

Neues gkf-Projekt

Tatort Dickdarm

Bakterien namens Brachyspira pilosicoli sollen für einen Teil der chronischen Durchfallerkrankungen beim Hund (mit-)verantwortlich sein. Christoph Georg Baums, Romy Monika Heilmann und Gottfried Alber gehen an der Universität Leipzig diesem Verdacht nach und untersuchen, auf welche Weise diese Bakterien an bestimmten Durchfällen beteiligt sind. Da Nachweismöglichkeiten für eine B. pilosicoli Infektion des Hundes eingeschränkt sind, entwickeln die Leipziger Forscher weitere Tests, die Tierärzten den Nachweis der winzigen Übeltäter erleichtern sollen.

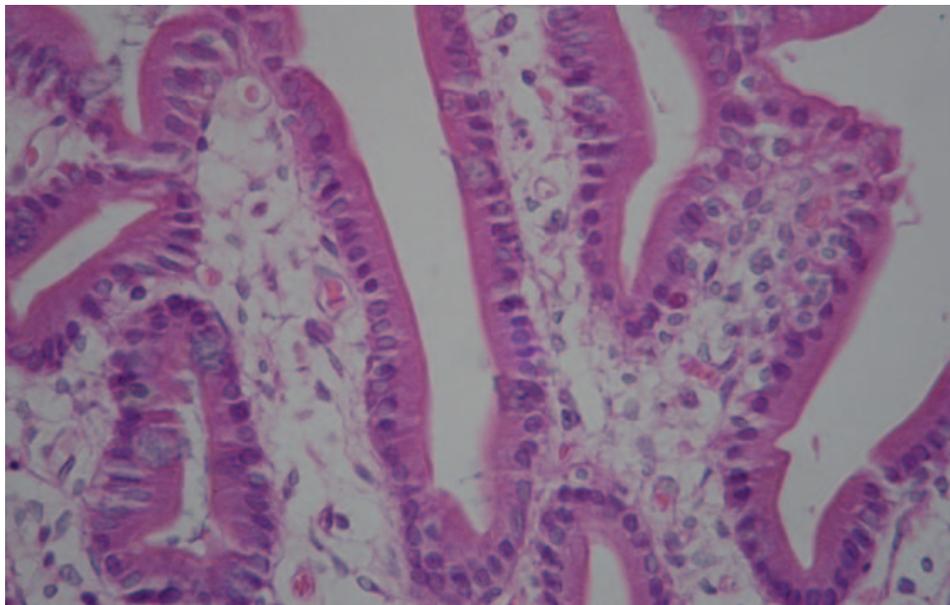
Durchfallerkrankungen, die mehr als drei Wochen andauern oder über einen längeren Zeitraum immer wieder auftreten, werden als chronisch bezeichnet. Die Erkrankung kann für die Hunde mit Leiden verbunden sein, Mangelerscheinungen zur Folge haben oder in Einzelfällen sogar zu anderen Folgeerkrankungen führen. Für die Besitzer stellt der chronische Durchfall ihres Tieres häufig eine erhebliche Belastung dar.

Chronische Durchfälle aufgrund eines Parasitenbefalls oder durch Fütterungsfehler können meist relativ einfach diagnostiziert und gezielt behandelt werden. Aber es gibt auch sehr viele Fälle von chronischem Durchfall bei Hunden, deren Ursache trotz sorgfältiger und aufwändiger Diagnostik im Dunkeln bleibt. Die Diagnose basiert dann

im Wesentlichen auf das Anschlagen der Krankheit auf verschiedene Therapieversuche. Man unterscheidet beim Hund demzufolge:

- Futtermittel-responsiver Durchfall (FRD): Durchfälle, die bei einer Umstellung auf bestimmte Diäten (Eliminationsdiäten) besser werden.
- Antibiotika-responsiver Durchfall (ARD): Durchfälle, die man mit einem Antibiotikum in den Griff bekommt.
- Steroid-responsive Darmerkrankung: Durchfälle infolge einer chronischen Darmentzündung (sog. Inflammatory Bowel Disease/IBD), die man mit kortisonhaltigen Medikamenten lindern kann.
- Steroid-refraktäre Darmerkrankung: Durchfälle durch eine IBD, bei denen die kortisonhaltigen Medikamente nicht wirken und andere immunsuppressive Medikamente zum Einsatz kommen (aber ebenfalls nicht in allen Fällen wirksam sind).

Für die Entwicklung einer zielgerichteten Therapie ist die Kenntnis der Ursachen und des genauen Krankheitsverlaufes von großer Bedeutung. Dabei könnte die Bakterienart *Brachyspira (B.) pilosicoli* eine heiße Spur darstellen, denn es besteht der Verdacht, dass sie bei der Entstehung chronischer Darmerkrankung eine wichtigere Rolle spielt, als bisher angenommen.



Gesunde Darmschleimhaut mit einem hellen Saum an der Oberfläche der Schleimhaut. © Commons.Wikimedia Wbensmith

Durchfallerreger bei Mensch und Huhn

Brachyspiren sind spiralförmige Bakterien, die im Darm von Tieren und Menschen leben können. Ein Vertreter dieser Bakteriengattung ist die Art *B. pilosicoli*. Diese Art kann bei Menschen und Tieren chronische Entzündungen des Dickdarms mit Durchfällen hervorrufen. Auch bei Hunden mit chronischen Durchfällen konnte *B. pilosicoli* im Darm nachgewiesen werden. Allerdings wurde *B. pilosicoli* auch bei symptomfreien Tieren im Darm gefunden.

Bei Menschen scheint die Darmerkrankung in Zusammenhang mit *B. pilosicoli* vor allem bei Personen mit einer Abwehrschwäche aufzutreten. Daher gehen die Wissenschaftler davon aus, dass die Durchfälle nicht alleine

durch eine Infektion mit *B. pilosicoli* verursacht werden, sondern sich erst in Verbindung mit weiteren Faktoren, wie zum Beispiel einer Abwehrschwäche, entwickeln. Tatsächlich spricht einiges dafür, dass zumindest bei einigen chronischen Durchfällen des Hundes Fehlfunktionen des körpereigenen Abwehrsystems, insbesondere des angeborenen Immunsystems, maßgeblich beteiligt sind.

Schwieriger Nachweis

Die Erforschung von *B. pilosicoli* und der möglichen Folgen einer Infektion mit diesem Bakterium ist aufwändig und schwierig, weil man das Bakterium mit den üblichen Methoden nur unzuverlässig nachweisen kann. In Kotproben infizierter Hunde beispielsweise ist *B. pilosicoli* häufig

nicht zu finden, weil sich die Bakterien fest an die Schleimhaut des Dickdarmes heften und daher nur wenige Exemplare mit Kot den Darm verlassen. Dazu kommt dass *B. pilosicoli* auf gewöhnlichen Nährmedien zur mikrobiologischen Untersuchung nicht wächst, sondern auf speziellen Nährböden mit einer besonderen Kultivierungstechnik angezogen werden muss. Ein Antikörpertest, mit dem man eine *B. pilosicoli* Infektion einfach im Blut nachweisen könnte, gibt es für den Hund noch nicht.

Ziele des aktuellen Projekts

Über die Rolle die *B. pilosicoli* beim chronischen Durchfall des Hundes spielt, weiß man noch sehr wenig. Die Forscher untersuchen nun, welche Bedeutung das Bakte-

rium für die Erkrankung an chronischem Durchfall bei Hunden tatsächlich hat. Da man auch bei gesunden Hunden *B. pilosicoli* nachweisen kann, führt eine Infektion wohl nicht automatisch zu einer Erkrankung. Das Abwehrsystem kann eine Erkrankung verhindern. Der Organismus kann aber auch durch bestimmte Immunreaktionen zur Entstehung, den klinischen Symptomen und dem Verlauf einer Erkrankung beitragen. Die Forscher wollen besser verstehen, welcher Zusammenhang zwischen einer Infektion mit *B. pilosicoli*, der spezifischen Immunreaktion des Organismus auf die Infektion und dem Krankheitsbild des chronischen Durchfalls beim Hund besteht. Das tiefere Verständnis der Erkrankung und der dahinter stehenden Mechanismen ist unerlässlich, um neue Diagnoseverfahren und



Darmschleimhaut, die dicht mit engen Verwandten der Brachyspiren besiedelt ist. Man erkennt die Besiedlung an dem dunklen Saum an der Oberfläche der Schleimhaut. Bei *Brachyspira pilosicoli* ergibt sich ein vergleichbares mikroskopisches Bild. © Commons.Wikimedia. Nephron

Prinzip von Antikörpernachweisen

Ein Antikörpernachweis ist ein indirekter Nachweis für den Kontakt des Hundes mit einem Erreger einer bestimmten Infektionskrankheit. Antikörper sind spezifische Abwehrstoffe, die das Immunsystem gegen eine Erregerart bildet. Die Antikörper können die Abtötung des Erregers einleiten, indem sie an besondere Moleküle auf der Oberfläche des Erregers andocken. Diese Moleküle nennt man protektive („schützende“) Antigene. Ein bestimmter Antikörper und das entsprechende Antigen passen zusammen wie Schlüssel und Schloss.

Das Immunsystem bildet die verschiedenen Antikörper nur bei Bedarf in großer Menge – also nur dann, wenn sich im Organismus tatsächlich auch die entsprechenden Erreger befinden. Das heißt, wenn sich große Mengen spezifischer Antikörper (ein hoher Titer) im Blut nachweisen lassen, kann man daraus schließen, dass auch sich der entsprechende Erreger im Organismus befindet oder befunden hat.

Ob tatsächlich eine aktuelle oder eine bereits überstandene Infektion vorliegt, überprüft man

durch eine zweite Bestimmung der Werte mit etwas zeitlichem Abstand zur ersten. Wenn der Antikörpertiter bei der zweiten Messung höher als bei der ersten ist, macht der Körper die Infektion gerade durch.

Antikörpertests zur Diagnostik von Infektionen durch Bakterien oder Viren sind weit verbreitet, weil Verfahren zum direkten Nachweis bestimmter Erreger schwieriger und langwieriger sein können. Ein Nachteil des Antikörpernachweises ist jedoch, dass die Antikörper erst mit etwas Zeitverzögerung gebildet werden, das heißt, dass in den frühen Stadien einer Infektion keine Antikörper nachgewiesen werden können. Im Falle chronischer Infektionen spielt diese Zeitverzögerung jedoch keine Rolle.

Der Nachweis der Antikörperklasse IgG weist über das pure Vorhandensein dieser Antikörper hinaus, denn sie werden mit Hilfe von speziellen Zellen des Abwehrsystems, den sogenannten T-Zellen, gebildet. Ein positiver IgG-Nachweis bedeutet demnach auch das Vorliegen einer T-Zell-vermittelten Immunreaktion.

Therapien entwickeln zu können. Im Einzelnen haben sich die Leipziger Forscher folgende Ziele gesteckt:

- Die Entwicklung eines Tests, beispielsweise ein Antikörpernachweis im Blut, der bei der Diagnostik von chronischem Durchfall routinemäßig zum Nachweis von *B. pilosicoli* eingesetzt werden kann. In der Diskussion sind auch Nachweisverfahren, die bestimmte Abwehrzellen, die sog. T-Lymphozyten, erkennen können.
- Die Charakterisierung von Immunreaktionen, die Brachyspiren beim Hund hervorrufen.

- Die Frage beantworten, wie häufig sich *B. pilosicoli* bei den unterschiedlichen Formen des chronischen Durchfalls (ARD, FRD oder IBD) nachweisen lässt.

Vier Arbeitspakete

Um die Ziele des Forschungsprojekts zu erreichen haben die Forscher vier Arbeitspakete geschnürt, die an den beteiligten Instituten und externen Kooperationspartnern teilweise zeitgleich bearbeitet werden.

- **Arbeitspaket 1:** (am Institut für Bakteriologie und Mykologie): Entwicklung eines

Tests, der über einen Antikörpernachweis in Blutproben eine Infektion mit verschiedenen Brachyspiren nachweisen kann. Überprüfung der Aussagekraft des Tests (Evaluierung) anhand von bereits vorhandenen Blutproben von Hunden mit nachgewiesener *B. pilosicoli* und Blutproben aus der Klinik für Kleintiere.

■ **Arbeitspaket 2:** (an der Klinik für Kleintiere): Systematische Erfassung von Hunden mit chronischem Durchfall, die in der Kleintierklinik vorgestellt werden. Wiederholte und gezielte Untersuchung von Kotproben der Patienten auf Brachyspiren mit geeigneten Nährmedien und spezieller Kulturtechnik. Wiederholte Antikörperbestimmung in den Blutproben der Patienten. Im weiteren Verlauf der Behandlung und Therapieüberwachung Zuordnung der Tiere nach Durchfallform in Patienten mit ARD, FRD, IBD oder tumorkranke Tiere.

■ **Arbeitspaket 3:** (am Institut für Immunologie): Nachweis und Charakterisierung von Immunzellen, die speziell bei einer Brachyspiren-Infektion vermehrt im Blut und im Dickdarmgewebe der betroffenen Tiere auftreten. Hierzu werden Blut- und Gewebeproben von Hunden untersucht, von denen man weiß, dass sie mit Brachyspiren infiziert sind. Bestimmte Abwehrzellen (T-Lymphozyten) werden isoliert und mit Brachyspiren-Antigen stimuliert. Die Zellen, die durch das Brachyspiren-Antigen stimuliert werden, können mithilfe einer besonderen Technik, der Durchflusszytometrie, gezählt werden. Diese Zellen schütten auch einen bestimmten Botenstoff (Interferon-gamma) aus, der mithilfe der sogenannten ELISpot-Technologie oder mittels ELISA nachgewiesen wird.

■ **Arbeitspaket 4:** Eine lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchung von Dickdarmproben von Hunden mit bekannter Brachyspiren-Infektion. Um die Bakterien für die lichtmikroskopische Untersuchung sichtbar zu machen, werden sie mit einem sogenannten Antiserum, das bereits im Arbeitspaket 1 entwickelt wurde, markiert.

Die Arbeiten sollen am 1. April 2019 beginnen und werden etwa zwei Jahre dauern.

Barbara Welsch

Arbeitstitel

Untersuchungen zu humoralen und zellulären Immunreaktionen des Hundes auf persistierende Infektionen des Dickdarms mit Brachyspiren zum besseren Verständnis der chronischen Diarrhoe

Kontakt

Prof. Dr. Christoph Georg Baums
(Korrespondierender Antragsteller)
Institut für Bakteriologie und Mykologie
Zentrum für Infektionsmedizin
Veterinärmedizinische Fakultät (VMF)
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 29
04103 Leipzig
christoph.baums@vetmed.uni-leipzig.de