny of some mycoplasmas from ruminants based on 16S rRNA sequences and definition of a new cluster within the hominis group. *International Journal of Systematic Bacteriology* **46**, 1093-1098.

Pettersson B, Tully JG, Bolske G, Johansson KE (2001) Re-evaluation of the classical *Mycoplasma lipophilum* cluster (Weisburg et al. 1989) and description of two new clusters in the hominis group based on 16S rDNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **51**, 633-643.

Rampazzo A, Appino S, Pregel P, Tarducci A, Zini E, Biolatti B (2003) Prevalence of *Chlamydomphila felis* and feline herpesvirus 1 in cats with

conjunctivitis in northern Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **17**, 799-807.

Rosendal S (1973) *Mycoplasma cynos*, a new canine *Mycoplasma* species. *International Journal of Systematic Bacteriology* **23**, 49-54.

Rosendal S, Vinther O (1977) Experimental mycoplasmal pneumonia in dogs: electron microscopy of infected tissue. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica [B]* **85B**, 462-465.

Schulz BS, Wolf G, Hartmann K (2006) Bacteriological and antibiotic sensitivity test results in 271 cats with respiratory tract infections. *Veterinary Record* **158**, 269-270.

Shewen PE, Povey RC, Wilson MR (1980) A survey of the conjunctival flora of clinically normal cats and cats with conjunctivitis. *Canadian Veterinary Journal* **21**, 231-233.

Stiles J (2006) Ocular infections. In: Greene C (ed) *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3rd edn.) St. Louis: Saunders Elsevier Inc. pp. 974-991.

Takashi U, Kiyozo A, Ikunoshin D, Harasawa R (1992) Amplification of the 16S-23S spacer region in rRNA operons of mycoplasmas by the polymerase chain reaction. *Systematic and Applied Microbiology* **15**, 181-186.

Tan RJ, Miles JA (1974) Incidence and significance of mycoplasmas in sick cats. *Research in Veterinary Science* **16**, 27-34.

Tan RJ, Lim EW, Ishak B (1977) Ecology of mycoplasmas in clinically healthy cats. *Australian Veterinary Journal* **53**, 515-518.

Vanrompay D, Van Nerom A, Ducatelle R, Haesebrouck F (1994) Evaluation of five immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *Journal of Clinical Microbiology* **32**, 1470-1474.

Veir J, Ruch-Gallie R, Spindel M, Lappin M (2007) Prevalence of selected infectious organisms in shelter cats with acute upper respiratory tract disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* (in review).

Volopich S, Benetka V, Schwendenwein I, Mostl K, Sommerfeld-Stur I, Nell B (2005) Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydomydia felis* antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Veterinary Ophthalmology* **8**, 25-32.

Walker RL (2004) *Mollicutes*. In: Hirsh DC, MacLachan NJ, Walker RL (eds) *Veterinary Microbiology* (2nd edn.) Ames: Blackwell. pp. 240-249.

Waters L, Barnett KC (2004) The eye. In: Chandler EA, Gaskell CJ, Gaskell RM (eds) *Feline Medicine and Therapeutics* (3rd edn.) Oxford: Blackwell Publishing Ltd. pp. 455-492.

Weisburg WG, Tully JG, Rose DL, Petzel JP, Oyaizu H, Yang D, Mandelco L, Sechrest J, Lawrence TG, Van Etten J, Maniloff J, Woese CR (1989) A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: basis for their classification. *Journal of Bacteriology* **171**, 6455-6467.

Wills JM, Gruffydd-Jones TJ, Richmond SJ, Paul ID (1984) Isolation of *Chlamydia psittaci* from cases of conjunctivitis in a colony of cats. *Veterinary Record* **114**, 344-346.

Wood MM, Timms P (1992) Comparison of nine antigen detection kits for diagnosis of urogenital infections due to *Chlamydia psittaci* in koalas. *Journal of Clinical Microbiology* **30**, 3200-3205.

Zapirain Gastón J, Stengel C, Harbour D, Krieger S, Stampf S, Hartmann K (2005) Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus and *Chlamydia felis* in multi-cat households. *Kleintierpraxis* **49**, 689-698.

V. Kapitel III: Efficacy of pradofloxacin in cats with feline upper respiratory tract disease due to *Chlamydomphila felis* and *Mycoplasma* infections

Efficacy of pradofloxacin in cats with feline upper respiratory tract disease due to *Chlamydomphila felis* or *Mycoplasma* infections

Anja Hartmann

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Chris Helps, Dr. med vet., BSc, PhD

University of Bristol, School of Clinical Veterinary Science, Division of Veterinary Pathology, Infection and Immunity, Churchill Building, Langford House, Langford, Bristol BS40 5DU, England

Michael Lappin, Prof., Dr. med vet., PhD, Dipl. ACVIM-CA

Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, 300 West Drake Raod, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523-1678, USA

Christiane Werckenthin, Dr. med. vet.

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

Katrin Hartmann, Prof., Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA

Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstrasse 13, 80539 München, Deutschland

**Efficacy of pradofloxacin in cats with feline upper respiratory tract disease
due to *Chlamydophila felis* or *Mycoplasma* infections**

Anja D. Hartmann, Chris R. Helps, Michael R. Lappin, Christiane Werckenthin,
Katrinn Hartmann

Pradofloxacin in cats

From the Veterinary Teaching Hospital, Department of Small Animal Internal Medicine, LMU, Munich, Germany (Hartmann, Hartmann); School of Clinical Veterinary Science, Division of Veterinary Pathology, Infection and Immunity, University of Bristol, Bristol, England (Helps); Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, USA (Lappin); Institute for Medical Microbiology, Infectious and Epidemic Diseases, LMU, Munich, Germany (Werckenthin).

An abstract of this work was presented at the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, Germany, March 16-19, 2006 and at the ECVIM Congress, Amsterdam, The Netherlands, September 14-16, 2006.

Reprint requests: Katrin Hartmann, Prof., Dr. med. vet., Dr. habil., Dipl. ECVIM-CA, Medizinische Kleintierklinik, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Muenchen, Germany; e-mail: Hartmann@uni-muenchen.de

Acknowledgments: The study was granted by Bayer HealthCare AG, Division Animal Health, Leverkusen, Germany. The authors thank Jennifer R. Hawley for performing the PCR.

Abstract

Background - Upper respiratory tract disease (URTD) of cats is caused by a number of pathogens including *Chlamydomphila felis* and *Mycoplasma* species (spp.). For effective treatment of both infections, doxycycline or enrofloxacin are recommended but adverse effects, limit their use in cats.

Hypothesis - That the fluoroquinolone pradofloxacin is effective against *C. felis* and *Mycoplasma* infection in cats with URTD or conjunctivitis.

Animals - Thirty-nine cats with signs of URTD or conjunctivitis.

Methods - Placebo controlled, double blind clinical trial. Cats were randomly entered into 1 of 2 treatment groups: treated orally with either 5 mg/kg pradofloxacin q24h or 5 mg/kg doxycycline q12h for 42 consecutive days. Changes in health status and clinical scores were evaluated. Presence of *C. felis* and *Mycoplasma* spp. was determined by quantitative polymerase chain reaction (PCR) and nested PCR of conjunctival swabs, respectively.

Results - At the beginning of the study, *C. felis* and *Mycoplasma* spp. were detected in 23 and 20 cats, respectively. Cats of both groups responded rapidly with a marked improvement in clinical signs within the first week. During treatment with either drug, *C. felis* DNA copy number declined quickly. Complete elimination of *Mycoplasma* spp. was achieved in both groups, however, while all cats receiving doxycycline eliminated *C. felis*, 4 cats treated with pradofloxacin remained PCR-positive.

Conclusion and clinical relevance - This study demonstrates that both pradofloxacin and doxycycline have good efficacy against *C. felis* and *Mycoplasma* spp. resulting in a marked improvement of clinical signs. However, *C. felis* DNA remained in some cats after treatment with pradofloxacin suggesting infection might not have been eliminated.

Keywords

FURTD, conjunctivitis, PCR, doxycycline, fluoroquinolone, treatment

Upper respiratory tract disease (URTD) in cats is a common problem of predominantly young cats and kittens in the post-weaning period. Many of the causes are infectious and so contact between cats facilitates transmission. Thus, cats grouped together in multiple cat households, breeding institutions, and animal shelters are infected frequently.¹⁻³ *Chlamydomphila felis* (*C. felis*) is an obligate intracellular bacterium that replicates in conjunctival cells causing conjunctivitis in cats. In a recent study in Germany, 8.2 % of cats in multiple cat households with history of URTD were infected with *C. felis*.⁴ Because *C. felis* can exist as an intracellular reticulate body, effective treatment is difficult, and complete elimination of the bacteria is not always achieved.⁵ *Mycoplasma* species (spp.) are wall-less bacteria detected on mucous membranes of the conjunctiva, respiratory tract, and genital tract of cats.⁶ They can be isolated frequently in cats with conjunctivitis, and in one study, *Mycoplasma* spp. DNA was amplified from conjunctival cells of more cats with conjunctivitis than of healthy controls.^{7,8}

C. felis can be effectively treated with tetracyclines, including doxycycline, and the fluoroquinolone enrofloxacin.^{9,10} The drug of choice is currently doxycycline which had been used effectively in a number of experimental studies.¹¹⁻¹³ However, both drugs are associated with a variety of adverse effects. Tetracyclines can lead to gastrointestinal side effects, esophageal strictures, and administration to pregnant queens or kittens in the first few months of life should be avoided because of calcium chelate formation in bones and teeth resulting in growth retardation and tooth discoloration.¹⁴⁻¹⁶ Enrofloxacin has been associated with retinal degeneration in cats, especially if used at higher dosages.¹⁷ Clinical signs associated with *Mycoplasma* spp. infections also often resolve after administration of tetracyclines or fluoroquinolones; tylosin seems to be effective as well.^{18,19}

The fluoroquinolone pradofloxacin is not toxic in cats and failed to induce fluoroquinolone-induced retinal changes even at serum high concentrations.^{20,21} The drug exhibits a broad spectrum activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria.²² Therefore, it could be a good candidate for the treatment of cats with bacterial causes of URTD. The aim of this study was to investigate the efficacy of pradofloxacin in the treatment of cats with clinical signs of URTD and its ability to eliminate *C. felis* and *Mycoplasma* infection in these cats.

Materials and Methods

Cats

Forty-five cats with signs of URTD or conjunctivitis that were presented at the Veterinary Teaching Hospital of the LMU University of Munich between April 2004 and December 2005 were included in the study. Inclusion criteria were presence of URTD or conjunctivitis and negative serum test results for feline leukemia virus antigen and feline immunodeficiency virus antibodies^a. Owners had to give their consent for participation. Exclusion criteria were an age of less than 6 months, pregnancy or weaning, evidence of renal or liver failure, CNS disease, and pre-treatment with antibiotics during the past 6 weeks. Six cats did not complete the study; four were euthanized because of the development of feline infectious peritonitis (three cats) or an oropharyngeal squamous cell carcinoma (one cat), one cat was impossible to treat, and one cat developed severe diarrhea. Thirty-nine cats completed the study. Of these, 10 (26 %) were client-owned, 11 (28 %) were farm cats, and 18 (46 %) came from animal shelters. All patients were domestic short hair cats with an average weight of 2.6 ± 1.1 kg (0.6 to 5.0 kg). Of the cats, 21 were female (8 intact, 13 neutered) and 18 were male (6 intact, 12 neutered). The age of most cats could only be estimated. Thirteen cats were younger than 1 year, 16 cats were between 1 and 4 years of age, 8 cats were between 5 and 8 years of age, and 2 cats were between 8 and 12 years of age. The vaccination status was only known for the 10 client-owned cats, of which 4 were vaccinated regularly. The history about duration of clinical signs was unknown for the majority of cats.

Design of the study

The study was performed as a controlled double-blinded study. Cats were randomly assigned to one of 2 study groups. Cats in group P (n = 17) were administered 5 mg/kg pradofloxacin^b P.O. every 24 hours and placebo every 12 hours. Cats in group D (n = 22) were administered 5 mg/kg doxycycline^c every 12 hours and placebo every 24 hours. All compounds were given orally for 42 consecutive days. A treatment period of 6 weeks (42 days) is the currently recommended regime to eliminate *C. felis* infections.¹⁰ Substances used as placebos had the same colour and consistency, but did not contain any antimicrobial agents. All investigators involved were blinded until the end of

study.

Examination schedule and sample collection

Cats were examined daily during the first week, and thereafter on days 14, 28, and 42. Clinical signs evaluated included ocular and nasal discharge, sneezing, conjunctivitis, breathing pattern, and lung sounds (Table 1). Each sign was assessed separately and subsequently, the total score was calculated summarizing the score of each sign. The maximum possible total clinical score was 18. General health status and quality of life was determined using the modified Karnofsky's score.²³ This scoring system uses behaviour patterns such as eating, playing, sleeping, grooming, and outdoor activities. The degree of certain behaviour patterns is expressed in percentage ranging from 100 % (cat with normal behaviour) to 0 % (death of the cat). Complete blood counts (CBC) and chemistry profiles were investigated on day 0, 3, 7, 14, 28, and 42.

On day 0, swabs for the detection of feline herpesvirus (FHV), feline calicivirus (FCV), *C. felis*, and *Mycoplasma* spp. were obtained. Follow-up swabs for *C. felis* and *Mycoplasma* spp. were taken on day 3, 7, 14, 28, and 42. Oropharyngeal swabs for the detection of FCV were obtained using sterile plain cotton swabs^d, which were rolled over the mucus membrane of the oropharynx of each cat. The cotton tip of a swab was gently scraped over the conjunctival surface to collect ocular samples for the detection of FHV, *C. felis*, and *Mycoplasma* species. All swabs were returned into their covers immediately after sampling and stored at -70 °C until analyzed. A multiplex real-time polymerase chain reaction (PCR) was run to detect FHV, FCV, and *C. felis*. For *Mycoplasma* spp., a nested PCR was performed.

DNA isolation

For isolation of the total nucleic acid (DNA and RNA), the cotton swabs were placed in a 96 deep-well block containing 300 µl phosphate buffered saline, 300 µl buffer BQ1 and 30 µl proteinase K^e per well. The block was covered and the swabs incubated in a shaker/incubator^f for 15 minutes at 70 °C and 500 rpm. 300 µl of 100 % ethanol was added to the swab, mixed, and the liquid was transferred to a 96 well spin plate. Subsequent procedures were performed as outlined by the manufacturer. The total nucleic acid was eluted in 100 µl buffer BE and stored at -80 °C.

PCR for FCV, FHV, and Chlamydomphila felis

To reverse transcribe the FCV RNA present in the nucleic acid samples, the following reaction was set up on ice: 10 µl of 2 X Platinum QRT-PCR Thermoscript^g, 0.25 µl of 10 µM FCV reverse primer (Table 2), 0.5 µl Thermoscript/Platinum Taq mix and 9.25 µl template nucleic acid. The reaction was incubated at 55 °C for 30 minutes to allow reverse transcription and 85 °C for 5 minutes to inactivate the Thermoscript. A duplex real-time PCR assay to detect FCV and feline 28S rDNA was set up as follows: 12.5 µl 2X Hotstartaq^h, 1.5 µl of 50 mM magnesium chloride, 100 nM FCV primers and probe, 100 nM feline 28S primers and probe, 5 µl cDNA/gDNA from above and water to bring the volume to 25 µl. Thermal cycling was performed in an iCycler iQⁱ for 1 cycle of 95 °C for 15 minutes, followed by 45 cycles of 95 °C for 10 seconds and 60 °C for 30 seconds. Fluorescence was detected at 575 and 620 nm at each annealing step (60 °C).

The 3-way multiplex real-time PCR assay to detect FHV, *C. felis*, and feline 28S rDNA was set up as follows: 12.5 µl 2X Hotstartaq, 1.5 µl of 50 mM magnesium chloride, 100 nM FHV primers and probe, 100 nM *C. felis* primers and probe, 100 nM feline 28S primers and probe, 5 µl genomic DNA, and water to bring the volume to 25 µl. Thermal cycling was performed as described for FCV except that the annealing step (60 °C) was increased to 60 seconds. Fluorescence was detected at 530, 620, and 680 nm at each annealing step (60 °C).

The duplex real-time PCR assay to detect *C. felis* and feline 28S rDNA on the swabs from all follow-up examinations was set up like the 3-way multiplex real-time PCR but without the FHV primers and probe. Thermal cycling was performed as described for FCV, and fluorescence was collected at 530 nm and 620 nm at each annealing step (60 °C). All reactions were run in duplicates.

PCR data were analysed using the iCycler software version 3 as described previously.^{3,11} Threshold cycle values (Ct) were calculated using a threshold of 100 relative fluorescence units (RFU) for the FAM channel, 20 RFU for the Hex channel, 50 RFU for the Cy5 channel, and 25 RFU for the Texas Red channel. To facilitate comparisons between swabs and calculate relative copy numbers, the *C. felis* Ct values were normalised to the 28S Ct values. For each swab, the 28S Ct was adjusted to 30 through the application of a correction factor (CF), where CF = 28S Ct - 30. The CF value was then subtracted from the *C. felis* Ct for each swab

to create a normalised *C. felis* Ct value: normalised *C. felis* Ct = *C. felis* Ct - CF. Relative copy number (RCN) values were generated based upon the notion that a *C. felis* Ct value of 45 equates to a template copy number of 1. Each swab was then given a delta Ct (Δ Ct) value, where Δ Ct = 45 - corrected *C. felis* Ct. A RCN was assigned to each swab by calculating 1.9^{Δ Ct, as the reaction has been shown to be 92 % efficient.²⁴ To allow the results to be plotted on a log scale, 1 was added to each relative copy number result.

PCR for Mycoplasma species

The PCR was performed utilizing previously described primers for both the flanking (Myc for 1, Myc rev 1) and nested reactions (Myc for 2, Myc rev 2) (Table 1).²⁵ The 50 μ l reactions (both flanking and nested) were carried out with 1 μ l of sample DNA and a final concentration of the following: 1 μ M each primer, 800 μ M dNTP mix, 1.5 mM MgCl₂, 1X PCR Buffer^j (16 mM (NH₄)₂SO₄, 67 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25 °C), 0.01 % Tween-20), and 3.75 U *Taq* polymerase^j. The flanking and nested reactions were carried out using the previously described protocols.²⁶

Statistics

Statistical analysis was performed using a commercial software package^k. The Mann-Whitney U test was used to detect 1) differences in the distribution of pathogens among both treatment groups on day 0, 2) differences in Karnofsky's score, mean clinical scores, and mean relative copy numbers at each time point between treatment groups, and 3) differences in the clinical scores between groups infected with either *Mycoplasma* spp. or *C. felis* at the beginning and the end of the study. To detect differences in laboratory variables Student's t-test was used. The Fisher's exact test was used to investigate differences in the number of cats in which *C. felis* and *Mycoplasma* infections were eliminated. The mean time necessary to clear infections was estimated by Kaplan-Meier survival analysis. A *p* value of ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Results

Pathogens present at the beginning of the study

Nucleic acids of FCV, FHV, *C. felis*, or *Mycoplasma* spp. were present in 38 of 39 (97 %) cats at the beginning of the study (Table 3). There was no statistically significant difference regarding the pathogenetic distribution between both treatment groups.

Change in clinical signs and laboratory parameters

On day 0, mean body temperature was 38.9 ± 0.5 °C and 38.8 ± 0.3 °C in group P and D, respectively. Treatment in both groups resulted in rapid improvement of the general health status. According to the Karnofsky's score, mean general health status of 88 ± 11 % and 89 ± 14 % on day 0 improved to 99 ± 2 % and 100 ± 0 % on day 7 in cats treated with pradofloxacin and doxycycline, respectively (Fig 1). There was no statistically significant difference between both groups on any examination day.

Signs of URTD improved within 7 days after initiating treatment. Mean total clinical score of cats treated with pradofloxacin improved from an average of 4.9 ± 1.7 on day 0 to 0.9 ± 0.9 on day 7. Cats treated with doxycycline had a mean total clinical score of 4.5 ± 2.4 on day 0 which decreased to 1.4 ± 1.5 on day 7 (Fig 2). Differences in clinical signs were not statistically significant different between the treatment groups on each examination day. At the end of the treatment period, however, 12 of 17 cats in group P and 8 of 22 cats in group D still had minor signs of URTD. Co-infections with both viruses were present in 9 and 8 cats of group P and group D, respectively. This was not statistically significant different between both groups.

Occasionally, cats in both groups developed vomiting and diarrhea. Vomiting was observed on single days and occurred only once per day (5 cats in group P, 4 cats in group D). Diarrhea was present in 5 cats in total (2 in group P, 3 in group D) and persisted up to two days in 4 cats. The fifth cat treated with doxycycline had to be withdrawn from the study on day 7 due to severe diarrhea for 5 days. Data obtained from this cat were not included into analysis. Clinical signs resolved in all other cats without any specific therapy. On day 42, pododermatitis on all 4 paws was observed in one cat treated with doxycycline.

On day 0, no laboratory values of any cat included in the study were above

the reference range. Mean serum alanine transferase (ALT) activity was within the reference range (0 – 114 IU/L) in both treatment groups on each day of investigation. However, mean values in cats treated with doxycycline increased from 64 ± 29 IU/L on day 0 to 92 ± 72 IU/L and 93 ± 61 IU/L on day 28 and 42, respectively. Elevations above the reference range were present in 3 cats on day 28 and in 4 cats on day 42. Values on day 28 and 42 were statistically significant (day 28: $P = .022$; day 42: $P = .042$) higher than values on day 0. No changes in any other serum parameters developed during treatment with doxycycline and no changes were observed during pradofloxacin treatment.

Mean white blood cell count was $20.92 \pm 8.99 \times 10^3/\mu\text{l}$ (6.03 to $36.3 \times 10^3/\mu\text{l}$) on day 0. Seventeen of the 39 patients (44 %) had a leukocytosis ($> 20.1 \times 10^3/\mu\text{l}$). A mild left shift with $0.83 \pm 1.65 \times 10^3/\mu\text{l}$ banded neutrophils was present in 20 of 39 cats (53 %). In both groups, a normalization of the leukocyte counts was achieved within one week of initiating therapy.

Presence of Chlamydophila felis

C. felis PCR was positive in 23 of 39 cats (59 %) on day 0 (10 cats in group P, 13 cats in group D) Two cats treated with pradofloxacin remained positive throughout the treatment period. Two cats displayed positive results at the end of treatment despite negative test results in between. One cat was PCR negative on day 28, but was positive on the previous (day 14) and on the following sampling day (day 42). The other cat showed a positive test result on day 42, although tested negative on days 7, 14, and 28, (Fig 3 and 4, Table 4). On day 42, the number of cats with positive *C. felis* PCR assay results was significantly different ($\chi^2 = 5.77$, $P = .016$) between the treatment groups. Estimated mean duration of treatment for *C. felis* infections in cats was for pradofloxacin 28.8 ± 2.2 days and for doxycycline 23.4 ± 1.7 days (Fig 5).

On day 0, *C. felis* mean relative copy numbers in cats were $376,296 \pm 653,108$ and $27,614 \pm 53,960$ in group P and group D, respectively ($P = .23$). Two *C. felis* genomic DNA samples with Ct values of 19 and 27 were run in triplicate on 4 occasions. The maximum difference was 1.2 Ct, which equates to 2 fold. Treatment resulted in a decrease in *C. felis* relative copy numbers in both groups. At the end of the treatment period, there was no statistically significant difference in mean relative copy numbers between both groups, although all cats in group D became negative, while 4 cats in group P were still positive for *C. felis* by PCR on

day 42 ($P = .12$).

Detection of Mycoplasma species

Mycoplasma spp. DNA was amplified in conjunctival swabs from 18 of 39 cats (46 %) (8 cats in group P, 10 cats in group D) and in oral swabs from 25 of 39 cats (64 %) (11 cats in group P, 14 cats in group D). Two cats negative for *Mycoplasma* spp. on day 0 were positive on day 3 and one cat on day 28. All cats positive for *Mycoplasma* spp. on day 0 or on day 3 or 28 were negative on day 42 (Table 5). Mean elimination of *Mycoplasma* spp. was estimated to be 19.7 ± 2.1 days and 18.9 ± 1.7 days for treatment with pradofloxacin and doxycycline, respectively (Fig 6).

Discussion

The aim of this study was to evaluate the efficacy of pradofloxacin and doxycycline in the treatment of URTD and infections with *C. felis* and *Mycoplasma* in cats. The prevalence and variety of pathogens detected by PCR in the current study are similar to those reported by other authors. In this study, 72 % of the cats were infected with FCV and 28 % of the cats with FHV. In other publications, FCV and FHV had been detected in cats with URTD with a prevalence of 33 % to 80 % and 11 % to 54 %, respectively.^{1,3,27-29} The prevalence of *C. felis* (59 %) and of *Mycoplasma* (46 %) in this study was higher than reported in most other investigations, which can be explained by the selected inclusion of cats with conjunctivitis.⁸ Additionally, the majority of cats included in the study originated from multiple cat environments (shelters, farms) in which a higher percentage of infections are expected compared to cats from single cat households.

C. felis was detected in 23 cats in the current study. Mean relative copy numbers declined over time and clinical scores declined over time regardless of the drug administered. In 3 cats (1 cat in group P, 2 cats in group D), however, *C. felis* DNA was intermittently detectable without clinical signs of conjunctivitis at these time points. In a study of Dean and co-workers (2005) similar observations were made in 3 experimentally infected cats receiving a 14 day course of doxycycline.¹¹ *C. felis* has also been detected in organs, for example gastrointestinal tract, lungs, and genital tract.^{12,30} Hence, persistent infections in

other organs, without presence in the conjunctiva, may contribute to intermittently negative PCR results when the infection has not been eliminated.¹¹

Clinical signs of URTD improved within a week of initiating therapy with no statistically significant difference between the treatment groups. Treatment response might be due to the elimination of *C. felis* and *Mycoplasma* spp., but might also be due to treatment of secondary infections such as *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. this seems to be especially likely in virally infected cats without *Mycoplasma* and *C. felis* infections. Field studies in cats with URTD using other fluoroquinolones such as marbofloxacin and enrofloxacin also demonstrated good efficacy.^{9,31} However, in our study a clinical cure was not achieved in all cats. Remaining signs mainly consisted of conjunctivitis and ocular discharge. It can be assumed that in some cats signs persisted due to co-infection with FHV. In 4 other cats, *C. felis* was not eliminated due to treatment failure of pradofloxacin. Three of these cats showed clinical signs on day 42. Alternatively, chronic changes, such as occlusion of the nasolacrimal duct, symblepharon, and adhesions of the conjunctiva to itself or to the cornea, are known to develop during chronic URTD and are unlikely to fully resolve.³²

Treatment resulted in a rapid decline in mean relative *C. felis* copy numbers in both groups. Six of 10 cats treated with pradofloxacin became negative at day 42 of the study. Two cats, however, remained positive throughout the study. In these cats, copy numbers did not decrease. In the 2 other cats, *C. felis* was not detected on day 28, but the cats were positive again on day 42. An increase in relative copy numbers on day 42 was correlated with clinical signs in one of these 2 cats. Treatment failure may be due to insufficient absorption or distribution of the drug, poor compliance, or antimicrobial resistance. Pradofloxacin has excellent pharmacokinetic properties including quick absorption, development of high serum concentration, and good bioavailability.^{33,34} One study demonstrated a high concentration of pradofloxacin in neutrophils.³⁵ However, data are missing whether pradofloxacin penetrates into tissue cells. It may be possible that it is taken up into cells to a lesser extent than doxycycline which may explain the treatment failure in 2 cats of group P. Vomiting or diarrhea, which might have interfered with the absorption of the antimicrobial agent in the gastrointestinal tract, were only observed occasionally and occurred in the doxycycline group as well. Hence, GI problems as a reason for treatment failure is unlikely. Poor compliance of the owners and failure to

administer the drugs are the major reasons for re-occurrence of disease.^{12,36} Both of the cats in which *C. felis* persisted until the end of the treatment period stayed in the hospital throughout the whole study period, and treatment was part of the daily routine of hospitalized cats. Staff members were specifically instructed about handling of the drugs and application. Thus, it is very unlikely that the drugs were administered incorrectly in these cats. Resistance of *Chlamydophila* spp. to antimicrobials is difficult to test and does not seem to be very common. Susceptibility testing in culture has been shown not to be reliable and test results did not correlate well with the clinical outcome of the patients.³⁷ A few case reports about treatment failure due to resistant strains of *Chlamydia trachomatis* in humans have been published.³⁸⁻⁴⁰ Acquired resistance of *Chlamydia trachomatis* to fluoroquinolones can be caused by mutation in the DNA gyrase gene and can be produced experimentally *in vitro* during serial cell passages.^{41,42} This phenomenon did not develop in *Chlamydophila pneumoniae* suggesting that the efficacy of antimicrobial drugs depends on the degree of metabolic activity in the target bacteria.⁴² No data exists on the development of antibiotic resistance in *C. felis*, and thus, resistance remains a potential cause for the treatment failure.

Treatment with doxycycline resulted in a clearance of *C. felis* DNA by day 42 in all patients. Thus, it can be confirmed that the efficacy of doxycycline in the treatment of *C. felis* infections in cats is similar to previously published work.^{11-13,36} A 21 day course of doxycycline is recommended to treat *C. felis* infection, but clinical signs reoccurred after a treatment period of 21 days, suggesting that a treatment period of 21 days is not enough.^{11,12} A 28 day course of doxycycline was therefore recommended.¹¹ In our study, 2 cats still showed shedding of *C. felis* on day 28. Thus, a treatment period of 42 days was necessary to eliminate infection in all cats.

Mycoplasma spp. have been shown to be susceptible to several fluoroquinolones and tetracyclines *in vitro*.^{43,44} In our study, 9 cats treated with pradofloxacin and 11 cats treated with doxycycline became *Mycoplasma* spp. DNA negative after a mean treatment period of 20 and 19 days, respectively. This clinical trial, therefore, demonstrated a good efficacy of both substances in the elimination of *Mycoplasma* spp. *in vivo*. However, to treat these organisms effectively, a treatment period of 42 days is recommended due to the positive PCR results on day 28 in 3 of 20 cats.

Vomiting and diarrhea occurred in cats of both treatment groups. Many

antimicrobial agents may cause gastrointestinal side effects. With doxycycline, gastrointestinal upset is believed to develop because of changes in the natural enteric flora as well as esophageal, gastric, and intestinal irritation.¹⁶ ALT activity increased continuously during treatment with doxycycline. Increase in ALT is a result of liver cell damage or membrane destabilization rather than due to enzyme activation. Tetracycline-induced hepatotoxicity had been shown to cause increase in liver enzyme activity such as ALT and alkaline phosphatase.⁴⁵ Tetracyclines are also known to have effects on the skin such as inducing photosensitivity with erythema and edema following UV light exposure.⁴⁶ Whether the development of the pododermatitis in one cat was connected to the treatment, however, remains uncertain. No cases of pododermatitis following doxycycline therapy have been published so far.

In this study, treatment of *C. felis* infections was significantly more effective when doxycycline was used. While administration of pradofloxacin effectively eliminated *Mycoplasma* and lead to similar improvement of clinical signs and well-being, *C. felis* infection was not eliminated in 4 of 10 cats. Pradofloxacin, however, can be used as an alternative in URTD and conjunctivitis due to *C. felis* or *Mycoplasma* in young cats and in cats with liver disease in which doxycycline should be avoided.

Tables**Table 1.** Scoring system for clinical signs evaluated in cats with URTD or conjunctivitis.

conjunctivitis	0 = no clinical signs 1 = mild conjunctival hyperemia 2 = moderate conjunctival hyperemia and mild chemosis 3 = moderate to severe conjunctival hyperemia and moderate chemosis 4 = severe conjunctival hyperemia and severe chemosis
ocular and nasal discharge	0 = no clinical signs 1 = minor serous discharge 2 = moderate serous to mucoid discharge 3 = moderate mucopurulent discharge 4 = severe mucopurulent discharge
sneezing	0 = absent 1 = occasionally 2 = frequently
breathing pattern	0 = normal 1 = mild dyspnoe 2 = moderate to severe dyspnoe
lung sounds	0 = absent 1 = mild abnormal lung sounds 2 = moderate to severe lung sounds

Table 2. Primer and probe sequences used in the PCR assays.

	Primer or probe sequence
<i>C. felis</i> for	5'-GAACTGCAAGCAACACCACTG-3'
<i>C. felis</i> rev	5'-CCATTCGGCATCTTGAAGATG-3'
<i>C. felis</i> Taqman	5'-FAM-CGCTGCCGACAGATCAAATTTTGCC-BHQ1-3'
28S rDNA for	5'-AGCAGGAGGTGTTGGAAGAG-3'
28S rDNA rev	5'-AGGGAGAGCCTAAATCAAAGG-3'
28S rDNA Taqman	5'-Texas Red-TGGCTTGTGGCAGCCAAGTGT-BHQ2-3'
FCV for	5'-GTTGGATGAACTACCCGCCAATC-3'
FCV rev	5'-CATATGCGGCTCTGATGGCTTGAAACTG-3'
FCV Taqman	5'-Hex-TCGGTGTGTTGATTTGGCCTG-BHQ1-3'
FHV for	5'-GGACAGCATAAAAGCGATTG-3'
FHV rev	5'-AACGTGAACAACGACGCAG-3'
FHV Taqman	5'-CY5-AATTCAGCCCGGAGCCTCAAT-BHQ3-3'
Myc for 1	5'-ACACCATGGGAGCTGGTCAT-3'
Myc rev 1	5'-CTTC(AT)TCGACTT(CT)CAGACCAAGGCAT-3'
Myc for 2	5'-GTTCTTTGAAAAGTGAAT-3'
Myc rev 2	5'-GCATCCACCA(AT)A(AT)ACTCT-3'

BHQ, black hole quencher; *C. felis*, *Chlamydomphila felis*; CY-5, cyanine 5; FAM, carboxyfluorescein; FCV, feline calicivirus; FHV, feline herpesvirus; for, forward; Hex, hexachloro-fluorescein; Myc, *Mycoplasma*; PCR, polymerase chain reaction; rDNA, ribosomal deoxyribonucleic acid; rev, reverse.

Table 3. Infectious pathogens present in cats with URTD or conjunctivitis at the beginning of the study and their distribution among treatment groups. Results are based on pharyngeal swabs (FCV) and conjunctival swabs (FHV, *C. felis*, *Mycoplasma* spp.). Prevalence rates between groups P and D were compared by the Mann-Whitney U test with significance defined as $P < 0.05$.

	both groups	group P	group D	<i>P</i>
number of cats included	39 (100 %)	17	22	
total number of pathogens				
FHV	11 (28 %)	7	4	.114
FCV	28 (72 %)	12	16	.883
<i>C. felis</i>	23 (59 %)	10	13	.987
<i>Mycoplasma</i> spp. (conjunctival swab)	18 (46 %)	8	10	.921
<i>Mycoplasma</i> spp. (pharyngeal swab)	25 (64 %)	11	14	.945
co-infections				
FHV + FCV	5 (13 %)	4	1	.079
<i>C. felis</i> + <i>Mycoplasma</i> spp.	11 (28 %)	6	5	.387
all 4 pathogens	4 (10 %)	2	2	.785

C. felis, *Chlamydophila felis*; FCV, feline calicivirus; FHV, feline herpesvirus; spp., species.

Table 4. Mean clinical scores, individual conjunctivitis score, and status of infection at each time point in cats treated with pradofloxacin.

cat #	day of study					
	0	3	7	14	28	42
	status of infection conjunctivitis score					
P1	FHV, FCV 1	0	0	0	0	0
P2	FHV 1	0	0	0	0	0
P3	FHV, FCV 2	0	0	0	0	0
P4	FCV 1	1	1	1	0	1
P5	FHV, FCV 1	0	0	0	0	0
P6	FCV, Cf, M 2	Cf, M 0	Cf, M 0	Cf, M 0	M 0	0
P7	FCV 1	1	0	0	0	0
P8	FHV, FCV, Cf 3	Cf, M 2	Cf 1	0	M 0	1
P9	FHV, FCV, Cf, M 3	Cf 1	1	1	0	Cf 0
P10	FCV 1	0	0	0	0	0
P11	Cf, M 3	Cf 1	Cf 1	Cf 1	Cf 1	Cf 1
P12	Cf 1	0	0	0	0	0
P13	Cf, M 3	Cf 2	Cf 1	Cf 1	Cf 0	Cf 1
P14	FCV, Cf, M 2	Cf 1	1	1	1	1
P15	Cf, M 3	Cf 2	Cf 0	Cf 0	1	Cf 1
P16	FCV, Cf, M 1	Cf 1	0	0	0	0
P17	FHV, FCV, Cf, M 2	Cf 1	0	0	0	0
	mean clinical scores					
breathing pattern	0.2 ± 0.6	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.2	0
lung sounds	0.3 ± 0.6	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3
sneezing	0.5 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0	0.3 ± 0.6	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3
nasal discharge	0.8 ± 0.8	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.6	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.4
ocular discharge	1.4 ± 0.8	0.8 ± 0.6	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.5 ± 0.5
conjunctivitis	1.8 ± 1.0	0.8 ± 0.8	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.5

Cf, positive for *Chlamydomphila felis*; FCV, positive for feline calicivirus; FHV, positive for feline herpesvirus; M, positive for *Mycoplasma* spp.

Table 5. Mean clinical scores, individual conjunctivitis score, and status of infection at each time point in cats treated with doxycycline.

cat #	day of study					
	0	3	7	14	28	42
	status of infection conjunctivitis score					
D1	Cf 3	1	0	0	0	0
D2	1	2	1	1	1	1
D3	FCV 1	0	0	0	0	0
D4	FCV, Cf 1	Cf 0	0	0	0	0
D5	FCV, Cf 0	Cf 0	0	0	0	0
D6	FCV, Cf 2	Cf 1	1	1	0	0
D7	FCV 1	0	0	1	0	0
D8	FHV, FCV 0	0	0	0	0	0
D9	FCV, Cf 2	Cf 1	Cf 1	0	0	0
D10	FCV, M 2	2	M 2	M 1	0	0
D11	M 1	1	M 0	0	0	2
D12	FCV 1	M 0	0	0	0	0
D13	FCV 3	2	1	1	0	0
D14	M 2	1	0	0	0	0
D15	FCV, Cf, M 2	Cf 0	1	0	0	0
D16	FHV, FCV, Cf, M 2	Cf 1	1	Cf 0	0	0
D17	FCV, Cf, M 3	Cf, M 2	Cf, M 1	Cf 0	M 0	0
D18	FCV, Cf, M 4	Cf 2	Cf 1	0	0	0
D19	FCV, Cf 1	1	1	1	1	1
D20	FHV, Cf, M 1	Cf 1	0	0	1	0
D21	Cf, M 1	Cf 2	0	0	Cf 0	0
D22	FHV, FCV, Cf, M 1	Cf 2	Cf 2	Cf 0	Cf 0	0
	mean clinical scores					
breathing pattern	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.2
lung sounds	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4
sneezing	0.4 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.3

nasal discharge	0.9 ± 0.8	0.5 ± 0.6	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.3
ocular discharge	1.1 ± 0.8	0.7 ± 0.7	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4
conjunctivitis	1.6 ± 1.0	1.0 ± 0.8	0.6 ± 0.7	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.5

Cf, positive for *Chlamydomphila felis*; FCV, positive for feline calicivirus; FHV, positive for feline herpesvirus; M, positive for *Mycoplasma* spp.

Figures

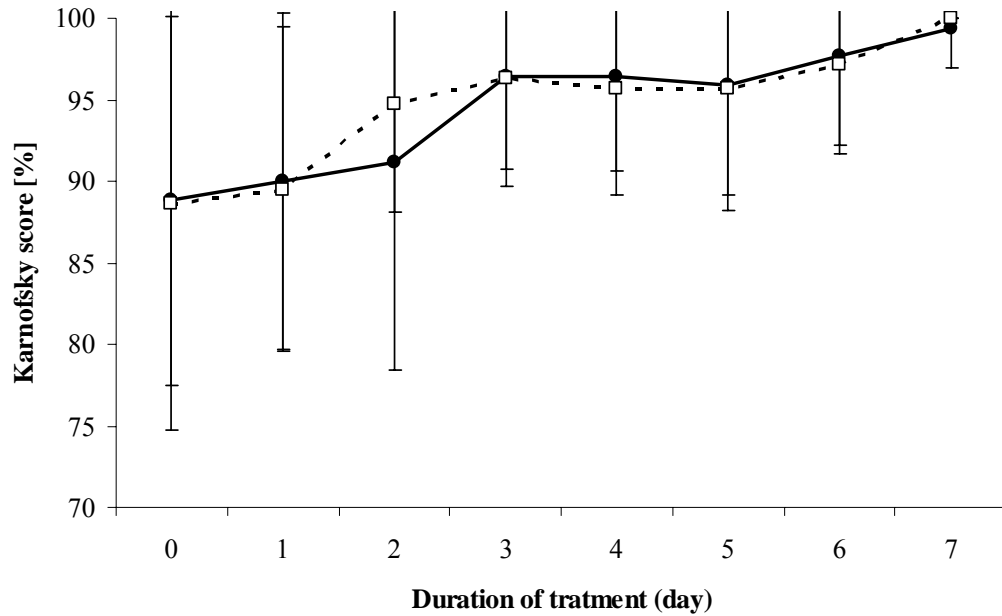


Fig 1. Improvement of the Karnofsky's score (0 – 100 %) in cats with upper respiratory tract disease treated with pradofloxacin or doxycycline during the first week of treatment.

solid line = pradofloxacin; dashed line = doxycycline

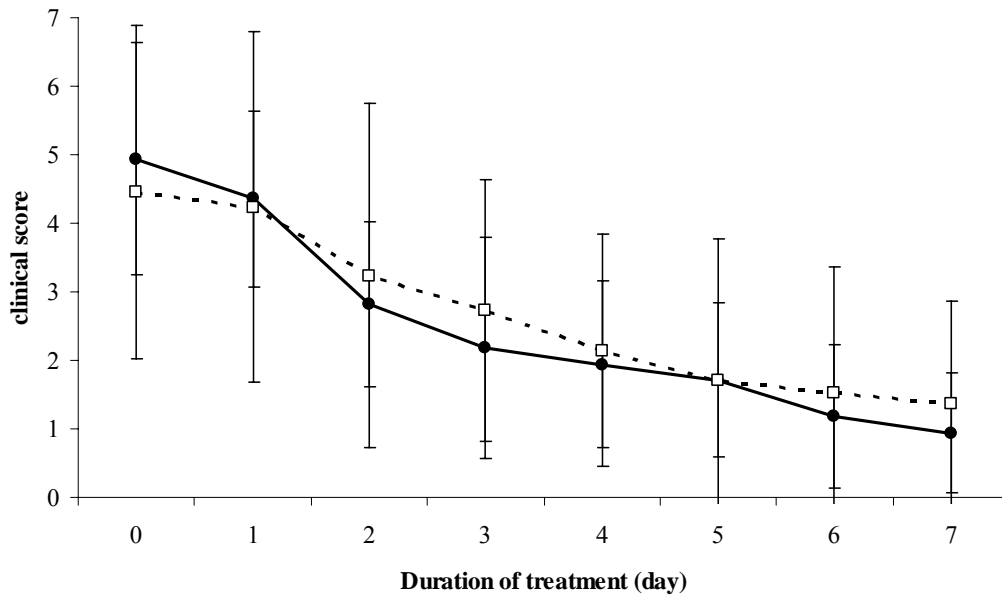


Fig 2. Improvement of mean total clinical scores in cats (maximum 18) treated with pradofloxacin or doxycycline during the first 7 days of treatment.

solid line = pradofloxacin; dashed line = doxycycline

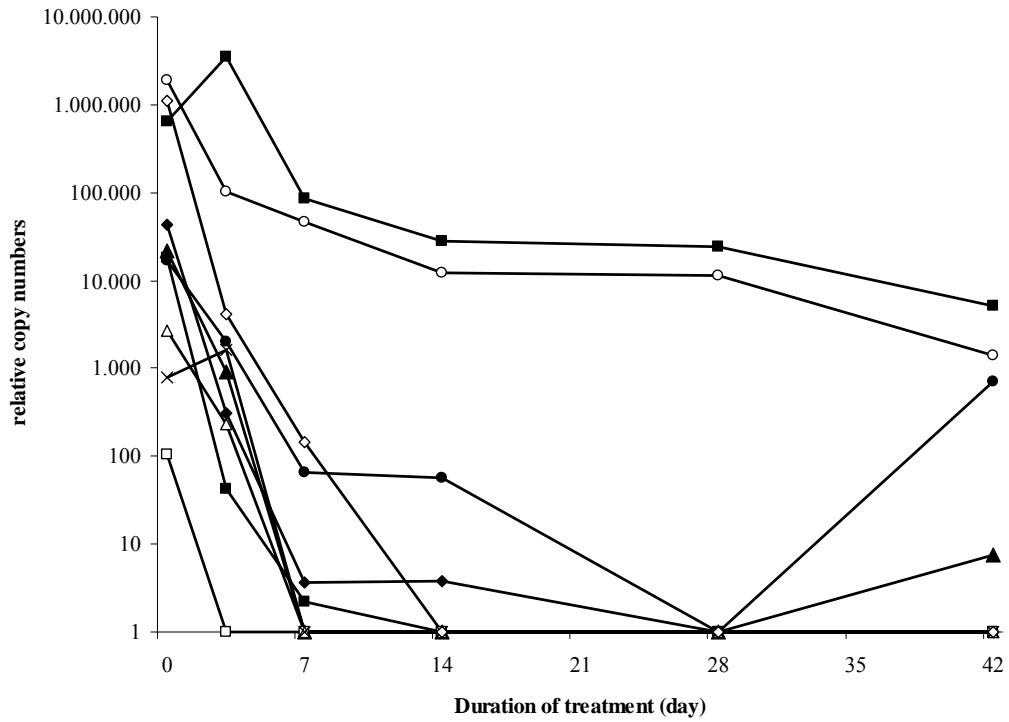


Fig 3: Effect of treatment with pradofloxacin for 42 days on relative copy numbers of *Chlamydia felis* (10 cats).

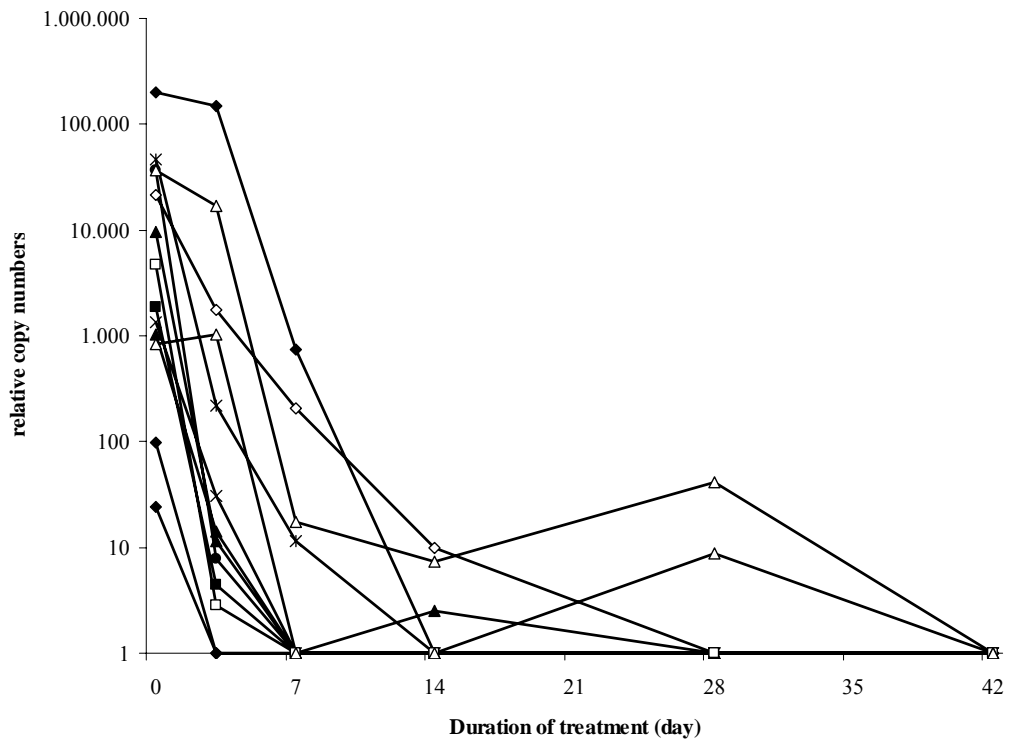


Fig 4: Effect of treatment with doxycycline for 42 days on relative copy numbers of *Chlamydia felis* (13 cats).

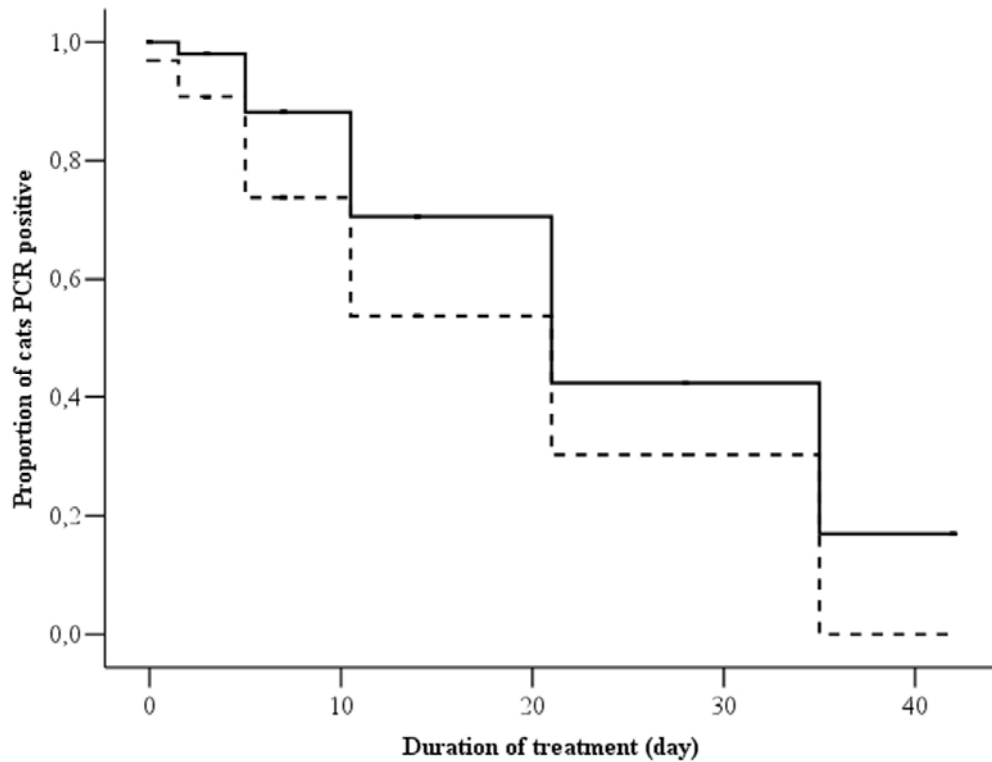


Fig 5. Efficacy of treatment in cats with *C. felis* infections using pradofloxacin and doxycycline (percentage of cats at each time point). solid line = pradofloxacin; dashed line = doxycycline

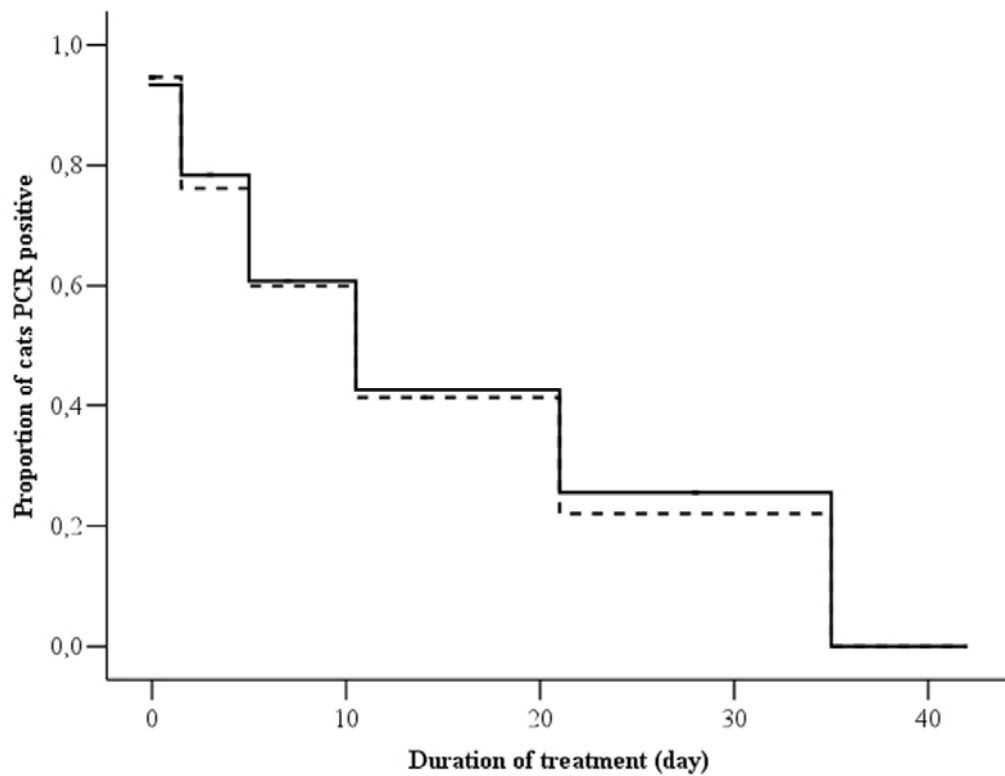


Fig 6: Efficacy of treatment in cats with *Mycoplasma* spp. infections using pradofloxacin and doxycycline (percentage of cats at each time point). solid line = pradofloxacin; dashed line = doxycycline

Footnotes

- ^a SNAP FIV Antibody/FeLV Antigen Combo Test; IDEXX Laboratories, Woerrstadt, Germany
- ^b Veraflox Oral Suspension 2.5 %; Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Germany
- ^c Vibravet; Pfizer, West Ryde, Australia
- ^d Plain dry swab in peel pouches 155C; Copan Italia S.P.A., Brescia, Italy
- ^e Nucleospin 96 blood kit; Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Dueren, Germany
- ^f Vortemp 56; Appleton Woods, Birmingham, UK
- ^g Invitrogen, DH Breda, The Netherlands
- ^h Qiagen, Crawley, UK
- ⁱ Bio-Rad Laboratories Ltd., Hempstead, UK
- ^j Biolase DNA Polymerase with 10X PCR Buffer; Bionline Inc., Boston, USA
- ^k SPSS 13.0.0.; SPSS Inc., Chicago, USA

References

1. Binns S, Dawson S. Feline infectious upper respiratory disease. In Pract 1995;17:458-461.
2. Bannasch MJ, Foley JE. Epidemiologic evaluation of multiple respiratory pathogens in cats in animal shelters. J Feline Med Surg 2005;7:109-119.
3. Helps CR, Lait P, Damhuis A, et al. Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydomphila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. Vet Rec 2005;156:669-673.
4. Zapirain Gastón J, Stengel C, Harbour D, et al. Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus and *Chlamydomphila felis* in multi-cat households. Kleintierpraxis 2005;49:689-698.
5. Leirisalo-Repo M. Are antibiotics of any use in reactive arthritis? APMIS 1993;101:575-581.
6. Tan RJS, Miles JAR. Incidence and significance of mycoplasmas in sick cats. Res Vet Sci 1974;16:27-34.
7. Haesebrouck F, Devriese LA, van Rijssen B, et al. Incidence and significance of isolation of *Mycoplasma felis* from conjunctival swabs of cats. Vet Microbiol 1991;26:95-101.

8. Low HC, Powell CC, Veir JK, et al. Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *Am J Vet Res* 2007;68:643-648.
9. Gerhardt N, Schulz BS, Werckenthin C, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its efficacy in comparison with doxycycline in the treatment of *Chlamydomphila felis* infection in cats with conjunctivitis. *Vet Rec* 2006;159:591-594.
10. Greene CE. Chlamydial infections. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc.; 2006:245-252.
11. Dean R, Harley R, Helps C, et al. Use of quantitative real-time PCR to monitor the response of *Chlamydomphila felis* infection to doxycycline treatment. *J Clin Microbiol* 2005;43:1858-1864.
12. Sykes JE, Studdert VP, Browning GF. Comparison of the polymerase chain reaction and culture for the detection of feline *Chlamydia psittaci* in untreated and doxycycline-treated experimentally infected cats. *J Vet Intern Med* 1999;13:146-152.
13. Sparkes AH, Caney SM, Sturgess CP, et al. The clinical efficacy of topical and systemic therapy for the treatment of feline ocular chlamydiosis. *J Feline Med Surg* 1999;1:31-35.
14. Majcherczyk J, Szymanska-Jachimczak EI. Discoloration of the teeth and bones in young animals caused by tetracycline. *Zahnarztl Prax* 1965;16:61-63.
15. German AJ, Cannon MJ, Dye C, et al. Oesophageal strictures in cats associated with doxycycline therapy. *J Feline Med Surg* 2005;7:33-41.
16. Greene CE, Watson ADJ. Antibacterial chemotherapy. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc.; 2006:274-301.
17. Gelatt KN, van der Woerd A, Ketring KL, et al. Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet Ophthalmol* 2001;4:99-106.
18. Loria GR, Sammartino C, Nicholas RA, et al. *In vitro* susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res Vet Sci* 2003;75:3-7.
19. Francoz D, Fortin M, Fecteau G, et al. Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method. *Vet Microbiol* 2005;105:57-64.
20. Wegener A, Laser H. Evaluation of the retinal drug safety profile of

pradofloxacin with Optical Coherence Tomography. Abstract: 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin 2006;28.

21. Zrenner E, Messias A, Gekeler F. Pradofloxacin: an electroretinographic study on retinal toxicity in cats. Abstract: 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin 2006;30-31.

22. De Jong A, Bleckmann I. Comparative activity of pradofloxacin against clinical canine and feline strains of Germany. Abstract: 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago 2003;223.

23. Hartmann K, Kuffer M. Karnofsky's score modified for cats. Eur J Med Res 1998;3:95-98.

24. Helps C, Reeves N, Egan K, et al. Detection of *Chlamydomydia felis* and feline herpesvirus by multiplex real-time PCR analysis. J Clin Microbiol 2003;41:2734-2736.

25. Takashi U, Kiyozo A, Ikunoshin D, et al. Amplification of the 16S-23S spacer region in rRNA operons of mycoplasmas by the polymerase chain reaction. Syst Appl Microbiol 1992;15:181-186.

26. Baird SC, Carman J, Dinsmore RP, et al. Detection and identification of *Mycoplasma* from bovine mastitis infections using a nested polymerase chain reaction. J Vet Diagn Invest 1999;11:432-435.

27. Nasisse MP, Guy JS, Stevens JB, et al. Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). J Am Vet Med Assoc 1993;203:834-837.

28. Sykes JE, Anderson GA, Studdert VP, et al. Prevalence of feline *Chlamydia psittaci* and feline herpesvirus-1 in cats with upper respiratory tract disease. J Vet Intern Med 1999;13:153-162.

29. Harbour DA, Howard PE, Gaskell RM. Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats (1980 to 1989). Vet Rec 1991;128:77-80.

30. Hargis AM, Prieur DJ, Gaillard ET. Chlamydial infection of the gastric mucosa in twelve cats. Vet Pathol 1983;20:170-178.

31. Dossin O, Gruet P, Thomas E. Comparative field evaluation of marbofloxacin tablets in the treatment of feline upper respiratory infections. J Small Anim Pract 1998;39:286-289.

32. Andrew SE. Ocular manifestations of feline herpesvirus. J Feline Med Surg 2001;3:9-16.

33. Daube G, Krebber R, Greife HA. Pharmacokinetic properties of pradofloxacin

administered as an oral suspension to cats. J Vet Pharm Ther 2006;29(Suppl.1):266-267.

34. Fraatz K. Serum pharmacokinetics of pradofloxacin after oral administration to cats. J Vet Pharm Ther 2006;29(Suppl.1):266.

35. Boothe DM. The accumulation of pradofloxacin in phagocytes. Abstract: 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin 2006;18.

36. Owen WM, Sturgess CP, Harbour DA, et al. Efficacy of azithromycin for the treatment of feline chlamydophilosis. J Feline Med Surg 2003;5:305-311.

37. Suchland RJ, Geisler WM, Stamm WE. Methodologies and cell lines used for antimicrobial susceptibility testing of *Chlamydia* spp. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:636-642.

38. Jones RB, Van der Pol B, Martin DH, et al. Partial characterization of *Chlamydia trachomatis* isolates resistant to multiple antibiotics. J Infect Dis 1990;162:1309-1315.

39. Lefevre JC, Lepargneur JP, Guion D, et al. Tetracycline-resistant *Chlamydia trachomatis* in Toulouse, France. Pathol Biol (Paris) 1997;45:376-378.

40. Somani J, Bhullar VB, Workowski KA, et al. Multiple drug-resistant *Chlamydia trachomatis* associated with clinical treatment failure. J Infect Dis 2000;181:1421-1427.

41. Dessus-Babus S, Bebear CM, Charron A, et al. Sequencing of gyrase and topoisomerase IV quinolone-resistance-determining regions of *Chlamydia trachomatis* and characterization of quinolone-resistant mutants obtained *in vitro*. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:2474-2481.

42. Morrissey I, Salman H, Bakker S, et al. Serial passage of *Chlamydia* spp. in sub-inhibitory fluoroquinolone concentrations. J Antimicrob Chemother 2002;49:757-761.

43. Kenny GE, Cartwright FD. Susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* to several new quinolones, tetracycline, and erythromycin. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:587-589.

44. Cooper AC, Fuller JR, Fuller MK, et al. *In vitro* activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance. Res Vet Sci 1993;54:329-334.

45. Kaufman AC, Greene CE. Increased alanine transaminase activity associated with tetracycline administration in a cat. J Am Vet Med Assoc 1993;202:628-630.

46. Bjellerup M, Ljunggren B. Double blind cross-over studies on phototoxicity

to three tetracycline derivatives in human volunteers. *Photodermatol* 1987;4:281-287.

VI. Diskussion

1. Erreger des Katzenschnupfenkomplexes

Die Prävalenz der mittels PCR ermittelten Erreger ähnelt denen aus anderen Studien. Bei Katzen mit Katzenschnupfen variiert die Prävalenz von FCV zwischen 33 % und 80 % und von FHV zwischen 11 % und 54 % (HARBOUR et al., 1991; NASISSE et al., 1993; BINNS & DAWSON, 1995; SYKES et al., 1999a; HELPS et al., 2005). In dieser Studie wurden bei 72 % der Katzen FCV und bei 28 % der Katzen FHV nachgewiesen. Die unterschiedliche Häufigkeit der beiden Erreger wird vermutlich durch das Ausscheidungsverhalten bestimmt. FCV ist durch seine kontinuierliche Ausscheidung einfacher zu finden als FHV, das intermittierend ausgeschieden wird (GASKELL et al., 2004).

In diesen Studien lag die Prävalenz von *C. felis* ähnlich hoch wie in Japan und der Schweiz (CAI et al., 2002; VON BOMHARD et al., 2003). Andere Untersuchungen identifizierten *C. felis* mittels PCR bei 0 bis 27 % der an Katzenschnupfen erkrankten Katzen (SYKES et al., 1997; MCDONALD et al., 1998; SYKES et al., 1999a; MOCHIZUKI et al., 2000; SYKES et al., 2001; RAMPAZZO et al., 2003; HELPS et al., 2005; VOLOPICH et al., 2005; LOW et al., 2007). Da in diesen Studien vor allem Katzen mit Konjunktivitis aufgenommen wurden, könnte dies eine gewisse Selektion bewirkt haben. Allerdings wurde in einer kürzlich veröffentlichten Studie von Low und Mitarbeitern (2007) eine Prävalenz von 7 % unter Katzen mit Konjunktivitis nachgewiesen, so dass das Einschlusskriterium eine eher untergeordnete Rolle spielt (LOW et al., 2007). Einige der Katzen kamen aus dem gleichen Mehrkatzenhaushalt oder vom gleichen Bauernhof. Eine höhere Infektionsrate, die bei engem Kontakt zwischen Katzen zu erwarten ist, hat möglicherweise zu der erhöhten Prävalenz in diesen Studien beigetragen.

Mykoplasmen wurden bei klinisch gesunden Katzen und bei Katzen mit Katzenschnupfen nachgewiesen (HEYWARD et al., 1969; BLACKMORE et al., 1971; TAN & MILES, 1972; TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a; SHEWEN et al., 1980b; HAESEBROUCK et al., 1991; HAESEBROUCK et al., 1991). In einer Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass sie häufiger bei Katzen mit Konjunktivitis im Vergleich zu klinisch gesunden Katzen vorkommen (LOW

et al., 2007). Die Prävalenz liegt bei Katzen mit Konjunktivitis zwischen 0 % und 25 % (HAESEBROUCK et al., 1991; NASISSE et al., 1993). Enger Kontakt zwischen Katzen, wie bei *C. felis*, könnte zu der hohen Prävalenz in diesen Studien beigetragen haben. Da es sich um die erste Prävalenzstudie in Deutschland handelt, könnte eine unterschiedliche geografische Verteilung des Erregers innerhalb der Katzenpopulation eine Rolle spielen.

Mit dem Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) Programm des National Institutes of Health können Ähnlichkeiten zwischen Nukleotid- oder Proteinsequenzen durch Vergleich identifiziert und die statistische Signifikanz der Paare berechnet werden (ALTSCHUL et al., 1990). Mit dieser Methode war die Identifizierung von sechs verschiedenen Mykoplasmenarten (*M. felis*, *Mycoplasma canadense*, *Mycoplasma cynos*, *M. gateae*, *Mycoplasma lipophilum*, *Mycoplasma hyopharyngis*) möglich. Allerdings konnte eine genaue Differenzierung nicht in jedem Fall gemacht werden; Gensequenzen von drei Tupferproben ergaben eine Ähnlichkeit zu zwei verschiedenen Mykoplasmenarten. Für die entsprechenden Spezies (*M. gateae* und *Mycoplasma canadense* aus dem *Mycoplasma-hominis*-Cluster; *Mycoplasma lipophilum* und *Mycoplasma hyopharyngis* aus dem *Mycoplasma-lipophilum*-Cluster) wurde in anderen Studien bereits eine enge phylogentische Verwandtschaft anhand der 16S rRNA bewiesen (WEISBURG et al., 1989; BROWN et al., 1995; BLANK et al., 1996; PETTERSSON et al., 1996; PETTERSSON et al., 2001). Obwohl das Programm eine Reihe an verschiedenen Suchoptionen zur Verbesserung der Genauigkeit anbietet, ist eine Identifizierung der exakten Spezies durch die enge Verwandtschaft und der damit verbundenen enormen Übereinstimmung der Gensequenzen beschränkt.

M. felis werden am häufigsten bei Katzen mit Konjunktivitis isoliert, wenn eine Speziesdifferenzierung der in der Kultur gezüchteten Mykoplasmen durchgeführt wird (CAMPBELL et al., 1973b; TAN & MILES, 1974a; SHEWEN et al., 1980b; HAESEBROUCK et al., 1991). Andere feline Mykoplasmen, wie *M. gateae* und *M. arginini*, sind vor allem in Tupferproben von gesunden Katzen und weniger bei Katzen mit Konjunktivitis nachweisbar (HEYWARD et al., 1969; TAN & MILES, 1974a; TAN et al., 1977a). Vier der in dieser Studie identifizierten Mykoplasmenarten sind bisher weder bei der Katze aufgetreten noch als Pathogen der Konjunktiven bei anderen Tierarten beschrieben. *Mycoplasma canadense* wurde als bovine Mykoplasmenart klassifiziert und führte in Milchkühen und

kleinen Wiederkäuern zur Mastitis (LANGFORD et al., 1976; GOURLAY et al., 1978; JACKSON et al., 1981; BALL & MACKIE, 1986; BALL, 1990; MACKIE et al., 2000). Die gleiche Mykoplasmenart konnte von Färsen mit granulomatöser Vulvitis, von abortierten Föten und aus dem Ejakulat von Bullen isoliert werden (RAE, 1982; BOUGHTON et al., 1983; FRIIS & BLOM, 1983; GILBERT & OETTLE, 1990). Experimentelle intratracheale oder intrauterine Infektionen mit *Mycoplasma canadense* hatten keine Läsionen im Respirationstrakt oder im Urogenitaltrakt zur Folge (GOURLAY et al., 1979; BALL & MACKIE, 1986). Asymptomatische *Mycoplasma-canadense*-Infektionen sind ebenfalls beschrieben worden (JACKSON et al., 1981). *Mycoplasma hyopharyngis* wurde von den Schleimhäuten des Respirationstraktes von asymptomatischen Schweinen isoliert (ERICKSON et al., 1986; FRIIS et al., 2003). Ein Stamm, der eine 98-%ige Übereinstimmung mit *Mycoplasma hyopharyngis* aufwies, wurde bei Rindern mit digitaler Dermatitis gefunden (COLLIGHAN & WOODWARD, 1997). Der untere Respirationstrakt von Hunden wird mit *Mycoplasma cynos* besiedelt und geht mit degenerativen Veränderungen des Bronchialepithels einher (ROSENDAL, 1973; ROSENDAL & VINTHER, 1977; CHALKER et al., 2004a). Obwohl diese Arten aus dem oberen Respirationstrakt von Rindern, Schweinen und Hunden isoliert wurden, sollten diese Ergebnisse als zufällige Resultate eingestuft werden, da nur mittels experimenteller Studien die eigentliche Pathogenität bei Katzen und deren Rolle im Katzenschnupfenkomplex oder bei Konjunktivitis geklärt werden kann.

Das bakterielle Keimspektrum der Konjunktiven in dieser Studie ähnelt dem der Nase und des Rachens, das mittels Tupferproben von Katzen mit Katzenschnupfen ermittelt wurde (SCHULZ et al., 2006; ADLER et al., 2007; VEIR et al., 2007). Die Reinigung der Augen durch die Katzen selbst führt zur Verteilung der Erreger in Gesicht und können daher auch in der Umgebung der Augen, z. B. den Konjunktiven, nachgewiesen werden. Obwohl aerobe Bakterien als Sekundärflora gelten, wurden bei vier Katzen *Streptococcus canis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., oder *Klebsiella ozeanae* als einzige Pathogene nachgewiesen. Es ist bekannt, dass diese bakteriellen Spezies zu respiratorischen Symptomen führen können, allerdings kann die Frage über ihre Beteiligung als primäre Erreger am Katzenschnupfenkomplex ohne weitere experimentelle Studien nicht beantwortet werden. Außerdem wurden diese Bakterien auch bei klinisch gesunden Katzen als Teil der normalen Schleimhautflora des oberen

Respirationstraktes nachgewiesen (COX, 2006; GREENE & PRESCOTT, 2006; KRUTH, 2006).

Die bakterielle Flora der Konjunktiven von Katzen mit Konjunktivitis wurde von Nasisse und Mitarbeitern (1993) durch die Entnahme von Konjunktivaltupferproben von 38 Katzen untersucht. Bei 34 % der Proben war eine Anzucht möglich. Das Spektrum bestand aus Staphylokokken, Streptokokken, *Propionobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. und *Pasteurella multocida*. Dabei wurden acht der neun *Staphylococcus* spp. als nicht pathogenetisch eingestuft (NASISSE et al., 1993). In Studien, in denen die Prävalenz von aeroben Bakterien bei klinisch gesunden Katzen untersucht wurde, war eine Kultur aus Konjunktivaltupferproben in 33, 58 und 67 % der Katzen möglich (CAMPBELL et al., 1973a; GERDING et al., 1993; ESPINOLA & LILENBAUM, 1996). Überraschenderweise liegt die Prävalenz bei gesunden Katzen höher als bei Katzen mit Konjunktivitis. Eigentlich wäre aufgrund der zugrunde liegenden Entzündung und der darauf folgenden sekundären Besiedlung eine höheren Anzahl an positiven Kulturen zu erwarten. Lokale Abwehrmechanismen werden für die geringe Prävalenz unter Katzen mit Konjunktivitis verantwortlich gemacht (CAMPBELL et al., 1973a).

2. Wirksamkeit der Medikamente

Fluorochinolone, wie Enrofloxacin und Marbofloxacin, zeichnen sich durch eine gute Wirksamkeit bei Katzenschnupfen aus und werden aufgrund dessen häufig zur Therapie verwendet (DOSSIN et al., 1998; GERHARDT et al., 2006). Kürzlich wurde die antimikrobielle Aktivität von Pradofloxacin gegen Bakterien des Respirationstraktes erkrankter Katzen untersucht. Der Wirkstoff zeigte im Vergleich zu Amoxicillin/Clavulansäure eine deutlich bessere Wirkung (STEPHAN et al., 2005). In der hier vorgestellten Studie wurde sowohl mit Pradofloxacin als auch mit Doxycyclin eine Verbesserung der klinischen Symptome innerhalb der ersten Behandlungswoche erreicht. An keinem Untersuchungstag lag ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen vor; beide Medikamente wiesen eine vergleichbare Wirkung auf. Der Behandlungserfolg wurde wahrscheinlich durch die Elimination von *C. felis* und der Mykoplasmen erzielt. Bei Katzen, die nur mit Viren infiziert waren, wurde der

Therapieerfolg eher durch die Behandlung der Sekundärerreger, wie z. B. Staphylokokken und Streptokokken, erreicht.

Eine vollständige Heilung der klinischen Symptome war nicht bei allen Katzen möglich. Bei einigen Katzen führte die Koinfektion mit FHV zu persistierenden Symptomen, obwohl die anderen Erreger abgetötet wurden. Bei vier anderen Katzen führte die Behandlung mit Pradofloxacin zu keiner Elimination von *C. felis*. Klinische Symptome waren immer noch bei drei der vier Katzen am Tag 42 vorhanden. Irreversible Veränderungen, z. B. chronische Rhinitis, Verlegung des Tränen-Nasen-Kanals, Synblepharon und Verklebung der Konjunktiva mit sich selbst oder der Kornea, entwickeln sich häufig bei chronischen Infektionen (ANDREW, 2001; STILES, 2006). Diese Veränderungen können durch antimikrobielle Therapie nicht beeinflusst werden.

Innerhalb der ersten vier Therapiewochen führte Pradofloxacin bei acht der zehn mit *C. felis*-infizierten Katzen zu einer Erregerelimination, allerdings wurde am Ende der Studie (nach 42 Tagen) wieder ein positives PCR-Ergebnis bei vier Katzen nachgewiesen. Durchschnittlich war eine Behandlungsdauer von 29 Tagen zur Erregerelimination notwendig. Zwei Katzen sprachen auf die Behandlung nicht an und zeigten konstant hohe „relative copy numbers“ (RCN) über den ganzen Therapiezeitraum. Die beiden anderen Katzen, bei denen am Ende der Studie *C. felis* nachweisbar waren, hatten am Tag 28 ein negatives PCR-Ergebnis. Der Anstieg der RCN korrelierte mit dem Auftreten von klinischen Symptomen.

Doxycyclin zeigte in anderen Studien eine sehr gute Wirksamkeit zur Behandlung von *C. felis*-Infektionen (STURGESS et al., 2001; SPARKES et al., 1999, SYKES et al., 1999b; OWEN et al., 2003; DEAN et al., 2005). In einer der Studien war die *C. felis*-PCR bei allen Katzen sechs Tage nach Therapiebeginn negativ. Aufgrund dessen wurde eine 21-tägige Therapie zur Erregerelimination empfohlen (SYKES et al., 1999b). In einer anderen Studie, in der Katzen über 21 Tage behandelt wurden, kam es 25 bis 36 Tage nach Therapieende bei einigen Tieren zu einem Rückfall mit klinischen Symptomen trotz negativer PCR am Tag 21 (DEAN et al., 2005). Die Autoren schlussfolgerten, dass Doxycyclin zur Erregerelimination mindestens über einen Zeitraum von 28 Tagen verabreicht werden sollte. In dieser Studie waren bei zwei mit Doxycyclin behandelten Katzen auch am Tag 28 noch *C. felis* mittels PCR nachweisbar. Am Tag 42 war *C. felis* nicht mehr vorhanden. Durchschnittlich war die PCR nach 23 Tagen

negativ. Anhand der Daten dieser Studie sollte eine sechswöchige Behandlung mit Doxycyclin zur Erregerelimination durchgeführt werden.

In *in-vitro*-Versuchen waren verschiedene Fluorochinolone und Tetracycline gegen Mykoplasmen wirksam (KENNY & CARTWRIGHT, 1991; COOPER et al., 1993). In der hier vorgestellten *in-vivo*-Studie wurde eine Erregerelimination mit negativer PCR bei allen Katzen sowohl mit Pradofloxacin als auch mit Doxycyclin erreicht. Die durchschnittliche Behandlungsdauer beträgt für Pradofloxacin 20 Tage und für Doxycyclin 19 Tage. Dennoch wird eine Behandlungsdauer von 42 Tagen empfohlen, da bei drei der insgesamt 20 PCR-positiven Katzen am Tag 28 immer noch Mykoplasmen nachweisbar waren.

Um eine gute Wirksamkeit gegen *C. felis* zu erreichen, müssen eine Empfindlichkeit des Erregers und seitens des Wirkstoffs eine ausreichend hohe Serumkonzentration über einen längeren Zeitraum sowie eine intrazelluläre Akkumulation vorliegen. Die negativen PCR-Ergebnisse nach Therapie beweisen, dass eine Empfindlichkeit seitens des Erregers (*C. felis*) vorliegt. *In-vitro*-Studien zur Bestimmung der MHK von Doxycyclin gegen *C. felis* liegen bislang nicht vor, für andere *Chlamydophila* spp. wurden MHK-Werte zwischen 0,05 und 0,2 µg/ml ermittelt (BUTAYE et al., 1997; SIEWERT et al., 2005).

Seit der Markteinführung von Doxycyclin wurden einige pharmakokinetische Daten zur der Anreicherung in Geweben (Lunge, Gehirn, Leber, Niere, Magen, Darm) erhoben (SCHACH VON WITTENAU & TWOMEY, 1971; BARZA et al., 1975; MICHEL et al., 1984). Eine Untersuchung über die Konzentration von Doxycyclin in Konjunktivalzellen wurde bisher nicht durchgeführt und bleibt daher auch weiterhin unklar.

Eine Sekretion von Doxycyclin in Körperflüssigkeiten, wie Zerebrospinalflüssigkeit, Auge, Speichel und Galle, wurde durch pharmakokinetischen Studien bei Menschen, Ratten und Hunden gezeigt (SCHACH VON WITTENAU & TWOMEY, 1971; MACCULLOCH et al., 1974; BARZA et al., 1975; MICHEL et al., 1984). In dieser Studie war die Sekretion in Speichel und Tränenflüssigkeit unzureichend und lag nur an wenigen Zeitpunkten oberhalb der Nachweisgrenze. Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Studie zur Sekretion von Doxycyclin in Speichel und Tränenflüssigkeit beim Menschen erzielt.

Die niedrigen Konzentrationen von Doxycyclin in Tränen- und Speichelflüssigkeit könnten dadurch erklärt werden, dass Doxycyclin nicht über

die selben aktiven Transportmechanismen sezerniert wird, wie sie z. B. für Fluorochinolone beschrieben wurden, oder dass andere Wege, wie Diffusion, eine größere Bedeutung bei der Verbreitung von Tetracyclinen spielen. Dennoch wurden auch für Tetracycline aktive Transportsysteme beschrieben, wie die „human organic anion“-Transporter (hOATs). Sie werden vor allem in Leber- und Nierenzellen exprimiert und sind z. B. in proximalen Tubulus der Niere für die Exkretion und Reabsorption von Wirkstoffen verantwortlich (BABU et al., 2002; KOBAYASHI et al., 2005). Möglicherweise werden keine Tetracyclin-spezifischen Transporter in Zellen des oberen Respirationstraktes ausgebildet.

Die Diffusion von Antibiotika durch Kapillärwände hängt von der Lipophilität und dem Grad der Proteinbindung ab. Fettlösliche Substrate können zusätzlich über den transzellulären Weg Kompartimente wechseln (RYAN, 1993). Eine Studie bewies die Penetration von fettlöslichen Substraten in Speicheldrüsen (MANN et al., 1979). Obwohl eine gute Verbreitung von Doxycyclin aufgrund der verbesserten Fettlöslichkeit im Vergleich zu anderen Tetracyclinen erwartet wird, findet keine Sekretion in Speichel- und Tränenflüssigkeit statt (BARZA et al., 1975). Möglicherweise war die Konzentrationsdifferenz zwischen beiden Kompartimenten nicht hoch genug, um eine passive Diffusion zuzulassen. Darüber hinaus liegt Doxycyclin bei Katzen im Plasma überwiegend Protein-gebunden vor, was wiederum die Verbreitung in interstitielle Flüssigkeiten beeinträchtigen kann (RIOND & RIVIERE, 1989; BIDGOOD & PAPICH, 2003). Das betrifft alle Flüssigkeiten mit einem niedrigen Proteingehalt, wie Speichel und Tränenflüssigkeit. Dennoch penetriert Doxycyclin in Gewebezellen und erreicht hohe intrazelluläre Konzentrationen (GABLER, 1991). Die Vermutung, dass Doxycyclin auch in Konjunktivalzellen hohe Konzentrationen erreicht, würde die Effektivität bei der Behandlung von *C.-felis*-Infektionen erklären.

Neuere pharmakokinetische Studien konnten zeigen, dass Tetracycline eine sogenannte „zeitabhängige Tötungskinetik“ besitzen, d. h., die Wirksamkeit ist abhängig von der Einwirkungsdauer einer geeignet hohen Wirkstoffkonzentration auf die Erreger (CUNHA et al., 2000; SIEWERT et al., 2005). Die in der Pharmakokinetikstudie erhobenen Daten zu Doxycyclin lassen auf eine ausreichende Wirksamkeit gegen *C.-felis*-Infektionen schließen, wenn Doxycyclin in einer Dosierung von 5 mg/kg alle zwölf Stunden verabreicht wird.

Innerhalb der ersten vier Therapiewochen führte Pradofloxacin bei acht der zehn mit *C.-felis*-infizierten Katzen zu einem negativen Ergebnis in der PCR.

Durchschnittlich war eine Behandlungsdauer von 14 Tagen zur Erregerelimination notwendig. Zwei Katzen sprachen auf die Behandlung nicht an und schieden über den gesamten Behandlungszeitraum *C. felis* aus. Mögliche Erklärungen für das Therapieversagen sind verminderte Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt (Anwesenheit von Futter, gastrointestinale Symptome), schlechte Verteilung im Körper, mangelnde Compliance der Besitzer oder Resistenzen.

Daten über die pharmakokinetischen Eigenschaften des verabreichten Pradofloxacin (Veraflox[®] Oral Suspension) bei Katzen wurden publiziert (DAUBE et al., 2006; FRAATZ & DAUBE, 2006). Pradofloxacin zeichnet sich durch eine schnelle Resorption, hohe Serumkonzentrationen und einer guten Bioverfügbarkeit aus. Gastrointestinale Probleme, wie Erbrechen und Durchfall, wurden nicht beobachtet (DAUBE et al., 2006; FRAATZ & DAUBE, 2006). In dieser Studie traten bei einzelnen Katzen Erbrechen und Durchfall auf. Es ist allerdings eher unwahrscheinlich, dass diese Probleme für das Therapieversagen verantwortlich waren, da die Symptome nur gelegentlich auftraten und in der mit Doxycyclin-Gruppe ebenfalls zu beobachten waren. Die Serumkonzentration von Fluorochinolonen kann durch Futteraufnahme beeinträchtigt werden (KÜNG & WANNER, 1993). Gerade bei diesen beiden Tieren ist der Einfluss der Fütterung von untergeordneter Bedeutung, da das Medikament nie an nüchterne Katzen verabreicht wurde. Von daher können Verluste des Medikamentes, ebenso wie eine verminderte Verteilung in Gewebe und Körperflüssigkeiten als Grund für das Therapieversagen, ausgeschlossen werden.

Im Gegensatz zu Doxycyclin haben Fluorochinolone eine sogenannte „konzentrationsabhängige Tötungskinetik“, d. h., die beste Wirkung wird erreicht, wenn eine möglichst hohe Wirkstoffkonzentration auf den Erreger einwirkt (CRAIG, 1998; MCKELLAR et al., 2004). Gerade in Speichel und Tränenflüssigkeit erreichte Pradofloxacin sehr hohe Konzentrationen, so dass eine gute Wirksamkeit bei *C.-felis*-Infektionen zu erwarten wäre. Eine Reihe an allgemeinen Eigenschaften des Substrates (Lipophilie, Molekulargewicht, Proteinbindung) und der Körperflüssigkeiten (pH-Wert, Flussgeschwindigkeit) sollen für die Sekretion in Speichel und Tränenflüssigkeit verantwortlich sein (SORGEL et al., 1989; JUSKO & MILSAP, 1993; JAEHDE et al., 1995; LI et al., 2002). In der Pharmakokinetikstudie konnte jedoch gezeigt werden, dass Spitzenkonzentrationen von Pradofloxacin innerhalb der ersten Stunde nach oraler

Verabreichung in Speichel und Tränenflüssigkeit erreicht werden. Dies lässt eher auf das Vorhandensein von aktiven Transportmechanismen schließen. Das wurde z. B. für die Sekretion von Ciprofloxacin durch humane Darmzellen (Caco-2-Zellen) in *in-vitro*-Studien gezeigt (GRIFFITHS et al., 1993; GRIFFITHS et al., 1994; CAVET et al., 1997). Kürzlich publizierte Studien bewiesen, dass Fluorochinolone Substrate für Transporter der so genannten „ATP-binding cassette“-Gruppe sind (YAMAGUCHI et al., 2000; LOWES & SIMMONS, 2002; SASABE et al., 2004; SCHRICKX & FINK-GREMMELS, 2007). Möglich wäre, dass bei an Katzenschnupfen erkrankten Katzen die Konzentration von Pradofloxacin in der Tränenflüssigkeit und im Speichel vermindert ist. Ob Entzündungen der Konjunktiven oder des Respirationstraktes die Sekretion beeinflussen, wurde in der klinischen Studie nicht überprüft und bleibt deshalb unklar.

Zur Therapie von *C. felis*-Infektionen sind ausreichend hohe intrazelluläre Konzentration der Wirkstoffe notwendig (VAN BAMBEKE & TULKENS, 2001). Von Fluorochinolonen ist bekannt, dass zwei- bis achtfach höhere Konzentrationen in Zellen im Vergleich zum Serum erreichen werden können. Die Wirkstoffe sind hauptsächlich im Zytoplasma lokalisiert (SCHENTAG, 1989; BARZA, 1994). Die intrazelluläre Akkumulation in neutrophilen Granulozyten wurde für Pradofloxacin nachgewiesen (BOOTHE, 2006). Im Moment liegen keine Daten über die intrazelluläre Konzentration von Pradofloxacin in Gewebezellen vor. Es ist gut möglich, dass Pradofloxacin im Vergleich zu Doxycyclin eine wesentlich geringere intrazelluläre Konzentration erreicht. Darüber hinaus ist die Wirksamkeit der Antibiotika von verschiedenen weiteren Faktoren abhängig, wie 1) der Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber dem Wirkstoff, die durch das Replikationsverhalten beeinflusst wird, 2) der Lokalisation des Erregers innerhalb der Zelle (z. B. Zytoplasma, Phagosom, Phagolysosom) und der Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs an diesen Orten und 3) der antimikrobiellen Wirkung, die durch den lokalen pH-Wert mit bestimmt wird (BARZA, 1994, VAN BAMBEKE & TULKENS, 2001; TOUTAIN et al., 2002). Da Fluorochinolone hauptsächlich im Zytoplasma akkumulieren und Chlamydien sich in Phagosomen vermehren, sind auch hohe intrazelluläre Konzentrationen zur effektiven Wirkung nicht unbedingt ausreichend. Zur Zeit liegen keine Daten vor, in wiefern Pradofloxacin in Gewebezellen penetriert. Ist daher möglich, dass das Therapieversagen bei den beiden mit Pradofloxacin behandelten Katzen auf zu

geringe Wirkstoffkonzentrationen in Konjunktivalzellen zurückgeführt werden kann.

Wichtige Ursachen für eine nicht ausreichende Wirkung von antimikrobiellen Wirkstoffen sind mangelnde Compliance der Besitzer oder eine falsche oder vernachlässigte Medikamenteneingabe (SYKES et al., 1999b; OWEN et al., 2003). Beide Katzen mit persistierender *C. felis*-Infektion wurden bis zum Ende der Studie stationär behandelt. Die Therapie war Bestandteil der täglichen Routine und alle in der Studie involvierten Mitarbeiter wurde über die korrekte Handhabung der Medikamente und der Applikation geschult. Es kann in diesem Fall also von einer korrekten Administration der Medikamente ausgegangen werden.

Die Entwicklung von Resistenzen sind bei Chlamydien bekannt, allerdings wurden nur wenige Studien diesbezüglich durchgeführt. Zu dem Erreger *C. felis* liegen keine Informationen vor. Die Resistenztestung von antimikrobiellen Wirkstoffen gegen *Chlamydomphila* spp. ist schwierig und wird deshalb nicht routinemäßig durchgeführt. Das bei kultureller Anzucht ermittelte Antibiogramm erwies sich zudem als nicht verlässlich. Das Ergebnis war abhängig von der verwendeten Zellkultur, der Zeit zwischen Infektion und Zugabe der Antibiotika, der Erregerkonzentration und der gewählten Passagemethode (SUCHLAND et al., 2003). Außerdem liegt eine schlechte Korrelation zwischen den *in vitro* gewonnenen Erkenntnissen und dem klinischen Erscheinungsbild vor. Einige Fallberichte über Therapieversagen durch resistente *Chlamydia trachomatis*-Stämme wurden publiziert (JONES et al., 1990; LEFEVRE et al., 1997; LEFEVRE & LEPARGNEUR, 1998; SOMANI et al., 2000). Demnach können Resistenzen bei *Chlamydia trachomatis* durch Mutation der DNA-Gyrase oder durch Serienpassagen in der Zellkultur hervorgerufen werden (DESSUS-BABUS et al., 1998; MORRISSEY et al., 2002). Bei *Chlamydomphila pneumoniae* entwickelten sich auf diesem Weg aber keine Resistenzen, was zu der Annahme führt, dass die Wirksamkeit der antimikrobiellen Wirkstoffen von der metabolischen Aktivität der Zielbakterien abhängig ist (MORRISSEY et al., 2002). Es existieren keine Publikationen über die Entwicklung von Resistenzen bei *C. felis* und kann daher als Ursache für das Therapieversagen nicht ausgeschlossen werden.

3. Vergleich PCR und IFT

Der IFT ist eine gängige Methode zum Chlamydiennachweis. Das Untersuchungsmaterial wird dabei entweder direkt auf den Objektträger aufgetragen oder vor dem eigentlichen Nachweis in der Zellkultur angezüchtet (WILLS et al., 1984; NASISSE et al., 1993). Der kommerziell erhältliche Test dieser Studie, der zum Nachweis der humanen Spezies *Chlamydia trachomatis*, *Chlamyphila psittaci* und *Chlamyphila pneumoniae* empfohlen wird, wurde bei Menschen, Katzen und Ratten eingesetzt (VANROMPAY et al., 1994; MIYASHITA et al., 1996; GERHARDT et al., 2006). In dieser Studie konnte bei einem großen Teil der Proben nur eine sehr geringe Zellzahl gewonnen werden, so dass von den insgesamt 41 Tupferproben nur 23 Objektträger auswertbar waren. Es kann möglicherweise daran gelegen haben, dass nur eine sehr kleine Fläche im Vergleich zu Menschen zur Probenentnahme zur Verfügung stand. Vielleicht wurde auch nur eine geringe Anzahl an Zellen zur Zeit der Probenentnahme abgeschilfert, obwohl aufgrund der vorliegenden Entzündung ein höherer Umsatz mit Regeneration der Schleimhautzellen zu erwarten wäre. Da die Proben mit einem Wattetupfer genommen wurden, könnte auch sein, dass zwar eine genügende Anzahl zwar gewonnen wurde, diese aber aufgrund des Materials nicht auf den Objektträger übertragen wurden. Dies scheint eher unwahrscheinlich zu sein, da in einer anderen Studie das gleiche Material verwendet wurde und diese Probleme nicht berichtet wurden (GERHARDT et al., 2006). Eine andere Studie konnte zeigen, dass eine zweite Tupferprobe der gleichen Probenstelle im Urogenitaltrakt zu einem höheren Prozentsatz an positiven Proben geführt hat. Von daher wurde von den Autoren empfohlen, den ersten Tupfer zur Reinigung zu verwenden und mit dem zweiten Tupfer die Probe zu entnehmen (WOOD & TIMMS, 1992). In dieser Studie wurden die Augen und Augenlider mit einem feuchten Wattebausch von den vorhandenen Sekreten gereinigt und selbst wiederholte Probenentnahmen resultierten nicht in einem besseren Ergebnis.

IFT- und PCR-Ergebnisse zeigten eine geringe Übereinstimmung. Die Sensitivität lag nur bei 50 % und die Spezifität nur bei 63 %. Um ein positives Ergebnis mittels IFT zu erzielen, muss eine hohe Anzahl an Elementarkörperchen (EK) vorhanden sein. In einer experimentellen Studie konnte gezeigt werden, dass eine gute Fluoreszenz in den Proben vorlag, wenn eine hohe Anzahl an EK vorhanden war (10^5 bis 10^7 EK/ml), und dass die Fluoreszenz wesentlich geringer war in den

Proben, die eine geringere Menge an EK (10^0 bis 10^4 EK/ml) enthielten (WOOD & TIMMS, 1992). Die Katzen dieser Studie hatten zum überwiegenden Teil eine chronische Konjunktivitis, so dass zwar eine Ausscheidung an Erregern vorhanden war, diese allerdings für eine korrekte Identifikation zu gering gewesen ist. Um in solchen Fällen, mit einer geringen Ausscheidung an EK, ein positives Ergebnis zu erhalten, ist die PCR besser geeignet (HELPS et al., 2001). Falsch positive Ergebnisse im IFT können durch die Missinterpretation von gefärbten kontaminierten Partikeln entstehen, die den Chlamydien sehr ähnlich sehen. Mit ausgebildeten und erfahrenden Untersuchern lässt sich die Wahrscheinlichkeit von falsch positiven Ergebnissen minimieren oder sogar ausschließen. Falsch negative PCR-Ergebnisse sind eher unwahrscheinlich, da diese Methode speziell zum Nachweis von kleinsten Erregermengen geeignet ist (HELPS et al., 2001).

4. Nebenwirkungen der Medikamente

Gastrointestinale Nebenwirkungen (Durchfall, Erbrechen) treten bei der Applikation von vielen antimikrobiellen Wirkstoffe auf und konnten in beiden Behandlungsgruppen beobachtet werden. Als Ursachen werden Veränderung der natürlichen intestinalen Flora und Irritation der Darmschleimhaut angenommen (FRAATZ & DAUBE, 2006; GREENE & WATSON, 2006).

Bei den mit Doxycyclin behandelten Katzen stieg der Mittelwert von ALT über den sechswöchigen Behandlungszeitraum kontinuierlich an. Dies könnte als eine beginnende Hepatopathie interpretiert werden, da eine Erhöhung der Leberenzyme ALT und alkalischer Phosphatase bei Doxycyclin-induzierter Hepatopathie erwartet wird (GREENE et al., 2006). Die mehrfache Erhöhung der Leberenzyme über den Referenzbereich wurde bei einer mit Tetracyclin behandelten Katze beschrieben (KAUFMAN & GREENE, 1993).

Eine mit Doxycyclin behandelte Katze entwickelte eine Pododermatitis an allen vier Pfoten. Eine Phototoxizität ist bei einigen Tetracyclinen bekannt. Die Exposition zu UV-Licht hat die Ausbildung von Erythemen und Ödemen zur Folge (GREENE & WATSON, 2006). Unklar bleibt, ob die Pododermatitis mit der Medikation im Zusammenhang steht.

Die für viele Fluoroquinolone, unter anderem auch für Enrofloxacin, beschriebene Retinadegeneration konnte nicht beobachtet werden (GIULIANO & VAN DER

WOERDT, 1999; GELATT et al., 2001). Keine der Katzen fiel, trotz Langzeitbehandlung, mit Sehstörungen oder Blindheit auf. Bei zwei toxikologischen Studien, in denen zehn Katzen mit 30 mg/kg und 14 Katzen mit 50 mg/kg Pradofloxacin über 23 Tage behandelt wurden, konnten keine anatomischen oder funktionellen Veränderungen hervorgerufen werden (WEGENER & LASER, 2006; ZRENNER et al., 2006). Demnach ist nicht mit dem Auftreten von degenerativer Retinadegeneration zu rechnen.

5. Schlussfolgerungen

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *C. felis* und Mykoplasmen bei einem hohen Prozentsatz an Katzen mit Katzenschnupfen oder Konjunktivitis vorhanden sind. Beide Bakterienarten spielen demnach eine größere Rolle bei Katzenschnupfen als bisher angenommen und sollten deshalb entsprechend bei der Wahl der Antibiotika beachtet werden. Die vier Mykoplasmenarten sind als Zufallsbefund zu bewerten. Die Bedeutung der Pathogene ist unklar, da in diesen Studien nicht die Pathogenität bei Katzen untersucht wurde. Bezüglich der Behandlung beider Spezies wurde eine sehr gute Wirksamkeit von Pradofloxacin bei Mykoplasmen und eine mäßige Wirkung gegen *C. felis* festgestellt. Reinfektion oder das Vorhandensein von Resistenzen sind mögliche Ursachen für die unzureichende Wirkung gegen *C. felis*. Insgesamt zeigte Pradofloxacin über den verlängerten Behandlungszeitraum eine gute Verträglichkeit und kann zur Behandlung von vor allem jungen Katzen empfohlen werden. Mit Doxycyclin war auch in dieser Arbeit die Elimination von *C. felis* bei allen Katzen möglich. Erstmals wurde auch die Wirksamkeit bei Mykoplasmeninfektionen in einer kontrollierten Studie gezeigt. Der zugrunde liegende Wirkmechanismus bleibt letztendlich ungeklärt, da die Konzentration von Doxycyclin in Tränen- und Speichelflüssigkeit an vielen Messpunkten unterhalb der Nachweisgrenze lag.

VII. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es 1) die pharmakokinetischen Eigenschaften von Pradofloxacin und Doxycyclin in Serum, Speichel und Tränenflüssigkeit bei Katzen nach oraler Applikation zu erheben, 2) die Prävalenz von felinem Herpesvirus (FHV), *Chlamydophila felis* (*C. felis*), Mykoplasmen und aeroben Bakterien auf den Konjunktiven von Katzen mit Konjunktivitis zu ermitteln und 3) die klinische Wirksamkeit von Pradofloxacin im Vergleich zu Doxycyclin bei der Behandlung von Katzen mit Katzenschnupfen oder Konjunktivitis mit besonderem Hinblick auf die Elimination von *C. felis* und Mykoplasmen zu untersuchen.

In der ersten Publikation wurden die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften in Serum, Speichel und Tränenflüssigkeit von Pradofloxacin und Doxycyclin bei Katzen bestimmt. In einem Versuch nach dem „Cross-over-Design“ wurde 5 mg/kg Pradofloxacin und 5 mg/kg Doxycyclin einmalig oral an sechs Katzen verabreicht. Nach Applikation wurden innerhalb 72 Stunden Proben von Serum, Speichel und Tränenflüssigkeit in bestimmten Zeitabständen gewonnen. Die Messung der Konzentration erfolgte durch Turbulentflow-Chromatographie/Tandem-Massenspektrometrie. Pradofloxacin wurde schnell resorbiert und anschließend kontinuierlich über 24 Stunden eliminiert. Der Konzentrationsverlauf von Pradofloxacin in der Tränen- und Speichelflüssigkeit war charakterisiert durch einen schnellen Anstieg mit hohen Konzentrationen über einen kurzen Zeitraum nach Applikation. Der Konzentrationsverlauf von Doxycyclin gleicht dem von Pradofloxacin, allerdings erreicht Doxycyclin insgesamt höhere Serumkonzentrationen. In Speichel und Tränenflüssigkeit sind die Konzentrationen von Doxycyclin für eine geeignete Auswertung zu gering.

Insgesamt 41 Katzen mit Katzenschnupfen oder Konjunktivitis wurden in die Prävalenzstudie aufgenommen. Zur Ermittlung des Infektionsstatus wurden konjunktivale Tupferproben entnommen und diese mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) auf FHV, *C. felis* und Mykoplasmen untersucht. Eine aerobe Kultur gab Aufschluss über die Beteiligung von Sekundärerregern. Zwölf Amplicons von neun Katzen wurden mittels Basic Logic Alignment Search Tool auf die Ähnlichkeit zu bekannten Mykoplasmenarten untersucht. FHV, *C.*

felis und Mykoplasmen waren bei zehn, 23 und 20 Katzen nachweisbar. Staphylokokken, Streptokokken und Mikrokokken waren am häufigsten vertreten. Neben den feline Mykoplasmenarten *Mycoplasma felis* und *Mycoplasma gateae* wurden vier weitere Spezies (*Mycoplasma canadense*, *Mycoplasma cynos*, *Mycoplasma lipophilum*, *Mycoplasma hyopharyngis*) entdeckt, die als bovine, porcine und canine Spezies klassifiziert sind.

An der klinischen Studie nahmen 39 Katzen teil, die entweder mit 5 mg/kg Pradofloxacin (Gruppe P) alle 24 Stunden per os oder mit 5 mg/kg Doxycyclin (Gruppe D) alle zwölf Stunden per os über 42 Tage behandelt wurden. Die Beurteilung des Allgemeinbefindens erfolgte nach dem Karnofsky-Index. Um die klinische Verbesserung zu erfassen, wurde für jedes Symptom in Abhängigkeit vom Schweregrad Punkte zwischen null und vier (0 = symptomlos, 4 = hochgradig) vergeben und die Gesamtpunktzahl pro Patient und Gruppe ausgewertet. Konjunktivale Tupferproben wurden mittels quantitativer PCR auf *C. felis* und Mykoplasmen untersucht. Die Quantität von *C. felis* wurde als „relative copy numbers“ (RCN) angegeben. Eine Verbesserung der klinischen Symptome und eine Normalisierung des Allgemeinbefindens wurde bei allen Katzen innerhalb der ersten sieben Tage nach Therapiebeginn beobachtet. Zwischen beiden Gruppen gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich der Besserung des Allgemeinbefindens und der klinischen Symptome. Eine deutliche Reduzierung der RCN wurde bei den 23 mit *C.-felis*-infizierten Katzen erzielt. Nach 42 Tagen waren alle mit Doxycyclin-behandelten Katzen PCR negativ, während in Gruppe P vier der zwölf Katzen ein positives Ergebnis zeigten. Bei drei der Katzen korrelierte das Ergebnis mit einer klinisch manifesten Konjunktivitis. Bei den 18 mit Mykoplasmen-infizierten Katzen wurde nach sechswöchiger Therapie mit beiden Wirkstoffen eine Elimination der Erreger erzielt.

Mit diesen Studien konnte gezeigt werden, dass Pradofloxacin eine zu Doxycyclin vergleichbare Wirksamkeit bei der Behandlung von Katzen mit Katzenschnupfen und Mykoplasmen-Infektionen hat. Allerdings blieben vier mit Pradofloxacin behandelte Katzen persistent mit *C. felis* infiziert, während bei allen mit Doxycyclin behandelten Katzen keine Erreger am Ende der Studie nachweisbar waren. Die Entdeckung der vier nicht-feline Mykoplasmenpezies wird als Zufallsbefund bewertet.

VIII. Summary

This doctoral thesis consists of three studies. Aim of the first study was to investigate the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of pradofloxacin and doxycycline in serum, saliva, and tear fluid of cats. The second study determined the prevalence of feline herpesvirus (FHV), *Chlamydomphila felis* (*C. felis*), *Mycoplasma* species (spp.) and other bacteria on the conjunctival surface of cats with conjunctivitis. In addition, a *Mycoplasma* spp. differentiation was performed. The clinical efficacy of pradofloxacin and doxycycline in the treatment of upper respiratory tract disease (URTD) and infections with *C. felis* and *Mycoplasma* spp. was evaluated in the third study.

In a cross-over study design, 6 healthy cats were treated orally with 5 mg/kg pradofloxacin and 5 mg/kg doxycycline. Following administration, samples of serum, saliva, and tear fluid were taken in regular intervals over a period of 72 hours. Concentrations of the two compounds were measured by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry. Following application, pradofloxacin was well absorbed and secreted into saliva and tear fluid. Maximal serum concentration (C_{\max}) of $1.09 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$ was determined after 1.75 ± 1.26 hours. In saliva and tear fluid, peak concentrations were achieved shortly after administration. In both fluids the concentration decreased very quick and fell below the limit of quantification after 24 hours. Serum C_{\max} of doxycycline is $3.99 \pm 0.81 \mu\text{g/mL}$ achieved after 4.33 ± 3.20 hours. The concentration-versus-time-profile is similar to pradofloxacin. Doxycycline has higher overall concentrations. However, doxycycline was not well secreted into saliva and tear fluid resulting in concentrations below the limit of quantification.

In the second study, prevalence of FHV, *C. felis*, and *Mycoplasma* spp. was assessed. Conjunctival swabs were taken from 41 cats with conjunctivitis or URTD. PCR and aerobic culture was performed on the samples. Twelve amplicons from 9 cats were evaluated for their homology to known *Mycoplasma* spp. by means of Basic Logic Alignment Search Tool (BLAST). PCR revealed the presence of FHV, *C. felis*, and *Mycoplasma* spp. on the conjunctiva in 10, 23, and 20 cats with URTD or conjunctivitis. In total, 6 different *Mycoplasma* spp. were identified by BLAST. Two species are known as feline mycoplasmas (*Mycoplasma felis* and *Mycoplasma gateae*), whereas the other 4 species

(*Mycoplasma canadense*, *Mycoplasma cynos*, *Mycoplasma lipophilum*, *Mycoplasma hyopharyngis*) have not been described to occur in cats. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., and *Micrococcus* spp. were grown most often in aerobic culture.

Thirty-nine cats were included into the third study and were randomly assigned to one of two groups. Cats of group P received 5 mg/kg pradofloxacin orally every 24 hours and cats of group D were treated orally with 5 mg/kg doxycycline every 12 hours. The substances were administered over 42 consecutive days. The Karnofsky score was used to describe the well being of the cats. Clinical symptoms were scored using a scale from 0 to 4 depending on the severity of the signs (0 = no symptoms, 4 = very severe). A total clinical score was determined for each group on each examination day. Swabs of the conjunctiva were taken to investigate the presence of *C. felis* and *Mycoplasma* spp. by quantitative polymerase chain reaction (PCR). The quantity of *C. felis* was expressed in relative copy numbers (RCN). An improvement in clinical signs was noted in both groups. Within the first week of treatment, the well-being of the cats returned to normal. The average clinical score of cats treated with pradofloxacin and doxycycline decreased from 4.9 (day 0) to 0.9 (day 7) and from 4.5 (day 0) to 1.7 (day 7), respectively. There was no statistically significant difference between both groups on each examination day. Remaining signs were conjunctivitis, sneezing, nasal and ocular discharge. Treatment resulted in a decrease of the RCN. On day 42, all cats of group D were negative by PCR, whereas *C. felis* was present in 4 of 10 cats treated with pradofloxacin. The detection of *C. felis* went in line with clinical signs of conjunctivitis in 3 of 4 cats. All cats tested positive on *Mycoplasma* spp. on day 0 were negative on day 42.

These studies show that pradofloxacin and doxycycline exhibit a good efficacy in the treatment of upper respiratory tract disease and *Mycoplasma* spp. infections in cats. However, in cats with *C. felis* infections, efficacy of pradofloxacin was moderate resulting in 4 cats with persistent infections. In contrast, doxycycline was able to clear *C. felis* infections in all cats. The 4 non-feline species identified by BLAST are thought to be an incidental finding.

IX. Literaturverzeichnis

Aarestrup FM, Friis NF. Antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma hyosynoviae* isolated from pigs during 1968 to 1971 and during 1995 and 1996. *Vet Microbiol* 1998; 61: 33-9.

Abou N, Houwers DJ, van Dongen AM. PCR-based detection reveals no causative role for *Mycoplasma* and *Ureaplasma* in feline lower urinary tract disease. *Vet Microbiol* 2006; 116: 246-7.

Abraham J, Ewert K, de Jong A. Comparative *in vitro* activity against selected pathogens from the US. Proceedings of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, 2002; 189.

Abrams-Ogg A, Holmberg DL, Quinn RF, Keller C, Wilcock BP, Claffey FP. Blindness now attributed to enrofloxacin therapy in a previously reported case of a cat with acromegaly treated by cryohypophysectomy. *Can Vet J* 2002; 43: 53-4.

Adler K, Radeloff I, Stephan B, Greife H, Hellmann K. Bacteriological and virological status in upper respiratory tract infections of cats (cat common cold complex). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007; 120: 120-5.

Aitken IA, Morgan JH, Dalziel R, Burch DG, Ripley PH. Comparative *in vitro* activity of valnemulin against porcine bacterial pathogens. *Vet Rec* 1999; 144: 128.

Allam NM, Lemcke RM. Mycoplasmas isolated from the respiratory tract of horses. *J Hyg (Lond)* 1975; 74: 385-407.

Allen EG, Bovarnick MR. Association of reduced diphosphopyridine nucleotide cytochrome c reductase activity with meningopneumonitis virus. *J Exp Med* 1957; 105: 539-47.

Allen EG, Bovarnick MR. Enzymatic activity associated with meningopneumonitis. *Ann N Y Acad Sci* 1962; 98: 229-33.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990; 215: 403-10.

Amann R, Springer N, Schonhuber W, Ludwig W, Schmid EN, Muller KD, Michel R. Obligate intracellular bacterial parasites of *Acanthamoebae* related to *Chlamydia* spp. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 115-21.

Amendola MA, Spera TD. Doxycycline-induced esophagitis. *JAMA* 1985; 253: 1009-11.

Ammar AM, Heitmann J, Kirchhoff H. Untersuchung von Stutenseren auf Antikörper gegen Acholeplasmen und Mykoplasmen mit dem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Zentralbl Bakteriologie A* 1980; 247: 517-25.

Anderson DR, Hopps HE, Barile MF, Bernheim BC. Comparison of the ultrastructure of several *Rickettsiae*, ornithosis virus, and *Mycoplasma* in tissue culture. *J Bacteriol* 1965; 90: 1387-404.

Andreev J, Borovsky Z, Rosenshine I, Rottem S. Invasion of HeLa cells by *Mycoplasma penetrans* and the induction of tyrosine phosphorylation of a 145-kDa host cell protein. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 132: 189-94.

Andrew SE. Ocular manifestations of feline herpesvirus. *J Feline Med Surg* 2001; 3: 9-16.

Armstrong JA, Reed SE. Nature and origin of initial bodies in lymphogranuloma venereum. *Nature* 1964; 201: 371-3.

Aronson AL. Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 176: 1061-8.

Ayling RD, Baker SE, Peek ML, Simon AJ, Nicholas RA. Comparison of *in vitro* activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Vet Rec* 2000; 146: 745-7.

Ayroud M, Papp-Vidd G, Breker K. Feline chlamydiosis in an animal shelter. *Can Vet J* 1993; 34: 311.

Aznabaev MT, Latypova EA, Babushkin AE. Treatment of chlamydial conjunctivitis. *Vestn Oftalmol* 2001; 117: 51-2.

Azuma Y, Hirakawa H, Yamashita A, Cai Y, Rahman MA, Suzuki H, Mitaku S, Toh H, Goto S, Murakami T, Sugi K, Hayashi H, Fukushi H, Hattori M, Kuhara S, Shirai M. Genome sequence of the cat pathogen, *Chlamydophila felis*. *DNA Research* 2006; 1-9.

Babu E, Takeda M, Narikawa S, Kobayashi Y, Yamamoto T, Cha SH, Sekine T, Sakthisekaran D, Endou H. Human organic anion transporters mediate the transport of tetracycline. *Jpn J Pharmacol* 2002; 88: 69-76.

Baker JA. A virus obtained from a pneumonia of cats and its possible relation to the cause of atypical pneumonia in man. *Science* 1942; 49: 475-6.

Baker JA. A virus causing pneumonia in cats and producing elementary bodies. *J Exp Med* 1944; 79: 159-71.

Balin BJ, Gerard HC, Arking EJ, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT, Whittum-Hudson JA, Hudson AP. Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol* 1998; 187: 23-42.

Ball HJ. Experimental mastitis caused by *Mycoplasma bovis* and *M. canadense* in the ewe. *Vet Microbiol* 1990; 22: 383-8.

Ball HJ, Mackie DP. Experimental production of bovine and ovine mastitis with a *Mycoplasma canadense* isolate. *Vet Rec* 1986; 118: 72-3.

Ball HJ, Reilly GAC, Bryson DG. Antibiotic susceptibility of *Mycoplasma bovis* strains isolated in Northern Ireland. *Ir Vet J* 1995; 48: 316-8.

Bannasch MJ, Foley JE. Epidemiologic evaluation of multiple respiratory pathogens in cats in animal shelters. *J Feline Med Surg* 2005; 7: 109-19.

Barndt R, Grant W, Rude T, Scott F, Storz J, Williams J. A closer look at chlamydiosis in cats. *Vet Med US* 1986; 81: 47-54.

Barrs VR, Allan GS, Martin P, Beatty JA, Malik R. Feline pyothorax: a retrospective study of 27 cases in Australia. *J Feline Med Surg* 2005; 7: 211-22.

Bart M, Guscetti F, Zurbriggen A, Pospischil A, Schiller I. Feline infectious pneumonia: a short literature review and a retrospective immunohistological study on the involvement of *Chlamydia* spp. and distemper virus. *Vet J* 2000; 159: 220-30.

Bartlett JG, Bustetter LA, Gorbach SL, Onderdonk AB. Comparative effect of tetracycline and doxycycline on the occurrence of resistant *Escherichia coli* in the fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother* 1975; 7: 55-7.

Barza M. Challenges to antibiotic activity in tissue. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 910-5.

Barza M, Brown RB, Shanks C, Gamble C, Weinstein L. Relation between lipophilicity and pharmacological behavior of minocycline, doxycycline, tetracycline, and oxytetracycline in dogs. *Antimicrob Agents Chemother* 1975; 8: 713-20.

Bedson SP, Western GT, Simpson SL. Observations on the aetiology of psittacosis. *Lancet* 1930; 1: 235-6.

Beluche LA, Bertone AL, Anderson DE, Kohn CW, Weisbrode SE. *In vitro* dose-dependent effects of enrofloxacin on equine articular cartilage. *Am J Vet Res* 1999; 60: 577-82.

Bendele AM, Hulman JF, Harvey AK, Hrubey PS, Chandrasekhar S. Passive role of articular chondrocytes in quinolone-induced arthropathy in guinea pigs. *Toxicol Pathol* 1990; 18: 304-12.

Bennett IC, Law DB. Incorporation of tetracycline in developing enamel and dentin in dogs. *J Dent Child* 1967; 34: 93-5.

Bettenay SV, Lappin MR, Mueller RS. An immunohistochemical and polymerase chain reaction evaluation of feline plasmacytic pododermatitis. *Vet Pathol* 2007; 44: 80-3.

Bevelander G, Nakahara H. Correlation between tetracycline binding and mineralization in dentin and enamel. *Anat Rec* 1965; 153: 141-7.

Bialasiewicz AA, Jahn GJ. Ocular findings in *Chlamydia psittaci*-induced keratoconjunctivitis in the human. *Fortschr Ophthalmol* 1986; 83: 629-31.

Bidgood TL, Papich MG. Comparison of plasma and interstitial fluid concentrations of doxycycline and meropenem following constant rate intravenous infusion in dogs. *Am J Vet Res* 2003; 64: 1040-6.

Binns S, Dawson S. Feline infectious upper respiratory disease. *In Pract* 1995; 17: 458-61.

Binns SH, Dawson S, Speakman AJ, Cuevas LE, Gaskell CJ, Hart CA, Morgan KL, Gaskell RM. Prevalence and risk factors for feline *Bordetella bronchiseptica* infection. *Vet Rec* 1999; 144: 575-80.

Binns SH, Dawson S, Speakman AJ, Cuevas LE, Hart CA, Gaskell CJ, Morgan KL, Gaskell RM. A study of feline upper respiratory tract disease with reference to prevalence and risk factors for infection with feline calicivirus and feline herpesvirus. *J Feline Med Surg* 2000; 2: 123-33.

Biourge V, MacDonald MJ, King L. Feline hepatic lipidosis: pathogenesis and nutritional management. *Comp Contin Educ Prac Vet* 1990; 12: 1244-55.

Bjellerup M. Medium-wave ultraviolet radiation (UVB) is important in doxycycline phototoxicity. *Acta Derm Venereol* 1986; 66: 510-4.

Bjellerup M, Ljunggren B. Double blind cross-over studies on phototoxicity to three tetracycline derivatives in human volunteers. *Photodermatol* 1987; 4: 281-7.

Bjellerup M, Ljunggren B. Differences in phototoxic potency should be considered when tetracyclines are prescribed during summer-time. A study on doxycycline and lymecycline in human volunteers, using an objective method for recording erythema. *Br J Dermatol* 1994; 130: 356-60.

Bjorvatn K. *In vitro* study by fluorescence microscopy and microradiography of tetracycline-tooth interaction. *Scand J Dent Res* 1983; 91: 417-24.

Blackmore DK, Hill A. The experimental transmission of various mycoplasmas of feline origin to domestic cats (*Felis catus*). *J Small Anim Pract* 1973; 14: 7-13.

Blackmore DK, Hill A, Jackson OF. The incidence of *Mycoplasma* in pet and colony maintained cats. J Small Anim Pract 1971; 12: 207-17.

Blake FG, Howard ME, Tatlock H. Feline virus pneumonia and its possible relation to some cases of primary atypical pneumonia in man. Yale J Biol Med 1942; 15: 139-67.

Blank WA, Erickson BZ, Stemke GW. Phylogenetic relationships of the porcine mycoplasmas *Mycoplasma hyosynoviae* and *Mycoplasma hyopharyngis*. Int J Syst Bacteriol 1996; 46: 1181-2.

Boatman ES, Kenny GE. Three-dimensional morphology, ultrastructure, and replication of *Mycoplasma felis*. J Bacteriol 1970; 101: 262-7.

Bogardus JB, Blackwood RK, Jr. Dissolution rates of doxycycline free base and hydrochloride salts. J Pharm Sci 1979; 68: 1183-4.

Bokey L, Hugh TB. Oesophageal ulceration associated with doxycycline therapy. Med J Aust 1975; 1: 236-7.

Bonilla HF, Chenoweth CE, Tully JG, Blythe LK, Robertson JA, Ognenovski VM, Kauffman CA. *Mycoplasma felis* septic arthritis in a patient with hypogammaglobulinemia. Clin Infect Dis 1997; 24: 222-5.

Boothe DM. The accumulation of pradofloxacin in phagocytes. Proceedings of the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, 2006; 18.

Boothe JH, Morton J, II, Petisi JP, Wilkinson RG, Williams JH. Tetracycline. J Am Chem Soc 1953; 75: 4621.

Borovsky Z, Tarshis M, Zhang P, Rottem S. Protein kinase C activation and vacuolation in HeLa cells invaded by *Mycoplasma penetrans*. J Med Microbiol 1998; 47: 915-22.

Bott S, Prakash C, McCallum RW. Medication-induced esophageal injury: survey of the literature. Am J Gastroenterol 1987; 82: 758-63.

Boughton E, Hopper SA, Gayford PJ. *Mycoplasma canadense* from bovine fetuses. Vet Rec 1983; 112: 87.

Bowie WR, Manzon LM, Borrie-Hume CJ, Fawcett A, Jones HD. Efficacy of treatment regimens for lower urogenital *Chlamydia trachomatis* infection in women. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142: 125-9.

Bowman BH. Biochemical regulators: cytokines and transcription factors. In: *Hepatic Plasma Proteins*, Bowman BH, ed. San Diego: Academic Press 1993; 179-86.

Bowman RJ, Sillah A, Van Dehn C, Goode VM, Muquit M, Johnson GJ, Milligan P, Rowley J, Faal H, Bailey RL. Operational comparison of single-dose azithromycin and topical tetracycline for trachoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 4074-9.

Branigan PJ, Gerard HC, Hudson AP, Schumacher HR, Jr., Pando J. Comparison of synovial tissue and synovial fluid as the source of nucleic acids for detection of *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1740-6.

Breen K, Schenker S, Heimberg M. The effect of tetracycline on the hepatic secretion of triglyceride. *Biochim Biophys Acta* 1972; 270: 74-80.

Breen KJ, Schenker S, Heimberg M. Fatty liver induced by tetracycline in the rat. Dose-response relationships and effect of sex. *Gastroenterology* 1975; 69: 714-23.

Breen KJ, Schenker S, Heimberg M. Effect of tetracycline on the metabolism of [^{14}C]oleate by the liver. *Biochem Pharmacol* 1979; 28: 197-200.

Brown DR, McLaughlin GS, Brown MB. Taxonomy of the feline mycoplasmas *Mycoplasma felifaucium*, *Mycoplasma feliminutum*, *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma gateae*, *Mycoplasma leocaptivus*, *Mycoplasma leopharyngis*, and *Mycoplasma simbae* by 16S rRNA gene sequence comparisons. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 560-4.

Brown MB, Gionet P, Senior DF. Identification of *Mycoplasma felis* and *Mycoplasma gateae* by an immunobinding assay. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1870-3.

Brown MB, Stoll M, Maxwell J, Senior DF. Survival of feline mycoplasmas in urine. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1078-80.

Browning GF. Is *Chlamydomphila felis* a significant zoonotic pathogen? Aust Vet J 2004; 82: 695-6.

Brunham RC, Kuo C, Stevens CE, Holmes KK. Treatment of concomitant *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections in women: comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole with ampicillin-probenecid. Rev Infect Dis 1982; 4: 491-9.

Burkhardt JE, Hill MA, Carlton WW. Morphologic and biochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin. Toxicol Pathol 1992; 20: 246-52.

Burkhardt JE, Hill MA, Carlton WW, Kesterson JW. Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. Vet Pathol 1990; 27: 162-70.

Burkhardt JE, Hill MA, Lamar CH, Smith GN, Jr., Carlton WW. Effects of difloxacin on the metabolism of glycosaminoglycans and collagen in organ cultures of articular cartilage. Fundam Appl Toxicol 1993; 20: 257-63.

Butaye P, Ducatelle R, De Backer P, Vermeersch H, Remon JP, Haesebrouck F. *In vitro* activities of doxycycline and enrofloxacin against European *Chlamydia psittaci* strains from turkeys. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2800-1.

Buyske DA, Eisner HJ, Kelly RG. Concentration and persistence of tetracycline and chlortetracycline in bone. J Pharmacol Exp Ther 1960; 130: 150-6.

Cai Y, Fukushi H, Koyasu S, Kuroda E, Yamaguchi T, Hirai K. An etiological investigation of domestic cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease in Japan. J Vet Med Sci 2002; 64: 215-9.

Caldwell HD, Perry LJ. Neutralization of *Chlamydia trachomatis* infectivity with antibodies to the major outer membrane protein. Infect Immun 1982; 38: 745-54.

Campbell LH, Fox JG, Snyder SB. Ocular bacteria and *Mycoplasma* in clinically normal cats. Feline Pract 1973a; 3: 10-2.

Campbell LH, Snyder SB, Reed C, Fox JG. *Mycoplasma felis*-associated conjunctivitis in cats. J Am Vet Med Assoc 1973b; 163: 991-5.

Carlborg B. Complications of drugs being accidentally dissolved in the esophagus and bronchi. *Lakartidningen* 1976; 73: 4201-04.

Carlborg B, Densert O. Esophageal lesions caused by orally administered drugs. An experimental study in the cat. *Eur Surg Res* 1980; 12: 270-82.

Carlborg B, Densert O, Lindqvist C. Tetracycline induced esophageal ulcers. a clinical and experimental study. *Laryngoscope* 1983; 93: 184-7.

Carlborg B, Farmer JC. Esophageal corrosion tests with doxycycline monohydrate tablets. *Curr Ther Res* 1983; 34: 110-6.

Carman S, Rosendal S, Huber L, Gyles C, McKee S, Willoughby RA, Dubovi E, Thorsen J, Lein D. Infectious agents in acute respiratory disease in horses in Ontario. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 17-23.

Carrasco L, Segales J, Bautista MJ, Gomez-Villamandos JC, Rosell C, Ruiz-Villamor E, Sierra MA. Intestinal chlamydial infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Vet Rec* 2000; 146: 21-3.

Carroll LA, Laumann AE. Doxycycline-induced photo-onycholysis. *J Drugs Dermatol* 2003; 2: 662-3.

Casey HL. Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to micro test. I. Laboratory branch complement fixation method by laboratory branch task force. II. Adaptation of LBCF method to micro technique. *Public Health Monogr* 1965; 74: 1-34.

Cavet ME, West M, Simmons NL. Fluoroquinolone (ciprofloxacin) secretion by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 1567-78.

Cello RM. Ocular infections in animals with PLT (Bedsonia) group agents. *Am J Ophthalmol* 1967; 63 (Supplement): 1270-4.

Cello RM. Clues to differential diagnosis of feline respiratory infections. *J Am Vet Med Assoc* 1971a; 158 (Supplement 2): 968-73.

Cello RM. Microbiological and immunologic aspects of feline pneumonitis. *J Am Vet Med Assoc* 1971b; 158 (Supplement 2): 932-8.

Cello RM, Proctor FI. Association of pleuropneumonia-like organisms with conjunctivitis of cats. *Am J Ophthalmol* 1957; 43: 296-7.

Chalker VJ, Brownlie J. Taxonomy of the canine *Mollicutes* by 16S rRNA gene and 16S/23S rRNA intergenic spacer region sequence comparison. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 537-42.

Chalker VJ, Owen WM, Paterson C, Barker E, Brooks H, Rycroft AN, Brownlie J. Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease. *Microbiology* 2004a; 150: 3491-7.

Chalker VJ, Owen WM, Paterson CJ, Brownlie J. Development of a polymerase chain reaction for the detection of *Mycoplasma felis* in domestic cats. *Vet Microbiol* 2004b; 100: 77-82.

Chandler JC, Lappin MR. Mycoplasmal respiratory infections in small animals: 17 cases (1988-1999). *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 111-9.

Chanter N. Bacterial infections including mycoplasmas. In: *Equine Respiratory Diseases*, Lekeux P, ed. Ithaca: International Veterinary Information Service (www.ivis.org) 2002; Zugang am 16.08.2006.

Chirgwin K, Roblin PM, Hammerschlag MR. *In vitro* susceptibilities of *Chlamydia pneumoniae* (*Chlamydia* sp. strain TWAR). *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1634-5.

Christiansen G, Jensen LT, Boesen T, Emmersen J, Ladefoged SA, Schiøtz LK, Birkelund S. Molecular biology of *Mycoplasma*. *Wien Klin Wochenschr* 1997; 109: 557-61.

Clyde WA, Jr. *Mycoplasma* species identification based upon growth inhibition by specific antisera. *J Immunol* 1964; 92: 958-65.

Cohlan SQ. Tetracycline staining of teeth. *Teratology* 1977; 15: 127-9.

Cohlan SQ, Bevelander G, Tiamsic T. Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Am J Dis Child* 1963; 105: 453-61.

Cole BC, Golightly L, Ward JR. Characterization of mycoplasma strains from cats. *J Bacteriol* 1967; 94: 1451-8.

Colegrave AJ, Ingham B, Inglis JM. Chronic rhinitis in cats. *Vet Rec* 1964; 76: 67-8.

Coles AC. Micro-organisms in psittacosis. *Lancet* 1930; 1: 1011-2.

Collighan RJ, Woodward MJ. *Spirochaetes* and other bacterial species associated with bovine digital dermatitis. *FEMS Microbiol Lett* 1997; 156: 37-41.

Conover LH, Moreland WT, English AR, Stephens CR, Pilgrim FJ. Terramycin, XI. Tetracycline. *J Am Chem Soc* 1953; 75: 4622.

Constable FL. Psittacosis elementary bodies. *Nature* 1959; 184: 473-4.

Cooper AC, Fuller JR, Fuller MK, Whittlestone P, Wise DR. *In vitro* activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance. *Res Vet Sci* 1993; 54: 329-34.

Cotton MM, Partridge MR. Infection with feline *Chlamydia psittaci*. *Thorax* 1998; 53: 75-6.

Coutts AJ, Dawson S, Binns S, Hart CA, Gaskell CJ, Gaskell RM. Studies on natural transmission of *Bordetella bronchiseptica* in cats. *Vet Microbiol* 1996; 48: 19-27.

Cox HU. Staphylococcal infections. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 316-20.

Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1-10.

Crisp MS, Birchard SJ, Lawrence AE, Fingerroth J. Pulmonary abscess caused by a *Mycoplasma* sp. in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191: 340-2.

Crispin SM, Gould DJ, Carter WJ, Lowe RC. Idiosyncratic reaction to enrofloxacin in cats. *Vet Rec* 2002; 150: 555-6.

Crowson TD, Head LH, Ferrante WA. Esophageal ulcers associated with tetracycline therapy. JAMA 1976; 235: 2747-8.

Cunha BA, Domenico P, Cunha CB. Pharmacodynamics of doxycycline. Clin Microbiol Infect 2000; 6: 270-3.

Danwitz BR, Rehmann SU. Beitrag zum Vorkommen und Nachweis von Chlamydieninfektionen bei der Katze. Tierärztl Umsch 1991; 8: 350-4.

Darougar S, John AC, Viswalingam M, Cornell L, Jones BR. Isolation of *Chlamydia psittaci* from a patient with interstitial keratitis and uveitis associated with otological and cardiovascular lesions. Br J Ophthalmol 1978; 62: 709-14.

Darougar S, Monnickendam MA, El-Sheikh H, Treharne JD, Woodland RM, Jones BR. Animal models for the study of chlamydial infections of the eye and genital tract. In: Nongonococcal Urethritis and Related Infections, Hobson D, Holmes KK, eds. Washington, D. C.: American Society for Microbiology 1977a; 186-98.

Darougar S, Viswalingam M, Treharne JD, Kinnison JR, Jones BR. Treatment of TRIC infection of the eye with rifampicin or chloramphenicol. Br J Ophthalmol 1977b; 61: 255-9.

Darougar S, Viswalingam N, El-Sheikh H, Hunter PA, Yearsley P. A double-blind comparison of topical therapy of chlamydial ocular infection (TRIC infection) with rifampicin or chlortetracycline. Br J Ophthalmol 1981; 65: 549-52.

Daube G, Krebber R, Greife HA. Pharmacokinetic properties of pradofloxacin administered as an oral suspension to cats. J Vet Pharm Ther 2006; 29 (Supplement 1): 266-7.

Davidson M. Information on adverse drug reaction in cats. J Am Vet Med Assoc 2001; 219: 1676.

Dawson CR, Schachter J, Sallam S, Sheta A, Rubinstein RA, Washton H. A comparison of oral azithromycin with topical oxytetracycline/polymyxin for the treatment of trachoma in children. Clin Infect Dis 1997; 24: 363-8.

Dawson S, Willoughby K. Feline infectious upper respiratory tract disease - an update. In Pract 1999; 21: 232-7.

De Jong A, Bleckmann I. Comparative activity of pradofloxacin against clinical canine and feline strains of Germany. Proceedings of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, 2003; 223.

De Jong A, Stephan B, Friederichs S. Antibacterial activity of pradofloxacin against canine and feline pathogens isolated from clinical cases. Proceedings of the 2nd International Conference on Antimicrobial Agents in Veterinary Medicine, Ottawa, 2004; 107.

Dean R, Harley R, Helps C, Caney S, Gruffydd-Jones T. Use of quantitative real-time PCR to monitor the response of *Chlamydomphila felis* infection to doxycycline treatment. J Clin Microbiol 2005; 43: 1858-64.

Del Giudice RA, Robillard NF, Carski TR. Immunofluorescence identification of *Mycoplasma* on agar by use of incident illumination. J Bacteriol 1967; 93: 1205-9.

Denamur E, Sayada C, Souriau A, Orfila J, Rodolakis A, Elion J. Restriction pattern of the major outer membrane protein gene provides evidence for a homogeneous invasive group among ruminant isolates of *Chlamydia psittaci*. J Gen Microbiol 1991; 137: 2525-30.

Dessus-Babus S, Bebear CM, Charron A, Bebear C, de Barbeyrac B. Sequencing of gyrase and topoisomerase IV quinolone-resistance-determining regions of *Chlamydia trachomatis* and characterization of quinolone-resistant mutants obtained *in vitro*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 2474-81.

Dhem A, Piret N, Fortunati D. Tetracyclines, doxycycline and calcified tissues. Scand J Infect Dis Suppl 1976; 42-6.

Di Benedetto DC. Tetracycline staining in an adult. J Mass Dent Soc 1985; 34: 183, 217.

Di Francesco A, Carelle MS, Baldelli R. Feline chlamydiosis in Italian stray cat homes. Vet Rec 2003; 153: 244-5.

Di Francesco A, Donati M, Battelli G, Cevenini R, Baldelli R. Seroepidemiological survey for *Chlamydomphila felis* among household and feral cats in northern Italy. Vet Rec 2004a; 155: 399-400.

Di Francesco A, Piva S, Baldelli R. Prevalence of *Chlamydomphila felis* by PCR among healthy pet cats in Italy. New Microbiol 2004b; 27: 199-201.

Dickeson SK, Walsh JJ, Santoro SA. Contributions of the I and EF hand domains to the divalent cation-dependent collagen binding activity of the alpha2beta1 integrin. J Biol Chem 1997; 272: 7661-8.

Dickie CW, Sniff ES. *Chlamydia* infection associated with peritonitis in a cat. J Am Vet Med Assoc 1980; 176: 1256-9.

Dilbeck PM, Evermann JF, Crawford TB, Ward AC, Leathers CW, Holland CJ, Mebus CA, Logan LL, Rurangirwa FR, McGuire TC. Isolation of a previously undescribed *Rickettsia* from an aborted bovine fetus. J Clin Microbiol 1990; 28: 814-6.

Djupesland G, Rolstad EA. Esophageal ulcerations caused by drugs. Tidsskr Nor Laegeforen 1978; 98: 696-7.

Donati M, Piva S, Di Francesco A, Mazzeo C, Pietra M, Cevenini R, Baldelli R. Feline ocular chlamydiosis: clinical and microbiological effects of topical and systemic therapy. New Microbiol 2005; 28: 369-72.

Dorin SE, Miller WW, Goodwin JK. Diagnosing and treating chlamydial conjunctivitis in cats. Vet Med 1993; 8: 322-30.

Dossin O, Gruet P, Thomas E. Comparative field evaluation of marbofloxacin tablets in the treatment of feline upper respiratory infections. J Small Anim Pract 1998; 39: 286-9.

Drews J, Georgopoulos A, Laber G, Schutze E, Unger J. Antimicrobial activities of 81.723 hfu, a new pleuromutilin derivative. Antimicrob Agents Chemother 1975; 7: 507-16.

Duggar BM. Aureomycin: a product of the continuing search for new antibiotics. Ann NY Acad Sci 1948; 51: 177-81.

Durr J, Goodman S, Potocnik A, von der Mark H, von der Mark K. Localization of beta 1-integrins in human cartilage and their role in chondrocyte adhesion to collagen and fibronectin. *Exp Cell Res* 1993; 207: 235-44.

Dybvig K, Voelker LL. Molecular biology of mycoplasmas. *Annu Rev Microbiol* 1996; 50: 25-57.

Eb F, Orfila J, Milon A, Geral MF. Epidemiologic significance of the immunofluorescence typing of *Chlamydia psittaci*. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1986; 137B: 77-93.

Edward DG. An investigation of the biological properties of organisms of the pleuropneumonia group, with suggestions regarding the identification of strains. *J Gen Microbiol* 1950; 4: 311-29.

Edward DG. The pleuropneumonia group of organisms: a review, together with some new observations. *J Gen Microbiol* 1954; 10: 27-64.

Edward DG, Fitzgerald WA. Cholesterol in the growth of organisms of the pleuropneumonia group. *J Gen Microbiol* 1951; 5: 576-86.

Edward DG, Freundt EA. The classification and nomenclature of organisms of the pleuropneumonia group. *J Gen Microbiol* 1956; 14: 197-207.

Egerbacher M, Edinger J, Tschulenk W. Effects of enrofloxacin and ciprofloxacin hydrochloride on canine and equine chondrocytes in culture. *Am J Vet Res* 2001; 62: 704-8.

Egger H, Reinshagen H. New pleuromutilin derivatives with enhanced antimicrobial activity. I. Synthesis. *J Antibiot (Tokyo)* 1976a; 29: 915-22.

Egger H, Reinshagen H. New pleuromutilin derivatives with enhanced antimicrobial activity. II. Structure-activity correlations. *J Antibiot (Tokyo)* 1976b; 29: 923-7.

Eisenberg E. Anomalies of the teeth with stains and discolorations. *J Prev Dent* 1975; 2: 7-14, 6-20.

El-Sheikh EHA. Feline chlamydial keratoconjunctivitis as an analogon of trachoma. PhD thesis, London, 1978.

Erickson BZ, Ross RF, Rose DL, Tully JG, Bove JM. *Mycoplasma hyopharyngis*, a new species from swine. Int J Syst Bacteriol 1986; 36: 55-9.

Erlandson RA, Allen EG. The ultrastructure of meningopneumonitis. Virology 1964; 22: 410-8.

Ernst S, Goggin JM. What is your diagnosis? *Mycoplasma arthritis* in a cat. J Am Vet Med Assoc 1999; 215: 19-20.

Espinola MB, Lilenbaum W. Prevalence of bacteria in the conjunctival sac and on the eyelid margin of clinically normal cats. J Small Anim Pract 1996; 37: 364-6.

Everett KD. *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. Vet Microbiol 2000; 75: 109-26.

Everett KD, Andersen AA. Identification of nine species of the *Chlamydiaceae* using PCR-RFLP. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 803-13.

Everett KD, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int J Syst Bacteriol 1999a; 49: 415-40.

Everett KD, Hornung LJ, Andersen AA. Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order *Chlamydiales*: three PCR tests. J Clin Microbiol 1999b; 37: 575-80.

Felmingham D, Robbins MJ, Sanghrajka M, Leakey A, Ridgway GL. The *in vitro* activity of some 14-, 15- and 16- membered macrolides against *Staphylococcus* spp., *Legionella* spp., *Mycoplasma* spp. and *Ureaplasma urealyticum*. Drugs Exp Clin Res 1991; 17: 91-9.

Finerman GAM, Milch RA. *In vitro* binding of tetracyclines to calcium. Nature 1963; 198: 486-7.

Finlay AC, Hobby GL, Plan SY, Regna PR, Routin JB, Seeley DB, Shull GM, Sobin BA, Solomons IA, Vinson JW, Kane JH. Terramycin, a new antibiotic. *Science* 1950; 111: 85.

Foley JE, Harrus S, Poland A, Chomel B, Pedersen NC. Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of *Haemobartonella felis* in domestic cats. *Am J Vet Res* 1998; 59: 1581-8.

Foley JE, Pedersen NC. '*Candidatus Mycoplasma haemominutum*', a low-virulence epierythrocytic parasite of cats. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 815-7.

Ford DK, MacDonald J. Influence of urea on the growth of T-strain mycoplasmas. *J Bacteriol* 1967; 93: 1509-12.

Forster C, Kociok K, Shakibaei M, Merker HJ, Vormann J, Gunther T, Stahlmann R. Integrins on joint cartilage chondrocytes and alterations by ofloxacin or magnesium deficiency in immature rats. *Arch Toxicol* 1996; 70: 261-70.

Foster SF, Barrs VR, Martin P, Malik R. Pneumonia associated with *Mycoplasma* spp. in three cats. *Aust Vet J* 1998; 76: 460-4.

Foster SF, Martin P, Allan GS, Barrs VR, Malik R. Lower respiratory tract infections in cats: 21 cases (1995-2000). *J Feline Med Surg* 2004a; 6: 167-80.

Foster SF, Martin P, Braddock JA, Malik R. A retrospective analysis of feline bronchoalveolar lavage cytology and microbiology (1995-2000). *J Feline Med Surg* 2004b; 6: 189-98.

Fox JG, Stills HF, Paster BJ, Dewhirst FE, Yan L, Palley L, Probst K. Antigenic specificity and morphologic characteristics of *Chlamydia trachomatis*, strain SFPD, isolated from hamsters with proliferative ileitis. *Lab Anim Sci* 1993; 43: 405-10.

Fraatz K, Daube G. Pharmacokinetic properties of Veraflox[®] tablets and Veraflox[®] oral suspension. Proceedings of the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, 2006; 16-7.

Francoz D, Fortin M, Fecteau G, Messier S. Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method. *Vet Microbiol* 2005; 105: 57-64.

Frankel MA, Hawes RR. Tetracycline antibiotics and tooth discoloration. *J Oral Ther Pharmacol* 1964; 139: 147-55.

Fraser CM, Gocayne JD, White O, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD, Bult CJ, Kerlavage AR, Sutton G, Kelley JM, Fritchman RD, Weidman JF, Small KV, Sandusky M, Fuhrmann J, Nguyen D, Utterback TR, Saudek DM, Phillips CA, Merrick JM, Tomb JF, Dougherty BA, Bott KF, Hu PC, Lucier TS, Peterson SN, Smith HO, Hutchison CA, 3rd, Venter JC. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science* 1995; 270: 397-403.

Fraser-Hurt N, Bailey RL, Cousens S, Mabey D, Faal H, Mabey DC. Efficacy of oral azithromycin versus topical tetracycline in mass treatment of endemic trachoma. *Bull World Health Organ* 2001; 79: 632-40.

Freundt EA. The classification of the pleuropneumonia group of organisms (*Borrelomycetales*). *Int Bull Bacteriol Nomencl Taxon* 1955; 5: 67-78.

Friis NF. Occurrence of antibodies against agents of the ornithosis group in domestic animals in Denmark. *Nord Vet Med* 1967; 19: 572-7.

Friis NF, Ahrens P, Hagedorn-Olsen T, Nielsen EO, Kokotovic B. *Mycoplasma hyopharyngis* isolation from swine. *Acta Vet Scand* 2003; 44: 103-4.

Friis NF, Blom E. Isolation of *Mycoplasma canadense* from bull semen. *Acta Vet Scand* 1983; 24: 315-7.

Fukushi H, Ogawa H, Minamoto N, Hashimoto A, Yagami K, Tamura H, Shimakura S, Hirai K. Seroepidemiological surveillance of *Chlamydia psittaci* in cats and dogs in Japan. *Vet Rec* 1985; 117: 503-4.

Furness G. Analysis of the growth cycle of *Mycoplasma orale* by synchronized division and by ultraviolet irradiation. *J Infect Dis* 1968; 118: 436-42.

Gabler WL. Fluxes and accumulation of tetracyclines by human blood cells. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1991; 72: 39-51.

Gaillard ET, Hargis AM, Prieur DJ, Evermann JF, Dhillon AS. Pathogenesis of feline gastric chlamydial infection. *Am J Vet Res* 1984; 45: 2314-21.

Gaskell RM. Upper respiratory diseases in the cat (including *Chlamydia*): control and prevention. *Feline Pract* 1993; 21: 29-34.

Gaskell RM, Dawson S. Feline respiratory disease. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 2nd ed. Greene CE, ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1998; 97-106.

Gaskell RM, Dawson S, Radford AD. Feline respiratory disease. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 145-54.

Gaskell RM, Radford AD, Dawson S. Feline infectious respiratory disease. In: *Feline Medicine and Therapeutics*, 3rd ed. Chandler EA, Gaskell GJ, Gaskell RM, eds. Oxford: Blackwell Publishing 2004; 577-96.

Gautier-Bouchardon AV, Reinhardt AK, Kobisch M, Kempf I. *In vitro* development of resistance to enrofloxacin, erythromycin, tylosin, tiamulin and oxytetracycline in *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma iowae* and *Mycoplasma synoviae*. *Vet Microbiol* 2002; 88: 47-58.

Gaylord WH, Jr. Intracellular forms of meningoepneumonitis virus. *J Exp Med* 1954; 100: 575-80.

Geisinger KR, Cassidy KT, Nardi R, Castell DO. The histologic development of acid-induced esophagitis in the cat. *Mod Pathol* 1990; 3: 619-24.

Gelatt KN, van der Woerdt A, Ketring KL, Andrew SE, Brooks DE, Biros DJ, Denis HM, Cutler TJ. Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet Ophthalmol* 2001; 4: 99-106.

Genot MT, Golan HP, Porter PJ, Kass EH. Effect of administration of tetracycline in pregnancy on the primary dentition of the offspring. *J Oral Med* 1970; 25: 75-9.

Gerding PA, Jr., Cormany K, Weisiger R, Kakoma I. Survey and topographic distribution of bacterial and fungal microorganisms in eyes of clinically normal cats. *Feline Pract* 1993; 21: 20-3.

Gerhardt N, Schulz BS, Werckenthin C, Hartmann K. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its efficacy in comparison with doxycycline in the treatment of *Chlamydomphila felis* infection in cats with conjunctivitis. Vet Rec 2006; 159: 591-4.

German AJ, Cannon MJ, Dye C, Booth MJ, Pearson GR, Reay CA, Gruffydd-Jones TJ. Oesophageal strictures in cats associated with doxycycline therapy. J Feline Med Surg 2005; 7: 33-41.

Gethings PM, Stephens GL, Wills JM, Howard P, Balfour AH, Wright AI, Morgan KL. Prevalence of *Chlamydia*, *Toxoplasma*, *Toxocara* and ringworm in farm cats in South-West England. Vet Rec 1987; 121: 213-6.

Giger M, Sonnenberg A, Brandli H, Singeisen M, Guller R, Blum AL. Das Tetracyclin-Ulkus der Speiseröhre. Klinisches Bild und *In-vitro*-Untersuchungen. Dtsch Med Wochenschr 1978; 103: 1038-40.

Gilbert RO, Oettle EE. An outbreak of granulomatous vulvitis in feedlot heifers. J S Afr Vet Assoc 1990; 61: 41-3.

Giron JA, Lange M, Baseman JB. Adherence, fibronectin binding, and induction of cytoskeleton reorganization in cultured human cells by *Mycoplasma penetrans*. Infect Immun 1996; 64: 197-208.

Giuliano EA, van der Woerd A. Feline retinal degeneration: clinical experience and new findings (1994-1997). J Am Anim Hosp Assoc 1999; 35: 511-4.

Glette J, Sandberg S. Phototoxicity of tetracyclines as related to singlet oxygen production and uptake by polymorphonuclear leukocytes. Biochem Pharmacol 1986; 35: 2883-5.

Gordon FB, Weiss E, Quan AL, Dressler HR. Observations on guinea pig inclusion conjunctivitis agent. J Infect Dis 1966; 116: 203-7.

Gough AW, Kasali OB, Sigler RE, Baragi V. Quinolone arthropathy - acute toxicity to immature articular cartilage. Toxicol Pathol 1992; 20: 436-50.

Gourlay RN, Howard CJ, Thomas LH, Wyld SG. Pathogenicity of some *Mycoplasma* and *Acholeplasma* species in the lungs of gnotobiotic calves. Res Vet Sci 1979; 27: 233-7.

Gourlay RN, Wyld SG, Burke NF, Edmonds MJ. Isolation of *Mycoplasma canadense* from an outbreak of bovine mastitis in England. Vet Rec 1978; 103: 74-5.

Graham JP, Lipman AH, Newell SM, Roberts GD. Esophageal transit of capsules in clinically normal cats. Am J Vet Res 2000; 61: 655-7.

Grahn BH, Storey ES, Cullen CL. History and clinical signs. Can Vet J 2002; 43: 137-8.

Gray LD, Ketring KL, Tang YW. Clinical use of 16S rRNA gene sequencing to identify *Mycoplasma felis* and *M. gateae* associated with feline ulcerative keratitis. J Clin Microbiol 2005; 43: 3431-4.

Grayston JT, Kuo CC, Wang SP, Altman J. A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. N Engl J Med 1986; 315: 161-8.

Greene CE. Chlamydial infections. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 2nd ed. Greene CE, ed. Philadelphia: W. B. Saunders 1998; 172-4.

Greene CE. Chlamydial infections. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006a; 245-52.

Greene CE. Mycoplasmal, ureaplasma, and L-form infections. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006b; 260-5.

Greene CE, Hartmann K, Calpin J. Antimicrobial drug formulary. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 1186-333.

Greene CE, Prescott JF. Streptococcal and other Gram-positive bacterial infections. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 302-16.

Greene CE, Watson ADJ. Antibacterial chemotherapy. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 274-301.

Greub G, Raoult D. *Parachlamydiaceae*: potential emerging pathogens. Emerg Infect Dis 2002; 8: 625-30.

Griffiths NM, Hirst BH, Simmons NL. Active secretion of the fluoroquinolone ciprofloxacin by human intestinal epithelial Caco-2 cell layers. Br J Pharmacol 1993; 108: 575-6.

Griffiths NM, Hirst BH, Simmons NL. Active intestinal secretion of the fluoroquinolone antibacterials ciprofloxacin, norfloxacin and pefloxacin; a common secretory pathway? J Pharmacol Exp Ther 1994; 269: 496-502.

Griffiths P. *Chlamydophila pecorum*: clinical signs. In: www.chlamydiae.com, Ward M, ed. 2002a, www.chlamydiae.com/restricted/docs/infections/vet_cpecorum_clinical.asp, Zugang am 14.06.2006.

Griffiths P. *Chlamydophila psittaci* in birds: clinical signs. In: www.chlamydiae.com, Ward M, ed. 2002b, www.chlamydiae.com/restricted/docs/infections/vet_cpsbirds_clinicalsigns.asp, Zugang am 13.04.2006.

Griffiths P. *Chlamydophila psittaci*: clinical signs in humans. In: www.chlamydiae.com, Ward M, ed. 2002c, www.chlamydiae.com/restricted/docs/infections/vet_cps_clinicalsignshumans.asp, Zugang am 13.04.2006.

Griffiths P, Everett KD, Ward M. *Chlamydia suis*. In: www.chlamydiae.com, Ward M, ed. 2003, www.chlamydiae.com/restricted/docs/infections/vet_C.suis.asp, Zugang am 13.04.2006.

Griffiths PD, Lechler RI, Treharne JD. Unusual chlamydial infection in a human renal allograft recipient. Br Med J 1978; 2: 1264-5.

Gruffydd-Jones TJ, Jones BR, Hodge H, Rice M, Gething MA. *Chlamydia* infection in cats in New Zealand. N Z Vet J 1995; 43: 201-3.

Gulbahar MY, Gurturk K. Pyothorax associated with a *Mycoplasma* sp and *Arcanobacterium pyogenes* in a kitten. Aust Vet J 2002; 80: 344-5.

Gunn-Moore DA, Werrett G, Harbour DA, Feilden H, Gruffydd-Jones TJ. Prevalence of *Chlamydia psittaci* antibodies in healthy pet cats in Britain. Vet Rec 1995; 136: 366-7.

Guzey M, Aslan G, Ozardali I, Basar E, Satici A, Karadede S. Three-day course of oral azithromycin vs topical oxytetracycline/polymyxin in treatment of active endemic trachoma. Jpn J Ophthalmol 2000; 44: 387-91.

Gwee MC. Can tetracycline-induced fatty liver in pregnancy be attributed to choline deficiency? Med Hypotheses 1982; 9: 157-62.

Haesebrouck F, Devriese LA, van Rijssen B, Cox E. Incidence and significance of isolation of *Mycoplasma felis* from conjunctival swabs of cats. Vet Microbiol 1991; 26: 95-101.

Hammerschlag MR. Activity of trimethoprim-sulfamethoxazole against *Chlamydia trachomatis* *in vitro*. Rev Infect Dis 1982; 4: 500-5.

Hamp SE. The tetracyclines and their effect on teeth. A clinical study. Odontol Tidskr 1967; 75: 33-49.

Hampshire VA, Doddy FM, Post LO, Koogler TL, Burgess TM, Batten PO, Hudson R, McAdams DR, Brown MA. Adverse drug event reports at the United States Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine. J Am Vet Med Assoc 2004; 225: 533-6.

Hamre D, Rake G. Feline pneumonitis (Baker), a new member of the lymphogranuloma-psittacosis group of agents. J Infect Dis 1944; 74: 208-11.

Hannan PC, O'Hanlon PJ, Rogers NH. *In vitro* evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. Res Vet Sci 1989; 46: 202-11.

Hannan PC, Windsor GD, de Jong A, Schmeer N, Stegemann M. Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic mycoplasmas to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 1997a; 41: 2037-40.

Hannan PC, Windsor HM, Ripley PH. *In vitro* susceptibilities of recent field isolates of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyosynoviae* to valnemulin (Econor), tiamulin and enrofloxacin and the *in vitro* development of resistance to certain antimicrobial agents in *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Res Vet Sci* 1997b; 63: 157-60.

Hanselaer JR, Derore A, Boucherie P. Demonstration of *Chlamydia psittaci* in feline conjunctivitis cases in Belgium. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr* 1989; 58: 165-8.

Hansen CH, Pearson LH, Schenker S, Combes B. Impaired secretion of triglycerides by the liver; a cause of tetracycline-induced fatty liver. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968; 128: 143-6.

Harasawa R, Imada Y, Ito M, Koshimizu K, Cassell GH, Barile MF. *Ureaplasma felinum* sp. nov. and *Ureaplasma cati* sp. nov. isolated from the oral cavities of cats. *Int J Syst Bacteriol* 1990; 40: 45-51.

Harasawa R, Yamamoto K, Ogata M. Isolation of T-mycoplasmas from cats in Japan. *Microbiol Immunol* 1977; 21: 179-81.

Harbour DA, Howard PE, Gaskell RM. Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats (1980 to 1989). *Vet Rec* 1991; 128: 77-80.

Hargis AM, Prieur DJ, Gaillard ET. Chlamydial infection of the gastric mucosa in twelve cats. *Vet Pathol* 1983; 20: 170-8.

Harley R, Herring A, Egan K, Howard P, Gruffydd-Jones T, Azuma Y, Shirai M, Helps C. Molecular characterisation of 12 *Chlamydophila felis* polymorphic membrane protein genes. *Vet Microbiol* 2007; doi: 10.1016/j.vetmic.2007.04.022.

Hartley JC, Stevenson S, Robinson AJ, Littlewood JD, Carder C, Cartledge J, Clark C, Ridgway GL. Conjunctivitis due to *Chlamydophila felis* (*Chlamydia psittaci* feline pneumonitis agent) acquired from a cat: case report with molecular characterization of isolates from the patient and cat. *J Infect* 2001; 43: 7-11.

Heggie AD, Jaffe AC, Stuart LA, Thombre PS, Sorensen RU. Topical sulfacetamide vs oral erythromycin for neonatal chlamydial conjunctivitis. *Am J Dis Child* 1985; 139: 564-6.

Heilmann C, Jensen L, Jensen JS, Lundstrom K, Windsor D, Windsor H, Webster D. Treatment of resistant *Mycoplasma* infection in immunocompromised patients with a new pleuromutilin antibiotic. *J Infect* 2001; 43: 234-8.

Helps C, Reeves N, Egan K, Howard P, Harbour D. Detection of *Chlamydophila felis* and feline herpesvirus by multiplex real-time PCR analysis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2734-6.

Helps C, Reeves N, Tasker S, Harbour D. Use of real-time quantitative PCR to detect *Chlamydophila felis* infection. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2675-6.

Helps CR, Lait P, Damhuis A, Bjornehammar U, Bolta D, Brovida C, Chabanne L, Egberink H, Ferrand G, Fontbonne A, Pennisi MG, Gruffydd-Jones T, Gunn-Moore D, Hartmann K, Lutz H, Malandain E, Mostl K, Stengel C, Harbour DA, Graat EA. Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydophila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. *Vet Rec* 2005; 156: 669-73.

Hennon DK. Dental aspects of tetracycline therapy: literature review and results of a prevalence survey. *J Indiana State Dent Assoc* 1965; 44: 484-92.

Heyward JT, Sabry MZ, Dowdle WR. Characterization of *Mycoplasma* species of feline origin. *Am J Vet Res* 1969; 30: 615-22.

Higashi N. Electron microscopic studies on the mode of reproduction of trachoma virus and psittacosis virus in cell cultures. *Exp Mol Pathol* 1965; 76: 24-39.

Hildebrand H, Kempka G, Schluter G, Schmidt M. Chondrotoxicity of quinolones *in vivo* and *in vitro*. *Arch Toxicol* 1993; 67: 411-5.

Hill A. Further studies on the morphology and isolation of feline mycoplasmas. *J Small Anim Pract* 1971; 12: 219-23.

Hill A. The isolation of *Mycoplasma arginini* from captive wild cats. *Vet Rec* 1972; 91: 224-5.

Hill A. Comparison of mycoplasmas isolated from captive wild felines. *Res Vet Sci* 1975; 18: 139-45.

Hill AC. *Mycoplasma felifaucium*, a new species isolated from the respiratory tract of pumas. *J Gen Microbiol* 1986; 132: 1923-8.

Hill AC. *Mycoplasma simbae* sp. nov., *Mycoplasma leopharyngis* sp. nov., and *Mycoplasma leocaptivus* sp. nov., isolated from lions. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42: 518-23.

Himmelreich R, Hilbert H, Plagens H, Pirkl E, Li BC, Herrmann R. Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 4420-49.

Hinton NA. The effect of oral tetracycline HCl and doxycycline on the intestinal flora. *Curr Ther Res Clin Exp* 1970; 12: 341-52.

Hirsh DC, Biberstein EL. *Chlamydiaceae*. In: *Veterinary Microbiology*, 2nd ed. Hirsh DC, MacLachan NJ, Walker RL, eds. Ames, Iowa: Blackwell 2004; 235-9.

Hodgin LA, Hogenauer G. The mode of action of pleuromutilin derivatives. Effect on cell-free polypeptide synthesis. *Eur J Biochem* 1974; 47: 527-33.

Hof H, Dörries R. *Medizinische Mikrobiologie*, 3rd ed. Mannheim: Georg Thieme 2005; 447-51.

Hoffman AM, Baird JD, Kloeze HJ, Rosendal S, Bell M. *Mycoplasma felis* pleuritis in two show-jumper horses. *Cornell Vet* 1992; 82: 155-62.

Hoffman AM, Viel L, Muckle CA, Tesarowski DB. Evaluation of a guarded bronchoscopic method for microbial sampling of the lower airways in foals. *Can J Vet Res* 1991; 55: 325-31.

Hogenauer G. The mode of action of pleuromutilin derivatives. Location and properties of the pleuromutilin binding site on *Escherichia coli* ribosomes. *Eur J Biochem* 1975; 52: 93-8.

Holst BS, Englund L, Palacios S, Renstrom L, Berndtsson LT. Prevalence of antibodies against feline coronavirus and *Chlamydophila felis* in Swedish cats. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 207-11.

Hooper PT, Ireland LA, Carter A. *Mycoplasma polyarthritidis* in a cat with probable severe immune deficiency. *Aust Vet J* 1985; 62: 352.

Hoover EA, Kahn DE, Langloss JM. Experimentally induced feline chlamydial infection (feline pneumonitis). *Am J Vet Res* 1978; 39: 541-7.

Horn M, Wagner M, Muller KD, Schmid EN, Fritsche TR, Schleifer KH, Michel R. *Neochlamydia hartmannellae* gen. nov., sp. nov. (*Parachlamydiaceae*), an endoparasite of the amoeba *Hartmannella vermiformis*. *Microbiology* 2000; 146: 1231-9.

Hoskins JD, Williams J, Roy AF, Peters JC, McDonough P. Isolation and characterization of *Bordetella bronchiseptica* from cats in southern Louisiana. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 65: 173-6.

Humphery-Smith I, Cordwell SJ, Blackstock WP. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds. *Electrophoresis* 1997; 18: 1217-42.

Ibsen HH, Lasthein Andersen B. Photo-onycholysis due to tetracycline-hydrochloride. *Acta Derm Venereol* 1983; 63: 555-7.

Iwamoto K, Masubuchi K, Nosaka H, Kokubu T, Nishida K, Toshida T, Yamanaka M. Isolation of *Chlamydia psittaci* from domestic cats with oculonasal discharge in Japan. *J Vet Med Sci* 2001; 63: 937-8.

Jackson G, Boughton E, Hamer SG. An outbreak of bovine mastitis associated with *Mycoplasma canadense*. *Vet Rec* 1981; 108: 31-2.

Jackson LA, Campbell LA, Kuo CC, Rodriguez DI, Lee A, Grayston JT. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from a carotid endarterectomy specimen. *J Infect Dis* 1997; 176: 292-5.

Jacobs AA, Chalmers WS, Pasma J, van Vugt F, Cuenen LH. Feline bordetellosis: challenge and vaccine studies. *Vet Rec* 1993; 133: 260-3.

Jaehde U, Sorgel F, Naber KG, Zurcher J, Schunack W. Distribution kinetics of enoxacin and its metabolite oxoenoxacin in excretory fluids of healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2092-7.

Jahn GJ, Bialasiewicz AA. Keratoconjunctivitis caused by *Chlamydia psittaci*. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1986; 188: 47-9.

Jaspersen D. Drug-induced oesophageal disorders: pathogenesis, incidence, prevention and management. *Drug Saf* 2000; 22: 237-49.

Jenkin HM. Preparation and properties of cell walls of the agent of meningopneumonitis. *J Bacteriol* 1960; 80: 639-47.

Johannisson G, Lowhagen GB, Lycke E. Genital *Chlamydia trachomatis* infection in women. *Obstet Gynecol* 1980; 56: 671-5.

Johnson FW, Clarkson MJ, Spencer WN. Susceptibility of *Chlamydia psittaci* (ovis) to antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 1983; 11: 413-8.

Johnson LR, Drazenovich NL, Foley JE. A comparison of routine culture with polymerase chain reaction technology for the detection of *Mycoplasma* species in feline nasal samples. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 347-51.

Johnson LR, Foley JE, De Cock HE, Clarke HE, Maggs DJ. Assessment of infectious organisms associated with chronic rhinosinusitis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 579-85.

Johnsrude JD, Christopher MM, Lung NP, Brown MB. Isolation of *Mycoplasma felis* from a serval (*Felis serval*) with severe respiratory disease. *J Wildl Dis* 1996; 32: 691-4.

Jones RB, Van der Pol B, Martin DH, Shepard MK. Partial characterization of *Chlamydia trachomatis* isolates resistant to multiple antibiotics. *J Infect Dis* 1990; 162: 1309-15.

Jones RF, Sabine M. The isolation of Mycoplasmas from clinically normal cats. *Aust Vet J* 1970; 46: 343.

Jordan DG. Azithromycin. *Comp Contin Educ Prac Vet* 2001; 23: 242-69.

Jordan FT, Forrester CA, Ripley PH, Burch DG. *In vitro* and *in vivo* comparisons of valnemulin, tiamulin, tylosin, enrofloxacin, and lincomycin/spectinomycin against *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Dis 1998; 42: 738-45.

Jusko WJ, Milsap RL. Pharmacokinetic principles of drug distribution in saliva. Ann N Y Acad Sci 1993; 694: 36-47.

Kadayifci A, Gulsen MT, Koruk M, Savas MC. Doxycycline-induced pill esophagitis. Dis Esophagus 2004; 17: 168-71.

Kahane S, Greenberg D, Friedman MG, Haikin H, Dagan R. High prevalence of "Simkania Z," a novel *Chlamydia*-like bacterium, in infants with acute bronchiolitis. J Infect Dis 1998; 177: 1425-9.

Kalman S, Mitchell W, Marathe R, Lammel C, Fan J, Hyman RW, Olinger L, Grimwood J, Davis RW, Stephens RS. Comparative genomes of *Chlamydia pneumoniae* and *C. trachomatis*. Nat Genet 1999; 21: 385-9.

Kaltenboeck B, Kousoulas KG, Storz J. Two-step polymerase chain reactions and restriction endonuclease analyses detect and differentiate ompA DNA of *Chlamydia* spp. J Clin Microbiol 1992; 30: 1098-104.

Kane JL, Woodland RM, Elder MG, Darougar S. Chlamydial pelvic infection in cats: a model for the study of human pelvic inflammatory disease. Genitourin Med 1985; 61: 311-8.

Kato M, Onodera T. Morphological investigation of cavity formation in articular cartilage induced by ofloxacin in rats. Fundam Appl Toxicol 1988; 11: 110-9.

Kaufman AC, Greene CE. Increased alanine transaminase activity associated with tetracycline administration in a cat. J Am Vet Med Assoc 1993; 202: 628-30.

Kavanagh F, Hervey A, Robbins WJ. Antibiotic substances from *Basidiomycetes*: VIII. *Pleurotus multilus* (Fr.) Sacc. and *Pleurotus passeckerianus* Pilat. Proc Natl Acad Sci USA 1951; 37: 570-4.

Keane DP. Chronic abscesses in cats associated with an organism resembling *Mycoplasma*. Aust Vet J 1983; 24: 289-91.

Keller SJ. Augenveränderungen bei der Katze durch *Chlamydia psittaci*. Kleintierpraxis 1988; 33: 157-60.

Kelton WH. Growth-curve studies of pleuropneumonia-like organisms. Ann N Y Acad Sci 1960; 79: 422-9.

Kenny GE, Cartwright FD. Susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* to several new quinolones, tetracycline, and erythromycin. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 587-9.

Khan MA, Potter CW, Sharrard RM. A reverse transcriptase-PCR based assay for *in-vitro* antibiotic susceptibility testing of *Chlamydia pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 1996; 37: 677-85.

Kik MJ, van der Hage MH, Greydanus-van der Putten SW. Chlamydiosis in a fishing cat (*Felis viverrina*). J Zoo Wildl Med 1997; 28: 212-4.

Kirchhoff H, Ammar AM, Heitmann J, Dubenkropp H, Schmidt R. Serological investigation of horse sera for antibodies against mycoplasmas and achleplasmas. Vet Microbiol 1982; 7: 147-56.

Knecht E. Viruskrankheiten der Kopfschleimhäute sowie des Respirationstraktes bei Katzen. Virologische und serologische Befunde. Diss Vet Med, Giessen, 1979.

Kobayashi H, Morozumi T, Munthali G, Mitani K, Ito N, Yamamoto K. Macrolide susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis* isolated from piglets. Antimicrob Agents Chemother 1996a; 40: 1030-2.

Kobayashi H, Sonmez N, Morozumi T, Mitani K, Ito N, Shiono H, Yamamoto K. *In vitro* susceptibility of *Mycoplasma hyosynoviae* and *M. hyorhinis* to antimicrobial agents. J Vet Med Sci 1996b; 58: 1107-11.

Kobayashi Y, Ohshiro N, Sakai R, Ohbayashi M, Kohyama N, Yamamoto T. Transport mechanism and substrate specificity of human organic anion transporter 2 (hOat2 [SLC22A7]). J Pharm Pharmacol 2005; 57: 573-8.

Kolar JR, Rude TA. Duration of immunity in cats inoculated with a commercial feline pneumonitis vaccine. Vet Med Small Anim Clin 1981; 76: 1171-3.

Koshimizu K, Kotani H, Ito M, Tashiro K, Masui M, Tanabe K, Kawasaki I, Saito K, Hiramatsu H. Further isolation of mycoplasmas from zoo-animals. *Nippon Juigaku Zasshi* 1984; 46: 129-32.

Kraybill WH, Crawford YE. A selective medium and color test for *Mycoplasma pneumoniae*. *Proc Soc Exp Biol Med* 1965; 118: 965-70.

Kroker R. Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, 5th ed. Loescher W, Ungemach FR, Kroker R, eds. Berlin: Parey Buchverlag 2002; 205-44.

Kroker R, Scherkl R, Ungemach FR. Chemotherapie bakterieller Infektionen. In: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie fuer die Veterinärmedizin*, 2nd ed. Loescher W, Frey W, eds. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag 2002; 353-89.

Kruger JM, Osborne CA. The role of uropathogens in feline lower urinary tract disease. Clinical implications. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993; 23: 101-23.

Kruth SA. Gram-negative bacterial infections. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. Greene CE, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 320-30.

Küng K, Wanner M. Einfluß zweier verschiedener Futter auf die Pharmacokinetik von oral appliziertem Baytril[®] (Enrofloxacin) beim Hund. *Kleintierpraxis* 1993; 38: 95-102.

Kunkle GA, Sundlof S, Keisling K. Adverse side effects of oral antibacterial therapy in dogs and cats: an epidemiologic study of pet owners' observations. *J Am Anim Hosp Assoc* 1995; 31: 46-55.

Kvaal K. The side-effects of tetracyclines on teeth and bone in children. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1965; 85: 181-4.

Lang GH. Prevalence of antibodies to *Coxiella* and *Chlamydia* spp. in cats in Ontario. *Can Vet J* 1992; 33: 134.

Langford EV, Ruhnke HL, Onoviran O. *Mycoplasma canadense*, a new bovine species. *Int J Syst Bacteriol* 1976; 26: 212-9.

Lanza FL. Esophageal ulceration produced by doxycycline. *Curr Ther Res Clin Exp* 1988; 44: 475-84.

Lappin MR, Wu CC, Spindel M. Evaluation of Pradofloxacin for the treatment of rhinitis in cats. Proceedings of the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, 2006; 46-7.

Layton AM, Cunliffe WJ. Phototoxic eruptions due to doxycycline - a dose-related phenomenon. *Clin Exp Dermatol* 1993; 18: 425-7.

Lazarowicz M. A serological survey in cats for antibodies to respiratory viruses and *Chlamydia*. *Z Versuchstierkd* 1977; 19: 325.

Lazarowicz M, Steck F, Kihm U, Moehl H. Respiratory infections of the cat. A serological survey in different populations. *Zentralbl Veterinarmed B* 1982; 29: 769-75.

Lefevre JC, Lepargneur JP. Comparative in vitro susceptibility of a tetracycline-resistant *Chlamydia trachomatis* strain isolated in Toulouse (France). *Sex Transm Dis* 1998; 25: 350-2.

Lefevre JC, Lepargneur JP, Guion D, Bei S. Tetracycline-resistant *Chlamydia trachomatis* in Toulouse, France. *Pathol Biol (Paris)* 1997; 45: 376-8.

Leirisalo-Repo M. Are antibiotics of any use in reactive arthritis? *APMIS* 1993; 101: 575-81.

Levinthal W. Die Ätiologie der Psittakosis. *Klin Wochenschr* 1930; 9: 654-9.

Lewis M, Schenker S, Combes B. Studies on the pathogenesis of tetracycline-induced fatty liver. *Am J Dig Dis* 1967; 12: 429-38.

Li Q, Naora K, Hirano H, Okunishi H, Iwamoto K. Comparative study on salivary distribution of fluoroquinolones in rats. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1084-9.

Lieberman D, Dvoskin B, Lieberman DV, Kahane S, Friedman MG. Serological evidence of acute infection with the *Chlamydia*-like microorganism *Simkania negevensis* (Z) in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 307-9.

Lieberman D, Kahane S, Friedman MG. Pneumonia with serological evidence of acute infection with the *Chlamydia*-like microorganism "Z". *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 578-82.

Liehm L, Degasperis B, Spargser J, Niebauer GW. *Mycoplasma felis* arthritis in two cats. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 476-9.

Lillie RD. Psittacosis: *Rickettsia*-like inclusions in man and in experimental animals. *Public Health Rep* 1930; 45: 773-5.

Lipman NS, Yan LL, Murphy JC. Probable transmission of *Chlamydia psittaci* from a macaw to a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1479-80.

Litwin J. The growth cycle of the psittacosis group of micro-organisms. *J Infect Dis* 1959; 105: 129-60.

Litwin J, Officer JE, Brown A, Moulder JW. A comparative study of the growth cycles of different members of the psittacosis group in different host cells. *J Infect Dis* 1961; 109: 251-79.

Lo SC, Hayes MM, Kotani H, Pierce PF, Wear DJ, Newton PB, 3rd, Tully JG, Shih JW. Adhesion onto and invasion into mammalian cells by *Mycoplasma penetrans*: a newly isolated *Mycoplasma* from patients with AIDS. *Mod Pathol* 1993; 6: 276-80.

Löbau S, Mamat U, Brabetz W, Brade H. Molecular cloning, sequence analysis, and functional characterization of the lipopolysaccharide biosynthetic gene *kdtA* encoding 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid transferase of *Chlamydia pneumoniae* strain TW-183. *Mol Microbiol* 1995; 18: 391-9.

Loeser RF. Modulation of integrin-mediated attachment of chondrocytes to extracellular matrix proteins by cations, retinoic acid, and transforming growth factor beta. *Exp Cell Res* 1994; 211: 17-23.

Loria GR, Sammartino C, Nicholas RA, Ayling RD. *In vitro* susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Res Vet Sci* 2003; 75: 3-7.

Low HC, Powell CC, Veir JK, Hawley JR, Lappin MR. Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. Am J Vet Res 2007; 68: 643-8.

Lowes S, Simmons NL. Multiple pathways for fluoroquinolone secretion by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. Br J Pharmacol 2002; 135: 1263-75.

MacCulloch D, Richardson RA, Allwood GK. The penetration of doxycycline, oxytetracycline and minocycline into sputum. N Z Med J 1974; 80: 300-2.

Mackie DP, Finlay D, Brice N, Ball HJ. Mixed mycoplasma mastitis outbreak in a dairy herd. Vet Rec 2000; 147: 335-6.

Madison JF. Tetracycline pigmentation of teeth. Arch Dermatol 1963; 88: 58-9.

Majcherczyk J, Szymanska-Jachimczak EI. Discoloration of the teeth and bones in young animals caused by tetracycline. Zahnarztl Prax 1965; 16: 61-3.

Malik R, Love DN, Hunt GB, Canfield PJ, Taylor V. Pyothorax associated with a *Mycoplasma* species in a kitten. J Small Anim Pract 1991; 32: 31-4.

Manchee RJ, Taylor-Robinson D. Haemadsorption and haemagglutination by mycoplasmas. J Gen Microbiol 1968; 50: 465-78.

Maniloff J. Phylogeny of mycoplasmas. In: Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis, Maniloff J, McElhaney RN, Finch LR, Baseman JB, eds. Washington, D.C.: American Society for Microbiology 1992; 549-59.

Mann GE, Smaje LH, Yudilevich DL. Permeability of the fenestrated capillaries in the cat submandibular gland to lipid-insoluble molecules. J Physiol 1979; 297: 335-54.

Marsilio F, Di Martino B, Aguzzi I, Meridiani I. Duplex polymerase chain reaction assay to screen for feline herpesvirus-1 and *Chlamydomphila* spp. in mucosal swabs from cats. Vet Res Commun 2004a; 28 (Supplement 1): 295-8.

Marsilio F, Di Martino B, Di Francesco C. Use of a duplex-PCR assay to screen for feline herpesvirus-1 and *Chlamydophila* spp. in mucosal swabs from cats. *New Microbiol* 2004b; 27: 287-92.

Martin CL. Feline ophthalmologic diseases. Conjunctival diseases. *Mod Vet Pract* 1981; 62: 929-33.

Martin CL. Feline ophthalmology. Proceedings of the 13th KalKan Symposium, Columbus, 1989; 61-72.

Masubuchi K, Nosaka H, Iwamoto K, Kokubu T, Yamanaka M, Shimizu Y. Experimental infection of cats with *Chlamydophila felis*. *J Vet Med Sci* 2002; 64: 1165-8.

McCabe SJ, Murray JF, Ruhnke HL, Rachlis A. *Mycoplasma* infection of the hand acquired from a cat. *J Hand Surg [Am]* 1987; 12: 1085-8.

McChesney SL, England JJ, McChesney AE. *Chlamydia psittaci* induced pneumonia in a horse. *Cornell Vet* 1982; 72: 92-7.

McDonald M, Willett BJ, Jarrett O, Addie DD. A comparison of DNA amplification, isolation and serology for the detection of *Chlamydia psittaci* infection in cats. *Vet Rec* 1998; 143: 97-101.

McGrotty YL, Knottenbelt CM. Oesophageal stricture in a cat due to oral administration of tetracyclines. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 221-3.

McKellar QA, Sanchez Bruni SF, Jones DG. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 503-14.

McKercher DG. Feline pneumonitis. I. Immunization studies in kittens. *Am J Vet Res* 1952; 13: 557-61.

Melendez LD, Twedt DC, Wright M. Suspected doxycycline-induced esophagitis with esophageal stricture formation in three cats. *Feline Pract* 2000; 28: 10-2.

Michel G, Mosser J, Olle J. Pharmacokinetics and tissue localization of doxycycline polyphosphate and doxycycline hydrochloride in the rat. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1984; 9: 149-53.

Miles RJ. Catabolism in mollicutes. *J Gen Microbiol* 1992; 138: 1773-83.

Mitsui Y, Fujimoto M, Kajima M. Development and morphology of trachoma agent in the yolk sac cell as revealed by electron microscopy. *Virology* 1964; 23: 30-45.

Mitsui Y, Suzuki A. Electron microscopy of trachoma virus in section. *AMA Arch Ophthalmol* 1956; 56: 429-48.

Mitsui Y, Suzuki A, Hanabusa J, Minoda R, Ogata S, Fukushima S, Miura M. Structures of the initial bodies of trachoma inclusion as revealed in section by electron microscopy. *Virology* 1958; 6: 137-49.

Mitzel JR, Strating A. Vaccination against feline pneumonitis. *Am J Vet Res* 1977; 38: 1361-3.

Miyashita N, Fukano H, Mouri K, Fukuda M, Yoshida K, Kobashi Y, Niki Y, Oka M. Community-acquired pneumonia in Japan: a prospective ambulatory and hospitalized patient study. *J Med Microbiol* 2005; 54: 395-400.

Miyashita N, Matsumoto A, Soejima R, Kubota Y, Kishimoto T, Nakajima M, Niki Y, Matsushima T. Evaluation of a direct fluorescent antibody assay for detection of *Chlamydia pneumoniae*. *Kansenshogaku Zasshi* 1996; 70: 224-31.

Mochizuki M, Kawakami K, Hashimoto M, Ishida T. Recent epidemiological status of feline upper respiratory infections in Japan. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 801-3.

Moffitt JM, Cooley RO, Olsen NH, Hefferren JJ. Prediction of tetracycline-induced tooth discoloration. *J Am Dent Assoc* 1974; 88: 547-52.

Moise NS, Crissman JW, Fairbrother JF, Baldwin C. *Mycoplasma gateae* arthritis and tenosynovitis in cats: case report and experimental reproduction of the disease. *Am J Vet Res* 1983; 44: 16-21.

Monnickendam MA, Pearce JH. Immune responses and chlamydial infections. *Br Med Bull* 1983; 39: 187-93.

Morange A. De la Psittacose ou infection spéciale déterminée par des perruches. Thèse, Paris, 1895.

Morley PS, Chirino-Trejo M, Petrie L, Krupka L, Schwab M. Pericarditis and pleuritis caused by *Mycoplasma felis* in horse. *Equine Vet J* 1996; 28: 237-40.

Morrissey I, Salman H, Bakker S, Farrell D, Bebear CM, Ridgway G. Serial passage of *Chlamydia* spp. in sub-inhibitory fluoroquinolone concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 757-61.

Moulder JW. The relation of the psittacosis group (*Chlamydiae*) to bacteria and viruses. *Annu Rev Microbiol* 1966; 20: 107-30.

Moulder JW, Weiss E. Purification and properties of the agent of feline pneumonitis. *J Infect Dis* 1951; 88: 56-67.

Murray ES. Guinea pig inclusion conjunctivitis virus. I. Isolation and identification as a member of the psittacosis-lymphogranuloma-trachoma group. *J Infect Dis* 1964; 114: 1-12.

Nagatomo H, Takegahara Y, Sonoda T, Yamaguchi A, Uemura R, Hagiwara S, Sueyoshi M. Comparative studies of the persistence of animal mycoplasmas under different environmental conditions. *Vet Microbiol* 2001; 82: 223-32.

Nasisse MP, Guy JS, Stevens JB, English RV, Davidson MG. Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 834-7.

Neimark H, Johansson KE, Rikihisa Y, Tully JG. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of '*Candidatus Mycoplasma haemofelis*', '*Candidatus Mycoplasma haemomuris*', '*Candidatus Mycoplasma haemosuis*' and '*Candidatus Mycoplasma wenyonii*'. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 891-9.

Neimark H, Johansson KE, Rikihisa Y, Tully JG. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 683.

Newton JR, Wood JL, Chanter N. A case control study of factors and infections associated with clinically apparent respiratory disease in UK Thoroughbred racehorses. *Prev Vet Med* 2003; 60: 107-32.

Nigg C. Unidentified virus which produces pneumonia and systemic infection in mice. *Science* 1942; 95: 49-50.

Niki Y, Kimura M, Miyashita N, Soejima R. *In vitro* and *in vivo* activities of azithromycin, a new azalide antibiotic, against *Chlamydia*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2296-9.

Nowak J. Morphologie, nature et cycle évolutif du microbe de la péripneumonie des bovidés. *Ann Inst Pasteur* 1929; 43: 1330-52.

O'Dair HA, Hopper CD, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA, Waters L. Clinical aspects of *Chlamydia psittaci* infection in cats infected with feline immunodeficiency virus. *Vet Rec* 1994; 134: 365-8.

Ogilvie TH, Rosendal S, Blackwell TE, Rostkowski CM, Julian RJ, Ruhnke L. *Mycoplasma felis* as a cause of pleuritis in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1983; 182: 1374-6.

Opperbeck J. Nebenwirkungen bei der Therapie mit Tetrazyklinen unter besonderer Berücksichtigung der Zahnschäden. *Z Laryngol Rhinol Otol* 1971; 50: 393-401.

Ostler HB, Schachter J, Dawson CR. Acute follicular conjunctivitis of epizootic origin. Feline pneumontis. *Arch Ophthalmol* 1969; 82: 587-91.

Owen LN. Fluorescence of tetracyclines in bone tumours, normal bone and teeth. *Nature* 1961; 190: 500-2.

Owen WM, Sturgess CP, Harbour DA, Egan K, Gruffydd-Jones TJ. Efficacy of azithromycin for the treatment of feline chlamydophilosis. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 305-11.

Padrid PA, Feldman BF, Funk K, Samitz EM, Reil D, Cross CE. Cytologic, microbiologic, and biochemical analysis of bronchoalveolar lavage fluid obtained from 24 healthy cats. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1300-7.

Page LA. Stimulation of cell-mediated immunity of chlamydiosis in turkeys by inoculation of chlamydial bacterin. *Am J Vet Res* 1978; 39: 473-80.

Papich MG, Riviere JE. Fluoroquinolone antimicrobial drugs. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 8th ed. Adams H, ed. Ames: Iowa State University Press 2001; 898-917.

Patamasucon P, Rettig PJ, Faust KL, Kusmiesz HT, Nelson JD. Oral v topical erythromycin therapies for chlamydial conjunctivitis. *Am J Dis Child* 1982; 136: 817-21.

Paul ID. The growth of *Chlamydia* in McCoy cells treated with emetine. *Med Lab Sci* 1982; 39: 15-32.

Pedersen NC. Chlamydiosis. In: *Feline Infectious Diseases*, Pedersen NC, ed. Goletas, California: American Veterinary Publications 1988; 231-6.

Perrin J. Observations on the relationship between viruses of the psittacosis-lymphogranuloma group and the *Rickettsiae*. *J Gen Microbiol* 1952; 6: 143-8.

Pettersson B, Tully JG, Bolske G, Johansson KE. Re-evaluation of the classical *Mycoplasma lipophilum* cluster (Weisburg et al. 1989) and description of two new clusters in the hominis group based on 16S rDNA sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 633-43.

Pettersson B, Uhlen M, Johansson KE. Phylogeny of some mycoplasmas from ruminants based on 16S rRNA sequences and definition of a new cluster within the hominis group. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46: 1093-8.

Pointon AM, Nicholls JM, Neville S, Allanson M, Coles C, Lawrence D. *Chlamydia* infection among breeding catteries in South Australia. *Aust Vet Pract* 1991; 21: 58-63.

Pollack JD, Williams MV, McElhaney RN. The comparative metabolism of the mollicutes (mycoplasmas): the utility for taxonomic classification and the relationship of putative gene annotation and phylogeny to enzymatic function in the smallest free-living cells. *Crit Rev Microbiol* 1997; 23: 269-354.

Porter PJ, Sweeney EA, Golan H, Kass EH. Controlled study of the effect of prenatal tetracycline on primary dentition. *Antimicrobial Agents Chemother* (Bethesda) 1965; 5: 668-71.

Povey RC, Johnson RH. A survey of feline viral rhinotracheitis and feline picornavirus infection in Britain. *J Small Anim Pract* 1971; 12: 233-47.

Pudjiatmoko, Fukushi H, Ochiai Y, Yamaguchi T, Hirai K. Seroepidemiology of feline chlamydiosis by microimmunofluorescence assay with multiple strains as antigens. *Microbiol Immunol* 1996; 40: 755-9.

Purcell RH, Taylor-Robinson D, Wong DC, Chanock RM. A color test for the measurement of antibody to the non-acid-forming human *Mycoplasma* species. *Am J Epidemiol* 1966; 84: 51-66.

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Mycoplasmas. In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, ed. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, eds. Oxford: Blackwell Science Ltd. 2002; 189-95.

Rae AG. Isolation of mycoplasmas from bovine semen. *Vet Rec* 1982; 111: 462.

Rampazzo A, Appino S, Pregel P, Tarducci A, Zini E, Biolatti B. Prevalence of *Chlamydomphila felis* and feline herpesvirus 1 in cats with conjunctivitis in northern Italy. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 799-807.

Ramsey DT. Feline *Chlamydia* and calicivirus infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000; 30: 1015-28.

Randolph JF, Moise NS, Scarlett JM, Shin SJ, Blue JT, Corbett JR. Prevalence of mycoplasmal and ureaplasma recovery from tracheobronchial lavages and of mycoplasmal recovery from pharyngeal swab specimens in cats with or without pulmonary disease. *Am J Vet Res* 1993; 54: 897-900.

Razin S. Physiology of mycoplasmas. *Adv Microb Physiol* 1973; 10: 1-80.

Razin S. The *Mycoplasma* membrane. *Prog Surf Membr Sci* 1975; 9: 257-312.

Razin S. The mycoplasmas. *Microbiol Rev* 1978; 42: 414-70.

Razin S. *Mycoplasma* adherence. In: The Mycoplasmas. Vol. IV: *Mycoplasma* Pathogenicity, Razin S, Barile MF, eds. Orlando: Academic Press 1985; 161-202.

Razin S, Jacobs E. *Mycoplasma* adhesion. J Gen Microbiol 1992; 138: 407-22.

Razin S, Kahane I, Banai M, Brecht W. Adhesion of mycoplasmas to eukaryotic cells. Ciba Found Symp 1981; 80: 98-118.

Razin S, Rottem S. Cholesterol in membranes: studies with mycoplasmas. Trends Biochem Sci 1978; 3: 51-5.

Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiol Mol Biol Rev 1998; 62: 1094-156.

Read TD, Brunham RC, Shen C, Gill SR, Heidelberg JF, White O, Hickey EK, Peterson J, Utterback T, Berry K, Bass S, Linher K, Weidman J, Khouri H, Craven B, Bowman C, Dodson R, Gwinn M, Nelson W, DeBoy R, Kolonay J, McClarty G, Salzberg SL, Eisen J, Fraser CM. Genome sequences of *Chlamydia trachomatis* MoPn and *Chlamydia pneumoniae* AR39. Nucleic Acids Res 2000; 28: 1397-406.

Read TD, Myers GS, Brunham RC, Nelson WC, Paulsen IT, Heidelberg J, Holtzapple E, Khouri H, Federova NB, Carty HA, Umayam LA, Haft DH, Peterson J, Beanan MJ, White O, Salzberg SL, Hsia RC, McClarty G, Rank RG, Bavoil PM, Fraser CM. Genome sequence of *Chlamydophila caviae* (*Chlamydia psittaci* GPIC): examining the role of niche-specific genes in the evolution of the *Chlamydiaceae*. Nucleic Acids Res 2003; 31: 2134-47.

Regan RJ, Dathan JR, Treharne JD. Infective endocarditis with glomerulonephritis associated with cat *Chlamydia* (*C. psittaci*) infection. Br Heart J 1979; 42: 349-52.

Rice RJ, Bhullar V, Mitchell SH, Bullard J, Knapp JS. Susceptibilities of *Chlamydia trachomatis* isolates causing uncomplicated female genital tract infections and pelvic inflammatory disease. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 760-2.

Richmond SJ. The isolation of *Chlamydia* subgroup A (*Chlamydia trachomatis*) in irradiated McCoy cells. Med Lab Technol 1974; 31: 7-9.

Richmond SJ, Caul EO. Fluorescent antibody studies in chlamydial infections. *J Clin Microbiol* 1975; 1: 345-52.

Riond JL, Riviere JE. Doxycycline binding to plasma albumin of several species. *J Vet Pharm Ther* 1989; 12: 253-60.

Riviere JE, Spoo JW. Tetracycline antibiotics. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 8th ed. Adams H, ed. Ames: Iowa State University Press 2001; 828-40.

Rogers DG, Andersen AA. Intestinal lesions caused by two swine chlamydial isolates in gnotobiotic pigs. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 433-40.

Rogers DG, Andersen AA, Hunsaker BD. Lung and nasal lesions caused by a swine chlamydial isolate in gnotobiotic pigs. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 45-55.

Rosendal S. *Mycoplasma cynos*, a new canine *Mycoplasma* species. *Int J Syst Bacteriol* 1973; 23: 49-54.

Rosendal S, Blackwell TE, Lumsden JH, Physick-Sheard PW, Viel L, Watson S, Woods P. Detection of antibodies to *Mycoplasma felis* in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 188: 292-4.

Rosendal S, Vinther O. Experimental mycoplasmal pneumonia in dogs: electron microscopy of infected tissue. *Acta Pathol Microbiol Scand [B]* 1977; 85B: 462-5.

Ross D, Riley R. Physicochemical properties of the fluoroquinolone antimicrobials. V. Effect of fluoroquinolone structure and pH on the complexation of various fluoroquinolones with magnesium and calcium ions. *Appl Pharmacol* 1993; 51: 177-87.

Ross MR, Gogolak FM. The antigenic structure of psittacosis and feline pneumonitis viruses. II. Chemical nature of the alkali-soluble antigens. *Virology* 1957; 3: 365-73.

Rottem S. Interaction of mycoplasmas with host cells. *Physiol Rev* 2003; 83: 417-32.

Rottem S, Cirillo VP, de Kruffy B, Shinitzky M, Razin S. Cholesterol in *Mycoplasma* membranes. Correlation of enzymic and transport activities with physical state of lipids in membranes of *Mycoplasma mycoides* var. *capri* adapted to grow with low cholesterol concentrations. *Biochim Biophys Acta* 1973a; 323: 509-19.

Rottem S, Yashouv Y, Ne'eman Z, Razin S. Cholesterol in *Mycoplasma* membranes. Composition, ultrastructure and biological properties of membranes from *Mycoplasma mycoides* var. *capri* cells adapted to grow with low cholesterol concentrations. *Biochim Biophys Acta* 1973b; 323: 495-508.

Rurangirwa FR, Dilbeck PM, Crawford TB, McGuire TC, McElwain TF. Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order *Chlamydiales*: proposal of *Waddliaceae* fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49: 577-81.

Ryan DM. Pharmacokinetics of antibiotics in natural and experimental superficial compartments in animals and humans. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 1-16.

Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2: 983-6.

Sánchez AR, Rogers RS, 3rd, Sheridan PJ. Tetracycline and other tetracycline-derivative staining of the teeth and oral cavity. *Int J Dermatol* 2004; 43: 709-15.

Sande MA, Mandell GL. Tetracyclines and chloramphenicol. In: *The Pharmacological Basis of Tetracyclines*, 6th ed. Godman LS, Gilman A, eds. New York: Macmillan Publishing 1980; 1181-9.

Sandstrom I. Treatment of neonatal conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1987; 105: 925-8.

Sasabe H, Kato Y, Suzuki T, Itose M, Miyamoto G, Sugiyama Y. Differential involvement of multidrug resistance-associated protein 1 and P-glycoprotein in

tissue distribution and excretion of grepafloxacin in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 310: 648-55.

Sayada C, Andersen A, Rodriguez P, Eb F, Milon A, Elion J, Denamur E. Homogeneity of the major outer membrane protein gene of feline *Chlamydia psittaci*. *Res Vet Sci* 1994; 56: 116-8.

Schach von Wittenau M, Twomey TM. The disposition of doxycycline by man and dog. *Chemotherapy* 1971; 16: 217-28.

Schachter J, Ostler HB, Meyer KF. Human infection with the agent of feline pneumonitis. *Lancet* 1969; 1: 1063-5.

Schachter J, West SK, Mabey D, Dawson CR, Bobo L, Bailey R, Vitale S, Quinn TC, Sheta A, Sallam S, Mkocho H, Faal H. Azithromycin in control of trachoma. *Lancet* 1999; 354: 630-5.

Schluter G. Ciprofloxacin: toxicologic evaluation of additional safety data. *Am J Med* 1989; 87: 37S-9S.

Schmatz HD, Schmatz S, Weber A, Sailer J. Seroepidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Chlamydien bei Haus- und Wildtieren. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 1977; 90: 74-6.

Schmeer N, Ahrens M, Krauss H, Schiefer HG, Weidner W. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von IgG- und IgM-Antikörpern bei Chlamydien-Infektionen des Menschen. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A* 1983; 256: 119-31.

Schmeer N, Jahn GJ, Bialasiewicz AA, Weber A. The cat as a possible infection source for *Chlamydia psittaci* keratoconjunctivitis in humans. *Tierärztl Prax* 1987; 15: 201-4.

Schneck G. *Mycoplasma* in a cat colony. *Vet Med Small Anim Clin* 1973; 68: 381-2.

Schneck GW. *Mycoplasma* species in association with feline viruses. *Vet Rec* 1972; 91: 594-5.

- Schneider R. Doxycycline esophageal ulcers. *Am J Dig Dis* 1977; 22: 805-7.
- Schnorr KL. Chlamydial vaccines. *J Am Vet Med Assoc* 1989; 195: 1548-61.
- Schrickx JA, Fink-Gremmels J. Danofloxacin-mesylate is a substrate for ATP-dependent efflux transporters. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 463-9.
- Schultz JC, Adamson JS, Jr., Workman WW, Norman TD. Fatal liver disease after intravenous administration of tetracycline in high dosage. *N Engl J Med* 1963; 269: 999-1004.
- Schulz BS, Wolf G, Hartmann K. Bacteriological and antibiotic sensitivity test results in 271 cats with respiratory tract infections. *Vet Rec* 2006; 158: 269-70.
- Seeliger HP, Ronde G. Die Wirkung von Tetracyclingenaben auf das kindliche Gebiss bei Listeriosebehandlung von Schwangeren. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1968; 28: 209-23.
- Selbitz H-J. Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, 7th ed. Rolle M, Mayr A, eds. Stuttgart: Enke 2002; 417-588.
- Senior DF, Brown MB. The role of *Mycoplasma* species and *Ureaplasma* species in feline lower urinary tract disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 305-8.
- Sever JL. Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J Immunol* 1962; 88: 320-9.
- Shepard MC, Lunceford CD. Occurrence of urease in T strains of *Mycoplasma*. *J Bacteriol* 1967; 93: 1513-20.
- Shewen PE, Povey RC, Wilson MR. Case report. Feline chlamydial infection. *Can Vet J* 1978a; 19: 289-92.
- Shewen PE, Povey RC, Wilson MR. Feline chlamydial infection. *Can Vet J* 1978b; 19: 289-92.
- Shewen PE, Povey RC, Wilson MR. A comparison of the efficacy of a live and four inactivated vaccine preparations for the protection of cats against

experimental challenge with *Chlamydia psittaci*. Can J Comp Med 1980a; 44: 244-51.

Shewen PE, Povey RC, Wilson MR. A survey of the conjunctival flora of clinically normal cats and cats with conjunctivitis. Can Vet J 1980b; 21: 231-3.

Shirai M, Hirakawa H, Kimoto M, Tabuchi M, Kishi F, Ouchi K, Shiba T, Ishii K, Hattori M, Kuhara S, Nakazawa T. Comparison of whole genome sequences of *Chlamydia pneumoniae* J138 from Japan and CWL029 from USA. Nucleic Acids Res 2000; 28: 2311-4.

Siewert K, Rupp J, Klinger M, Solbach W, Gieffers J. Growth cycle-dependent pharmacodynamics of antichlamydial drugs. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1852-6.

Singer R. The Agaricales in Modern Taxonomy, 4th ed. Königstein: Koeltz Scientific Books 1986; 701.

Sixl W, Stünzer E, Sixl-Voigt B. Serologische Untersuchungen von Wildtier-, Haustier- und Humanseren auf Ornithose. Tbl Bakt Abt I Orig A 1973; 225: 381-6.

Slavik MF, Beasley JN. Mycoplasmal infections of cats. Feline Pract 1992; 20: 12-4.

Smith PF. Amino acid metabolism by pleuropneumoniae-like organisms. I. General catabolism. J Bacteriol 1955; 70: 552-6.

Smith PF. Amino acid metabolism of PPLO. Ann N Y Acad Sci 1960; 79: 543-50.

Somani J, Bhullar VB, Workowski KA, Farshy CE, Black CM. Multiple drug-resistant *Chlamydia trachomatis* associated with clinical treatment failure. J Infect Dis 2000; 181: 1421-7.

Somerson NL, Morton HE. Reduction of tetrazolium salts by pleuropneumoniae-like organisms. J Bacteriol 1953; 65: 245-51.

Somerson NL, Taylor-Robinson D, Chanock RM. Hemolyin production as an aid in the identification and quantitation of Eaton agent (*Mycoplasma pneumoniae*). Am J Hyg 1963; 77: 122-8.

Sparkes AH, Caney SM, Sturgess CP, Gruffydd-Jones TJ. The clinical efficacy of topical and systemic therapy for the treatment of feline ocular chlamydiosis. J Feline Med Surg 1999; 1: 31-5.

Specht TE, Frederick G. Quinolone-induced arthropathy in immature *Equidae*. J Am Vet Med Assoc 1991; 198: 516.

Spencer WN, Johnson FW. Simple transport medium for the isolation of *Chlamydia psittaci* from clinical material. Vet Rec 1983; 113: 535-6.

Spergser J, Aurich C, Aurich JE, Rosengarten R. High prevalence of mycoplasmas in the genital tract of asymptomatic stallions in Austria. Vet Microbiol 2002; 87: 119-29.

Spradbrow PB, Marley J, Portas B, Burgess G. The isolation of mycoplasmas from cats with respiratory disease. Aust Vet J 1970; 46: 109-10.

Stahlmann R, Merker HJ, Hinz N, Chahoud I, Webb J, Heger W, Neubert D. Ofloxacin in juvenile non-human primates and rats. Arthropathia and drug plasma concentrations. Arch Toxicol 1990; 64: 193-204.

Stamm WE, Holmes KK. Einführung in die Diagnose und Behandlung von Chlamydieninfektionen. In: Harrison Prinzipien der Inneren Medizin, Straub PW, ed. Basel: Schwabe & Co. AG 1986; 1227-9.

Stephan B, Hellmann K, Adler K, Greife A. Clinical efficacy of pradofloxacin in the treatment of feline upper respiratory tract infections. Proceedings of the 45st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, 2005; 184.

Stephan B, Roy O, Skowronski V, Edingloh M, Greife H. Clinical efficacy of pradofloxacin in the treatment of canine urinary tract infections. Proceedings 2nd International Conference on Antimicrobial Agents in Veterinary Medicine, Ottawa, 2004; 95.

Stephens RS, Kalman S, Lammel C, Fan J, Marathe R, Aravind L, Mitchell W, Olinger L, Tatusov RL, Zhao Q, Koonin EV, Davis RW. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. Science 1998; 282: 754-9.

Stiles J. Ocular infections. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 3rd ed. Greene C, ed. St. Louis: Saunders Elsevier Inc. 2006; 974-91.

Stipkovits L, Ripley PH, Tenk M, Glavits R, Molnar T, Fodor L. The efficacy of valnemulin (Econor) in the control of disease caused by experimental infection of calves with *Mycoplasma bovis*. Res Vet Sci 2005; 78: 207-15.

Stipkovits L, Ripley PH, Varga J, Palfi V. Use of valnemulin in the control of *Mycoplasma bovis* infection under field conditions. Vet Rec 2001; 148: 399-402.

Storz J. Cultivation of chlamydial agents in different host media. In: *Chlamydia and Chlamydia-induced Diseases*, Storz J, ed. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas 1971a; 71-88.

Storz J. Intestinal chlamydial infections of ruminants. In: *Chlamydia and Chlamydia-Induced Diseases*, Storz J, ed. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas 1971b; 146-54.

Storz J. Overview of animal diseases induced by chlamydial infections. In: *Microbiology of Chlamydia*, ed. Barron AL, ed. Boca Raton, Florida: CRC Press 1988; 167-92.

Streeten BW, Streeten EA. "Blue-body" epithelial cell inclusions in conjunctivitis. Ophthalmology 1985; 92: 575-9.

Studdert MJ, Martin MC. Virus diseases of the respiratory tract of cats. 1. Isolation of feline rhinotracheitis virus. Aust Vet J 1970; 46: 99-104.

Studdert MJ, Studdert VP, Wirth HJ. Isolation of *Chlamydia psittaci* from cats with conjunctivitis. Aust Vet J 1981; 57: 515-7.

Sturgess CP, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA, Jones RL. Controlled study of the efficacy of clavulanic acid-potentiated amoxicillin in the treatment of *Chlamydia psittaci* in cats. Vet Rec 2001; 149: 73-6.

Suchland RJ, Geisler WM, Stamm WE. Methodologies and cell lines used for antimicrobial susceptibility testing of *Chlamydia* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 636-42.

Switzer WP. The genus *Mycoplasma*. In: *Veterinary Bacteriology and Virology*, 7th ed. Marchant IA, Packer R, eds. Ames: Iowa State Press 1967; 531-48.

Sykes JE. Chlamydial infections. In: *Feline Medicine and Therapeutics*, 3rd ed. Chandler EA, Gaskell CJ, Gaskell RM, eds. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2004; 651-8.

Sykes JE. Feline chlamydiosis. *Clin Tech Small Anim Pract* 2005; 20: 129-34.

Sykes JE, Allen JL, Studdert VP, Browning GF. Detection of feline calicivirus, feline herpesvirus 1 and *Chlamydia psittaci* mucosal swabs by multiplex RT-PCR/PCR. *Vet Microbiol* 2001; 81: 95-108.

Sykes JE, Anderson GA, Studdert VP, Browning GF. Prevalence of feline *Chlamydia psittaci* and feline herpesvirus 1 in cats with upper respiratory tract disease. *J Vet Intern Med* 1999a; 13: 153-62.

Sykes JE, Studdert VP, Anderson G, Browning GF. Comparison of *Chlamydia psittaci* from cats with upper respiratory tract disease by polymerase chain reaction analysis of the ompA gene. *Vet Rec* 1997; 140: 310-3.

Sykes JE, Studdert VP, Browning GF. Comparison of the polymerase chain reaction and culture for the detection of feline *Chlamydia psittaci* in untreated and doxycycline-treated experimentally infected cats. *J Vet Intern Med* 1999b; 13: 146-52.

Tabatabayyi AH, Rad MA. First isolation of feline *C. psittaci* from a cat in Iran. *Feline Pract* 1981; 11: 35-8.

Tabbara KF, Abu-el-Asrar A, al-Omar O, Choudhury AH, al-Faisal Z. Single-dose azithromycin in the treatment of trachoma. A randomized, controlled study. *Ophthalmology* 1996; 103: 842-6.

Tamura A, Higashi N. Purification and chemical composition of meningopneumonitis virus. *Virology* 1963; 20: 596-604.

Tan RJ. Suceptibility of kittens to *Mycoplasma felis* infection. Jpn J Exp Med 1974; 44: 235-40.

Tan RJ, Lim EW, Ishak B. Ecology of mycoplasmas in clinically healthy cats. Aust Vet J 1977a; 53: 515-8.

Tan RJ, Lim EW, Ishak B. Significance and pathogenic role of *Mycoplasma arginini* in cat diseases. Can J Comp Med 1977b; 41: 349-54.

Tan RJ, Markham J. Isolation of *Mycoplasma* from cats with conjunctivitis. N Z Vet J 1971a; 19: 28.

Tan RJ, Markham JG. Feline T-strain mycoplasmas. Jpn J Exp Med 1971b; 41: 247-8.

Tan RJ, Miles JA. Further studies on feline respiratory virus diseases. 2. Immunodiffusion tests. N Z Vet J 1971; 19: 15-8.

Tan RJ, Miles JA. *Mycoplasma* isolations from clinically normal cats. Br Vet J 1972; 128: 87-90.

Tan RJ, Miles JA. Incidence and significance of mycoplasmas in sick cats. Res Vet Sci 1974a; 16: 27-34.

Tan RJ, Miles JA. Possible role of feline T-strain mycoplasmas in cat abortion. Aust Vet J 1974b; 50: 142-5.

Tasker S, Helps CR, Day MJ, Harbour DA, Shaw SE, Harrus S, Baneth G, Lobetti RG, Malik R, Beauflis JP, Belford CR, Gruffydd-Jones TJ. Phylogenetic analysis of hemoplasma species: an international study. J Clin Microbiol 2003; 41: 3877-80.

Taylor-Robinson D, Purcell RH, Wong DC, Chanock RM. A colour test for the measurement of antibody to certain *Mycoplasma* species based upon the inhibition of acid production. J Hyg (Lond) 1966; 64: 91-104.

Taylor-Robinson D, Somerson NL, Turner HC, Chanock RM. Serological relationships among human mycoplasmas as shown by complement-fixation and gel diffusion. J Bacteriol 1963; 85: 1261-73.

Ter Laak EA, Noordergraaf JH, Verschure MH. Susceptibilities of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, and *Ureaplasma diversum* strains to antimicrobial agents *in vitro*. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 317-21.

Ter Laak EA, Pijpers A, Noordergraaf JH, Schoevers EC, Verheijden JH. Comparison of methods for *in vitro* testing of susceptibility of porcine *Mycoplasma* species to antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 228-33.

TerWee J, Sabara M, Kokjohn K, Sandbulte J, Frenchick P, Dreier KJ. Characterization of the systemic disease and ocular signs induced by experimental infection with *Chlamydia psittaci* in cats. Vet Microbiol 1998; 59: 259-81.

Thomas A, Nicolas C, Dizier I, Mainil J, Linden A. Antibiotic susceptibilities of recent isolates of *Mycoplasma bovis* in Belgium. Vet Rec 2003; 153: 428-31.

Thomson NR, Yeats C, Bell K, Holden MT, Bentley SD, Livingstone M, Cerdeno-Tarraga AM, Harris B, Doggett J, Ormond D, Mungall K, Clarke K, Feltwell T, Hance Z, Sanders M, Quail MA, Price C, Barrell BG, Parkhill J, Longbottom D. The *Chlamydophila abortus* genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation. Genome Res 2005; 15: 629-40.

Toimela T, Salminen L, Tahti H. Effects of tamoxifen, toremifene and chloroquine on the lysosomal enzymes in cultured retinal pigment epithelial cells. Pharmacol Toxicol 1998; 83: 246-51.

Toutain PL, del Castillo JR, Bousquet-Melou A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. Res Vet Sci 2002; 73: 105-14.

Travnicek M, Mardzinova S, Cislakova L, Valocky I, Weissova T. Chlamydial infection of cats and human health. Folia Microbiol (Praha) 2002; 47: 441-4.

Trumble C. Oesophageal stricture in cats associated with use of the hyclate (hydrochloride) salt of doxycycline. J Feline Med Surg 2005; 7: 241-2.

Tsuchiya M, Hayasaka S, Mizuno K. Affinity of ocular acid-insoluble melanin for drugs *in vitro*. Invest Ophthalmol Vis Sci 1987; 28: 822-5.

Tully JG, Bove JM, Laigret F, Whitcomb RF. Revised taxonomy of the class *Mollicutes*: proposed elevation of a monophyletic cluster of arthropod-associated mollicutes to ordinal rank (*Entomoplasmatales* ord. nov.), with provision for familial rank to separate species with nonhelical morphology (*Entomoplasmataceae* fam. nov.) from helical species (*Spiroplasmataceae*), and emended descriptions of the order *Mycoplasmatales*, family *Mycoplasmataceae*. *Int J Syst Bacteriol* 1993; 43: 378-85.

Tully JG, Bradbury JM. Taxa covered by the ICSP Subcommittee on the Taxonomy of *Mollicutes*. In: www.the-icsp.org, ICSP, ed. 2003, <http://www.the-icsp.org/taxa/mollicuteslist.htm>, Zugang am 03.08.2006.

Tully JG, Del Giudice RA, Barile MF. Synonymy of *Mycoplasma arginini* and *Mycoplasma leonis*. *Int J Syst Bacteriol* 1972; 22: 47-9.

Ulvestad H, Lokken P, Mjorud F. Discoloration of permanent front teeth in 3,157 Norwegian children due to tetracyclines and other factors. *Scand J Dent Res* 1978; 86: 147-52.

Vanrompay D, Van Nerom A, Ducatelle R, Haesebrouck F. Evaluation of five immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunctival specimens from turkeys. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1470-4.

Vardaman TH, Yoder HW, Jr. Preparation of *Mycoplasma synoviae* hemagglutinating antigen and its use in the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis* 1969; 13: 654-61.

Veir J, Ruch-Gallie R, Spindel M, Lappin M. Prevalence of selected infectious organisms in shelter cats with acute upper respiratory tract disease. *J Fel Med Surg* 2007; in review.

Vicca J, Stakenborg T, Maes D, Butaye P, Peeters J, de Kruif A, Haesebrouck F. *In vitro* susceptibilities of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4470-2.

Volopich S, Benetka V, Schwendenwein I, Mostl K, Sommerfeld-Stur I, Nell B. Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydia felis* antigen

detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Vet Ophthalmol* 2005; 8: 25-32.

von Bomhard W, Polkinghorne A, Lu ZH, Vaughan L, Vogtlin A, Zimmermann DR, Spiess B, Pospischil A. Detection of novel *Chlamydiae* in cats with ocular disease. *Am J Vet Res* 2003; 64: 1421-8.

Vrabec TR, Sergott RC, Jaeger EA, Savino PJ, Bosley TM. Reversible visual loss in a patient receiving high-dose ciprofloxacin hydrochloride (Cipro). *Ophthalmology* 1990; 97: 707-10.

Walker RD, Walshaw R, Riggs CM, Mosser T. Recovery of two *Mycoplasma* species from abscesses in a cat following bite wounds from a dog. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7: 154-6.

Walker RL. *Mollicutes*. In: *Veterinary Microbiology*, 2nd ed. Hirsh DC, MacLachan NJ, Walker RL, eds. Ames: Blackwell 2004; 240-9.

Wallman IS, Hilton HB. Teeth pigmented by tetracycline. *Lancet* 1962; 1: 827-9.

Wardrop S, Fowler A, O'Callaghan P, Giffard P, Timms P. Characterization of the koala biovar of *Chlamydia pneumoniae* at four gene loci - ompAVD4, ompB, 16S rRNA, groESL spacer region. *Syst Appl Microbiol* 1999; 22: 22-7.

Warren J. Observations on some biological characteristics of organisms of the pleuropneumonia group. *J Bacteriol* 1942; 43: 211-28.

Wasmoen T, Wasmoen M. Demonstrated one year duration of immunity for an inactivated feline *Chlamydia psittaci* vaccine. *Feline Pract* 1992; 20: 13-6.

Waters L, Barnett KC. The eye. In: *Feline Medicine and Therapeutics*, 3rd ed. Chandler EA, Gaskell CJ, Gaskell RM, eds. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2004; 455-92.

Watson PM. Idiosyncratic reaction to enrofloxacin in cats. *Vet Rec* 2002; 150: 556.

Wegener A, Laser H. Evaluation of the retinal drug safety profile of pradofloxacin with Optical Coherence Tomography. Proceedings of the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, 2006; 28.

Weinberg ED. The mutual effects of antimicrobial compounds and metallic cations. *Bacteriol Rev* 1957; 21: 46-68.

Weisburg WG, Tully JG, Rose DL, Petzel JP, Oyaizu H, Yang D, Mandelco L, Sechrest J, Lawrence TG, Van Etten J, Maniloff J, Woese CR. A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: basis for their classification. *J Bacteriol* 1989; 171: 6455-67.

Welsh RD. *Bordetella bronchiseptica* infections in cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1996; 32: 153-8.

Wenman WM, Meuser RU. *Chlamydia trachomatis* elementary bodies possess proteins which bind to eucaryotic cell membranes. *J Bacteriol* 1986; 165: 602-7.

Werth D, Schmeer N, Muller HP, Karo M, Krauss H. Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* und *Coxiella burnetti* bei Hunden und Katzen: Vergleich zwischen Enzymimmuntest, Immunperoxidase-Technik, Komplementbindungsreaktion und Agargelpräzipitationstest. *Zentralbl Veterinarmed B* 1987; 34: 165-76.

Westfall DS, Twedt DC, Steyn PF, Oberhauser EB, VanCleave JW. Evaluation of esophageal transit of tablets and capsules in 30 cats. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 467-70.

Weyman J. The clinical appearance of tetracycline staining of the teeth. *Br Dent J* 1965; 118: 289-91.

Whalley PJ, Adams RH, Combes B. Tetracycline toxicity in pregnancy. Liver and pancreatic dysfunction. *JAMA* 1964; 189: 357-62.

Wiebe V, Hamilton P. Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 1568-71.

Wiechens B, Grammer JB, Johannsen U, Pleyer U, Hedderich J, Duncker GI. Experimental intravitreal application of ciprofloxacin in rabbits. *Ophthalmologica* 1999; 213: 120-8.

Wiechens B, Neumann D, Grammer JB, Pleyer U, Hedderich J, Duncker GI. Retinal toxicity of liposome-incorporated and free ofloxacin after intravitreal injection in rabbit eyes. *Int Ophthalmol* 1998; 22: 133-43.

Wilkinson GT. A review of drug toxicity in the cat. *J Small Anim Pract* 1968; 9: 21-32.

Wilkinson GT. Mycoplasmas of the cat. *Vet Ann* 1980; 20: 145-50.

Willi B, Boretti FS, Baumgartner C, Cattori V, Meli ML, Doherr MG, Reusch CE, Hofmann-Lehmann R. Feline Hämoplasmen in der Schweiz: Identifikation einer neuen Spezies, Diagnose, Prävalenz und klinische Bedeutung. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2006; 148: 139-44.

Willi B, Boretti FS, Cattori V, Tasker S, Meli ML, Reusch C, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2581-5.

Williams DM, Schachter J, Drutz DJ, Sumaya CV. Pneumonia due to *Chlamydia trachomatis* in the immunocompromised (nude) mouse. *J Infect Dis* 1981; 143: 238-41.

Williams PP. *In vitro* susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* to fifty-one antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1978; 14: 210-3.

Willoughby K, Dawson S, Jones RC, Symons M, Daykin J, Payne-Johnson C, Gaskell RM, Bennett M, Gaskell CJ. Isolation of *B. bronchiseptica* from kittens with pneumonia in a breeding cattery. *Vet Rec* 1991; 129: 407-8.

Wills JM. Chlamydial infections in the cat. PhD thesis, Bristol, 1986.

- Wills JM, Gruffydd-Jones TJ, Richmond SJ, Gaskell RM, Bourne FJ. Effect of vaccination on feline *Chlamydia psittaci* infection. *Infect Immun* 1987; 55: 2653-7.
- Wills JM, Gruffydd-Jones TJ, Richmond SJ, Paul ID. Isolation of *Chlamydia psittaci* from cases of conjunctivitis in a colony of cats. *Vet Rec* 1984; 114: 344-6.
- Wills JM, Howard PE, Gruffydd-Jones TJ, Wathes CM. Prevalence of *Chlamydia psittaci* in different cat populations in Britain. *J Small Anim Pract* 1988; 29: 327-39.
- Wills JM, Millard WG, Howard PE. Evaluation of a monoclonal antibody based ELISA for detection of feline *Chlamydia psittaci*. *Vet Rec* 1986; 119: 418-20.
- Wilson D. Feline visual changes associated with enrofloxacin. *Can Vet J* 2002; 43: 163.
- Witkop CJ, Jr., Wolf RO. Hypoplasia and intrinsic staining of enamel following tetracycline therapy. *JAMA* 1963; 185: 1008-11.
- Wood JL, Chanter N, Newton JR, Burrell MH, Dugdale D, Windsor HM, Windsor GD, Rosendal S, Townsend HG. An outbreak of respiratory disease in horses associated with *Mycoplasma felis* infection. *Vet Rec* 1997; 140: 388-91.
- Wood MM, Timms P. Comparison of nine antigen detection kits for diagnosis of urogenital infections due to *Chlamydia psittaci* in koalas. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3200-5.
- Wruble LD, Ladman AJ, Britt LG, Cummins AJ. Hepatotoxicity produced by tetracycline overdose. *JAMA* 1965; 192: 6-8.
- Wu CC, Shryock TR, Lin TL, Faderan M, Veenhuizen MF. Antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis*. *Vet Microbiol* 2000; 76: 25-30.
- Yamaguchi H, Yano I, Hashimoto Y, Inui KI. Secretory mechanisms of grepafloxacin and levofloxacin in the human intestinal cell line caco-2. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 360-6.

Yan C, Fukushi H, Matsudate H, Ishihara K, Yasuda K, Kitagawa H, Yamaguchi T, Hirai K. Seroepidemiological investigation of feline chlamydiosis in cats and humans in Japan. *Microbiol Immunol* 2000; 44: 155-60.

Yerasimides TG. Isolation of a new strain of feline pneumonitis virus from a domestic cat. *J Infect Dis* 1960; 106: 290-6.

Zahler SA, Moulder JW. The incorporation of radioactive phosphate into feline pneumonitis virus in the chick embryo yolk sac. *J Infect Dis* 1953; 93: 159-65.

Zapirain Gastón J, Stengel C, Harbour D, Krieger S, Stampf S, Hartmann K. Prävalenz des felinen Herpesvirus-1, felinen Calicivirus und von *Chlamydomphila felis* in Mehrkatzenhaushalten. *Kleintierpraxis* 2005; 49: 689-98.

Zeugswetter F, Hittmair KM, de Arespacochaga AG, Shibly S, Spergser J. Erosive polyarthrititis associated with *Mycoplasma gateae* in a cat. *J Feline Med Surg* 2007; 9: 226-31.

Zrenner E, Messias A, Gekeler F. Pradofloxacin: an electroretinographic study on retinal toxicity in cats. Proceedings of the 1st International Veraflox[®] Symposium, Berlin, 2006; 30-1.

X. Lebenslauf

Name:	Anja Hartmann
Geburtsdatum, -ort:	07.05.1975 in Heidelberg
Eltern:	Bernhard Hartmann Helga Hartmann, geb. Wosnitza
seit Sep. 2007	Assistentin an der Clear Ridge Veterinary Surgery in Stamford, UK
Aug. 2006 – Jul. 2007	Internship im Small Animal Hospital, University of Glasgow, Glasgow, UK
Jan. 2006 – Jul. 2006	Schriftliche Abfassung der Publikationen und der Dissertation
Jan. 2004 – Dez. 2005	Studie über die klinische Wirksamkeit von Pradofloxacin bei der Behandlung von Katzenschnupfen und <i>Chlamydophila-felis</i> -Infektionen der Katze, Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität, München
Okt. 2003 – Nov. 2003	Studie über pharmakokinetische Eigenschaften von Pradofloxacin und Doxycyclin in Serum, Speichel und Tränenflüssigkeit bei Katzen, Bayer HealthCare AG, Monheim
Jul. 2003 – Dez. 2005	Klinische Mitarbeit als Doktorandin an der Medizinischen Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität, München
Apr. 2003 – Jun. 2003	Praktikum in der Eurotierklinik (Hospital Veterinario), El Arenal, Mallorca, Spanien
Okt. 1997 – Feb. 2003	Tiermedizinstudium an der Justus-Liebig-Universität, Giessen
Aug. 1995 – Jul. 1997	Ausbildung zur Tierarzhelferin in der Kleintierpraxis Dr. Wohlfarth und Dr. Busse, Neckargemünd
1993 – 1995	St. Raphael-Gymnasiums, Heidelberg
1992 – 1993	Livermore Falls High School, Livermore Falls, Maine, USA
1991 – 1992	St. Raphael-Gymnasiums, Heidelberg
1985 – 1991	St. Raphael-Realschule, Heidelberg
1981 – 1985	Grundschule, Spechbach

XI. Danksagung

Bei Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann möchte ich mich herzlich für die Bereitstellung des Themas, die Aufnahme in die Klinik, die Vermittlung vieler Kontakte und den freundlichen Beistand bedanken.

Ein herzliches Dankeschön geht an Bayer HealthCare AG, insbesondere an Herrn Dr. Markus Edingloh für die Hilfe bei der Planung, Organisation und Finanzierung der Studien. Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Gert Daube, Frau Christine Fraatz und Frau Angela Schulten, die mir eine große Hilfe bei der Durchführung der Pharmakokinetikstudie waren und bei Herrn Dr. Ralph Krebber für die HPLC-Analyse der Serum-, Tränen- und Speichelproben.

Bei den Kollegen und „Mitdoktoranden“ der Medizinischen Kleintierklinik möchte ich mich für die praktische und moralische Unterstützung in allen Phasen der Studie bedanken. Ein besonderer Dank geht an Susanne Ritz für ihr besonderes Engagement.

Unseren Tierärzthelferinnen Frau Susanne Stöckert und Frau Silvia Klohs und den Auszubildenden Sebastian Witzmann, Andrea Kufner und Stefanie Zapf möchte ich danken, die sich mit großer Hingabe um das Wohl der Patienten kümmerten, sich durch unwillige Katzen nicht haben abschrecken lassen und mir immer mit einer helfenden Hand beiseite standen. Ein Dankeschön geht auch an Herrn Norbert Klaus, Herrn Stefan Lutz und Herrn Imre Greff für die Hilfe bei besonders widerspänstigen Patienten.

Herrn Dr. Chris Helps danke ich für die PCR-Analyse von FHV, FCV und *Chlamydomphila felis*, Herrn Prof. Dr. Michael Lappin und Frau Jennifer Hawley für die *Mycoplasma*-PCR und Herrn Dr. Georg Wolf und Frau Dr. Christiane Werckenthin für *Chlamydomphila-felis*-Immunfluoreszenz und die bakteriologische Anzucht der Sekundärerreger.

Natürlich möchte ich mich auch bei alle Katzenbesitzern für die Teilnahme an der Studie bedanken. Ein Dank geht an Frau Dr. Mörk (Tierheim Lechleite) und Frau Dr. Fischer (Tierheim Günzburg), die mir ihre Schützlinge anvertraut haben.

Herrn Prof. Dr. Küchenhoff und den Mitarbeitern des statistischen Beratungslabors der Ludwig-Maximilians-Universität für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten möchte ich danken.

Nicht vergessen möchte ich meine Katzen bei Bayer HealthCare AG und meine Patienten in der Medizinischen Kleintierklinik, die jede Untersuchung und Probenentnahme mehr oder weniger gerne über sich haben ergehen lassen.

XII. Anhang

Fragebogen an den/die Besitzer/in bei Einlieferung

Fallberichtsnummer: _____ Datum: _____
 Lfd. Nummer: _____ Untersucher: _____
 Überweisender Tierarzt: _____ Besitzer/in: _____

Beurteilung des aktuellen Verhaltens der Katze und Vergleich mit dem Verhalten vor der Erkrankung. Die Bewertung erfolgt anhand folgender Zahlen:

- 0 Verhalten ist bei Erkrankung gar nicht vorhanden
- 1 Verhalten ist momentan nur sehr selten zu beobachten
- 2 Verhalten ist nur halb so oft zu beobachten wie vor der Erkrankung
- 3 Verhalten ist fast genauso oft zu beobachten wie vor er Erkrankung
- 4 Verhalten ist genauso oft zu beobachten

	Bewertung	Faktor	erreichte Punktzahl
Fressverhalten			
Ihre Katze frisst alles auf, was sie ihr anbieten		1,5	
Ihre Katze frisst immer mit Appetit		0,25	
Ihre Katze fängt sofort an zu fressen, wenn sie das Futter erhält		0,25	
Ihre Katze frisst jedes Futter		0,25	
Ihre Katze frisst jetzt etwas, was sie früher nicht mochte		0,125	
Ihre Katze fängt Mäuse		0,125	
Ausscheidungsverhalten			
Ist Ihre Katze stubenrein?		1,0	
Verscharrt sie ihren Kot artgemäß?		0,25	
Ausruhverhalten			
Wie viel schläft ihre Katze?		1,5	
Wie schätzen Sie ihr derzeitiges Temperament ein?		1,0	
Komfortverhalten			
Ihre Katze putzt sich gründlich und oft		1,0	
Ihre Katze fühlt sich wohl		0,5	
Ihre Katze badet in der Sonne		0,5	
Ihre Katze sucht ihre Lieblingsplätze auf		0,5	
Spielverhalten			
Ihre Katze spielt häufig		0,25	
Ihre Katze zeigt Interesse an neuem Spielzeug		0,25	
Ihre Katze kommt zu Ihnen und sucht Ihren		1,0	

Kontakt			
Ihre Katze zeigt anderen Personen gegenüber ein merkwürdiges Verhalten		0,5	
Sozialverhalten			
Ihre Katze verlässt oft das Haus für einen Ausflug		0,5	
Sie kehrt zur gewohnten Zeit zurück		0,5	
Ihre Katze interessiert sich für andere Tiere		0,5	
Ihre Katze kämpft oft und zeigt sexuelle Aktivität		0,25	
Summe			

Auswertung des Besitzerfragebogens

erreichte Punktzahl	Beschreibung nach dem Karnofsky-Index	
50	100 %	<p>ungestörtes Allgemeinbefinden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • keine Beschwerden • keine Anzeichen für eine Krankheit
45 – 49	90 %	<p>geringe Anzeichen einer Krankheit:</p> <ul style="list-style-type: none"> • normales Sozial-, Fress- und Ruheverhalten
40 – 44	80 %	<p>einige Anzeichen der Krankheit (→ die Katze kommt normalen Aktivitäten nur mit Anstrengung nach und zeigt ausgeprägte länger anhaltende Ruhephasen):</p> <ul style="list-style-type: none"> • ungestörtes Fressverhalten • geringgradig gestörtes Sozialverhalten (Interessenverlust an anderen Katzen) und Komfortverhalten (Vernachlässigung der Fellpflege)
35 – 39	70 %	<p>gering- bis mittelgradig reduziertes Allgemeinbefinden (→ die Katze wirkt matter als gewöhnlich):</p> <ul style="list-style-type: none"> • mittelgradig reduziertes Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten • geringgradig reduziertes Fressverhalten (etwas weniger Appetit und etwas geringere Futtermittelaufnahme)
30 – 34	60 %	<p>mittelgradig reduziertes Allgemeinbefinden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • mittelgradig reduziertes Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten (benötigt gelegentlich Pflege) • mittelgradig reduziertes Fressverhalten (frisst nur noch aus der Hand)
25 – 29	50 %	<p>hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hochgradig reduziertes Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten (putzt sich nicht mehr selbstständig und benötigt ständig Pflege) • hochgradig reduziertes Fressverhalten (benötigt ständig Zuwendung beim Fressen, z. B. Futtermittelaufnahme nur noch bei Handfütterung) • andauernde medikamentelle Behandlung
20 – 24	40 %	<p>hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • wie 50 % • akute Lebensgefahr in freier Wildbahn • geringgradig reduziertes Ausscheidungsverhalten (sie ist nicht mehr stubenrein) • schläft sehr viel
15 – 19	30 %	<p>hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden (Klinik):</p> <ul style="list-style-type: none"> • wie 50 % • Katze ist schwer pflegebedürftig; keine selbstständige Futtermittelaufnahme mehr (auch nicht mehr aus der Hand) • stationäre Aufnahme angezeigt, da die Pflege aufgrund des Schweregrads der Erkrankung nicht mehr vom Besitzer selbstständig durchgeführt werden kann • keine Lebensgefahr während des Klinikaufenthaltes

10 – 14	20 %	hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden (Klinikaufenthalt mit Zwangsernährung): <ul style="list-style-type: none">• stationäre Behandlung unbedingt notwendig• Ernährung über Infusion und Nasen-Schlund-Sonde• aktive Lebensunterstützung notwendig
5 – 9	10 %	hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden (akute Lebensgefahr): <ul style="list-style-type: none">• akute Lebensgefahr während des Klinikaufenthaltes• schnell fortschreitende Verschlechterung (Patient bewegt sich kaum noch)
0 – 4	0 %	Tod

Was muss alles getan werden?

Einschlusskriterien

Aufnahme in die Studie:

- ☞ Katzen mit Katzenschnupfen und/oder Konjunktivitis
- ☞ Alter \geq 6 Monate
- ☞ FeLV- und FIV-Test negativ



Ausschlusskriterien

Keine Aufnahme in die Studie:

- ☒ FeLV- und/ oder FIV-Test positiv
- ☒ Katzen mit Niereninsuffizienz
- ☒ Katzen mit Hepatopathien (ALT > 500 IU/l)
- ☒ Katzen mit ZNS-Erkrankungen
- ☒ tragende und säugende Katzen
- ☒ Katzen mit einem Alter von < 6 Monaten
- ☒ mit Antibiotika vorbehandelte Katzen (innerhalb der letzten 6 Wochen)

Besitzer

1. Besitzer über die Studie informieren (genaueres steht im Infoblatt „Informationen für Tierbesitzer“)
2. Unterschrift des Tierbesitzers auf dem Formblatt „Einverständniserklärung“
3. Ausfüllen des Fragebogens „Fragebogen an den/die Tierbesitzer/in bei Einlieferung“

Patient

4. Untersuchung des Patienten
5. ausfüllen des „Untersuchungsbogen für die Eingangsuntersuchung (Tag 0)“

Blutprobenentnahme

6. **1 EDTA-Röhrchen** (mindestens 1 ml) und **1 Serum-Röhrchen** (mindetens 2 ml)
7. Laborantrag I und II ausdrucken,
8. mit „Studie Katzenschnupfen“ (Aufkleber sind in meiner Schublade) kennzeichnen,
9. Blutbild, Differentialblutbild und großes Serumprofil (Amylase und Lipase durchstreichen, und Serumgallensäuren ergänzen), ankreuzen und
10. Blutproben ins Labor der Medizinischen Kleintierklinik der LMU schicken.

Tupferprobenentnahme

11. **1 trockener Virologietupfer (Maulhöhle – FCV-PCR)²**
 - Mit der Tupferspitze über den Zahnfleischrand reiben (wie beim Zähneputzen), dabei versuchen auch Probenmaterial von möglichst weit kaudal zu entnehmen.
 - Tupfer mit Besitzernamen, Katzenname, „Maulhöhle“ und Studientag („Tag 0“) beschriften und bei –70 °C.

12. **1 trockener Virologietupfer (Konjunktiven – *C.-felis*- und FHV-PCR)³**
 - Mit der Tupferspitze über die Konjunktiva des unteren Augenlids reiben, dazu von außen mit einem Finger gegenhalten. Darauf achten, dass dabei die Nickhaut vorgelagert ist
 - Tupfer mit Besitzernamen, Katzenname, „Konjunktiva“ und Studientag („Tag 0“) beschriften und bei –70 °C.

13. **1 trockener Virologietupfer (Konjunktiven – *C.-felis*-Immunfluoreszenz)³**
 - Den Objektträger mit Besitzernamen, Tiernamen und Datum (mit Bleistift!) beschriften und auf der Rückseite mit einem Diamantstift (im Labor) einen Kreis mit ca. 1 cm Durchmesser in das Glas ritzen.
 - Den Konjunktivaltupfer wie für die PCR entnehmen, anschließend die Tupferspitze innerhalb des gekennzeichneten Kreises ausrollen und mit 2 Tropfen Azeton fixieren.
 - Unter dem Mikroskop die Zellzahl auf dem Objektträger überprüfen.
 - Einen Laborantrag für eine bakteriologische Untersuchung ausdrucken, mit „Tag 0“ kennzeichnen, die Aufkleber „Studie Katzenschnupfen“ und „Zellen/Gesichtsfeld, ...“ aufkleben und den Objektträger daran befestigen.

14. **1 Tupfer mit Medium (Konjunktiven – BU + Antibiogramm)⁴**
 - Beide Augen vor der Probenentnahme von Sekret befreien.
 - Mit der Tupferspitze einen Abstrich von den Konjunktiven und aus dem Konjunktivalsack entnehmen. Dabei darauf achten, dass die Tupferspitze nicht mit dem Fell oder der Haut in Berührung kommt.
 - Einen Laborantrag für eine bakteriologische Untersuchung ausdrucken, den Aufkleber „Studie Katzenschnupfen“ aufkleben, mit „Tag 0“ kennzeichnen und den Tupfer daran befestigen.

Behandlung

15. Zuordnung in eine Behandlungsgruppe anhand der VETERA-Patientennummer:
 - gerade Nummern ➔ Gruppe A
 - ungerade Nummern ➔ Gruppe B

² Division of Molecular and Cellular Biology, Department of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, Langford, Bristol, BS40 5DU, UK

³ Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München

16. Studienmedikamente (Antibiose):

- **Gruppe A:** 5 mg/kg Testprodukt A alle 24 Stunden PO und 5 mg/kg Referenzprodukt A alle 12 Stunden PO
- **Gruppe B:** 5 mg/kg Testprodukt B alle 24 Stunden PO und 5 mg/kg Referenzprodukt B alle 12 Stunden PO

☞ Testprodukt: 1 ml = 25 mg; 0,2 ml/kg
☞ Referenzprodukt: 1 ml = 100 mg; 0,05 ml/kg

Alle Medikamente für die Studie (Referenzprodukt und Testprodukt) befinden sich auf Infektion im Raum „98“ im Schrank über der Spüle. Im unteren Schrank sind die beiden Kartons für die Testprodukte und die Kartons mit den Spritzen für das Testprodukt B. Alle Kartons für das Testprodukt A sind im Schrank oben drüber!

17. Zusätzliche Medikation bei allen Katzen:

- **Passive Immunisierung:** 4 ml Feliserin[®] (Katzen mit einem Alter > 6 Wochen) bzw. 2 ml Feliserin[®] (Katzen mit einem Alter ≤ 6 Wochen) alle 24 Stunden SC für 3 Tage
- **Behandlung von Ekto- und Endoparasiten:** 6 mg/kg Selamectin (Stronghold[®]) auf die Haut (bis 2,5 kg: 15 mg; 2,6 – 7,4 kg: 45 mg/kg) nur am Tag der Aufnahme
- **Entwurmung:** 5 mg/kg Praziquantel (Droncit[®]) PO oder SC einmalig am Tag der Aufnahme

18. Zusätzliche Medikation (wenn notwendig):

- **Mukolytikum:** 0,5 mg/kg Bromhexin (Bisolvon[®]) alle 8 Stunden PO so lange wie notwendig (höchstens 14 Tage)
- **Bronchodilatator:** 0,03 mg/kg Terbutalin (Bricanyl[®]) alle 8 Stunden PO oder IV so lange wie notwendig (höchstens 14 Tage)
- **Ringer-Lösung:** 2 ml/kg/h Vollelektrolytlösung (+ Dehydratationsausgleich) + Kalium ad 20 mmol/l als Dauertropfinfusion IV so lange wie notwendig (höchstens 7 Tage)
- **Inhalation:** Inhalation mit physiologischer NaCl (0,9 %ig) in geschlossener Box alle 12 bis 24 Stunden so lange wie notwendig (höchstens 7 Tage)
- **Nasenspülung:** 10 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung alle 12 bis 24 Stunden in beide Nasenlöcher alle 12 bis 24 Stunden so lange wie notwendig (höchstens 7 Tage)
- **Reinigung der Augen:** mit einem angefeuchteten Tupfer (physiologische NaCl-Lösung) alle 12 bis 24 Stunden die Augen reinigen

Untersuchungsbogen für Eingangsuntersuchung (Tag 0)

Fallberichtsnummer: _____ Datum: _____
 Lfd. Nummer: _____ Untersucher: _____

Tier

Name: _____ Geschlecht: männlich
 Rasse: _____ weiblich
 Alter: _____ kastriert: ja
 Gewicht: _____ nein
 Impfstatus _____ Haltung: Freigänger:
 Dauer der Symptome: _____ nur im Haus:

Beschreibung des Allgemeinbefindens nach dem Karnofsky-Index

- 100 % ungestörtes Allgemeinbefinden, keine Beschwerden, keine Anzeichen für eine Krankheit
- 90 % geringe Anzeichen einer Krankheit, normales Sozial-, Fress- und Ruheverhalten
- 80 % einige Anzeichen der Krankheit, Fressverhalten ungestört, Sozialverhalten ggr. gestört (Interessenverlust an anderen Katzen), Komfortverhalten ggr. reduziert (Vernachlässigung der Fellpflege), ausgeprägte länger anhaltende Ruhephasen, die Katze kommt normalen Aktivitäten nur mit Anstrengung nach und schläft viel.
- 70 % Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten reduziert, Fressverhalten ggr. reduziert, wirkt matter als gewöhnlich, etwas weniger Appetit, etwas geringere Futtermittelaufnahme
- 60 % Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten reduziert, benötigt gelegentlich Pflege und manchmal spezielle Zuwendung zur Futtermittelaufnahme (frisst nur noch aus der Hand)
- 50 % benötigt ständig Pflege und ständig Zuwendung beim Fressen (Futtermittelaufnahme nur noch bei Handfütterung) sowie andauernde medikamentelle Behandlung, putzt sich nicht mehr selbstständig
- 40 % benötigt ständig Pflege und ständig Zuwendung beim Fressen sowie andauernde medikamentelle Behandlung, in freier Wildbahn akute Lebensgefahr, Ausscheidungsverhalten reduziert (sie ist nicht mehr stubenrein), schläft viel
- 30 % schwer pflegebedürftig, Pflege kann nicht mehr vom Besitzer durchgeführt werden, stationäre Aufnahme angezeigt, keine Lebensgefahr, keine selbstständige Futtermittelaufnahme mehr (auch nicht mehr aus der Hand)
- 20 % sehr krank; stationäre Behandlung unbedingt notwendig mit Ernährung über Infusion und Nasen-Schlund-Sonde, aktive Lebensunterstützung notwendig

- 10 % akute Lebensgefahr, schnell fortschreitende Verschlechterung (Patient bewegt sich kaum noch)
- 0 % Tod

Allgemeinuntersuchung/ Schweregrad der Erkrankung

rektale Temperatur: _____ Atemfrequenz: _____
 Bewegungsapparat: _____ Pulsfrequenz: _____

- Verhalten 0 normal, 1 apathisch, 2 nicht ansprechbar
- Schleimhäute 0 rosa, 1 blass, 2 rot bis zyanotisch
- Atemanstrengung 0 normal, 1 leichte Dyspnoe, 2 starke Dyspnoe (Maulatmung)
- Thoraxauskultation 0 normal, 1 verstärkt hörbare Geräusche, 2 abnorme Geräusche
- Appetit 0 vollständig vorhanden, 1 mäßig vorhanden, 2 nicht vorhanden
- Niesen 0 kein Niesen, 1 gelegentliches Niesen, 2 häufiges Niesen
- Nasenausfluss 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Augenausfluss 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Konjunktivitis 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Korneaveränderungen 0 keine, 1 einseitige Trübung, 2 beidseitige Trübung
- Lymphknotenvergrößerung 0 alle palpierbaren Lymphknoten sind physiologisch, 1 *Lnn. mandibulares* sind vergrößert, 2 andere palpierbare Lymphknoten sind vergrößert

Neurologische Untersuchung

Observation:

- Bewusstsein: aufmerksam: reduziert:
 disorientiert
- Stupor: Koma:
- Körperhaltung: normal: Tremor:
 Kopfschräghaltung: Fallen R-L:
- Gang: normal: Tetraparese:
 Nachhandparese: Ataxie:
 Dysmetrie: Kreisbewegungen:

Untersuchung der Reflexe:

Beurteilung: 0 abwesende Reaktion (Areflexie), 1 reduzierte Reaktion (Hyporeflexie), 2 normale Reaktion (Normoreflexie), 3 gesteigerte Reaktion (Hyperreflexie), 4 stark gesteigerte Reaktion (Hyperreflexie mit Tremor)

Haltungs- und Stellreaktionen:		rechts	links
Hüpfen:	vorne:		
	hinten:		
Propriozeption:	vorne:		
	hinten:		
Unterstützungsreaktion:			
Schubkarre:	visuell:		
	gestreckter Kopf-Hals:		
Gehirnnerven:		rechts	links
Sehen	II		
Drohreaktion	II, VII		
Pupillengrösse	II, III		
Stimulation linkes Auge	III		
Stimulation rechtes Auge	III		
Fundus	II		
Strabismus	III, IV, VI		
Nystagmus			
Sensibilität Gesicht	V		
Kaumuskulatur	V		
Gesichtsmuskulatur	VII		
Lidreflex	V, VII		
Schlucken	IX, X		
spinale Reflexe:		rechts	links
Extensor carpi radialis-Reflex	C7 – Th1		
Flexor-Reflex (vorne)	C6 – Th1/2		
Patella-Reflex	L4 – 6		
Tibialis cranialis-Reflex	L6 – S1		
Flexor-Reflex (hinten)	L5 – S1		
Panniculus-Reflex	C8, Th1		
Perineal-Reflex	S1/2		

Untersuchung der Sensorik:

Hyperästhesie: nein:
 ja: Verteilung: _____

oberflächliches
 Schmerzempfinden (Haut): normal:
 reduziert: Verteilung: _____
 fehlend: Verteilung: _____

tiefes Schmerzempfinden
 (Knochen): normal:
 reduziert: Verteilung: _____
 fehlend: Verteilung: _____

Neuroanatomische Lokalisation

neurologische Befunde	Lokalisation
1.	
2.	
3.	
4.	

Unterschrift des Untersuchers: _____ Datum: _____

Untersuchungsbogen für Folgetage (Tag 1 – 7, 14, 28, 42)

Fallberichtsnummer: _____ Datum: _____
 Lfd. Nummer: _____ Untersucher: _____

Tier

Name: _____ Geschlecht: männlich
 Rasse: _____ weiblich
 Alter: _____ kastriert: ja
 Gewicht: _____ nein

Beschreibung des Allgemeinbefindens nach dem Karnofsky-Index

- 100 % ungestörtes Allgemeinbefinden, keine Beschwerden, keine Anzeichen für eine Krankheit
- 90 % geringe Anzeichen einer Krankheit, normales Sozial-, Fress- und Ruheverhalten
- 80 % einige Anzeichen der Krankheit, Fressverhalten ungestört, Sozialverhalten ggr. gestört (Interessenverlust an anderen Katzen), Komfortverhalten ggr. reduziert (Vernachlässigung der Fellpflege), ausgeprägte länger anhaltende Ruhephasen, die Katze kommt normalen Aktivitäten nur mit Anstrengung nach und schläft viel.
- 70 % Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten reduziert, Fressverhalten ggr. reduziert, wirkt matter als gewöhnlich, etwas weniger Appetit, etwas geringere Futteraufnahme
- 60 % Spiel-, Sozial- und Komfortverhalten reduziert, benötigt gelegentlich Pflege und manchmal spezielle Zuwendung zur Futteraufnahme (frisst nur noch aus der Hand)
- 50 % benötigt ständig Pflege und ständig Zuwendung beim Fressen (Futteraufnahme nur noch bei Handfütterung) sowie andauernde medikamentelle Behandlung, putzt sich nicht mehr selbstständig
- 40 % benötigt ständig Pflege und ständig Zuwendung beim Fressen sowie andauernde medikamentelle Behandlung, in freier Wildbahn akute Lebensgefahr, Ausscheidungsverhalten reduziert (sie ist nicht mehr stubenrein), schläft viel
- 30 % schwer pflegebedürftig, Pflege kann nicht mehr vom Besitzer durchgeführt werden, stationäre Aufnahme angezeigt, keine Lebensgefahr, keine selbstständige Futteraufnahme mehr (auch nicht mehr aus der Hand)
- 20 % sehr krank; stationäre Behandlung unbedingt notwendig mit Ernährung über Infusion und Nasen-Schlund-Sonde, aktive Lebensunterstützung notwendig

- 10 % akute Lebensgefahr, schnell fortschreitende Verschlechterung (Patient bewegt sich kaum noch)
- 0 % Tod

Allgemeinuntersuchung/ Schweregrad der Erkrankung

rektale Temperatur: _____ Atemfrequenz: _____
 Bewegungsapparat: _____ Pulsfrequenz: _____

- Verhalten 0 normal, 1 apathisch, 2 nicht ansprechbar
- Schleimhäute 0 rosa, 1 blass, 2 rot bis zyanotisch
- Atemanstrengung 0 normal, 1 leichte Dyspnoe, 2 starke Dyspnoe (Maulatmung)
- Thoraxauskultation 0 normal, 1 verstärkt hörbare Geräusche, 2 abnorme Geräusche
- Appetit 0 vollständig vorhanden, 1 mäßig vorhanden, 2 nicht vorhanden
- Niesen 0 kein Niesen, 1 gelegentliches Niesen, 2 häufiges Niesen
- Nasenausfluss 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Augenausfluss 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Konjunktivitis 0 fehlend, 1 leicht, 2 mittel, 3 schwer, 4 sehr schwer
- Korneaveränderungen 0 keine, 1 einseitige Trübung, 2 beidseitige Trübung
- Lymphknotenvergrößerung 0 alle palpierbaren Lymphknoten sind physiologisch, 1 *Lnn. mandibulares* sind vergrößert, 2 andere palpierbare Lymphknoten sind vergrößert

Probenentnahme an Tag 3, 7, 14, 28 und 42

- Blut (1 Serum- und 1 EDTA-Röhrchen)
- Konjunktivaltupfer I für *C. felis* und FHV (trockener Virologietupfer)
- Konjunktivaltupfer II für *C. felis* (trockener Virologietupfer)

Unterschrift des Untersuchers: _____ Datum: _____