

AKTUELLE ERKRANKUNGEN IM MILCHVIEHBETRIEB: DIAGNOSTIK UND BEDEUTUNG VON CLOSTRIDIENERKRANKUNGEN BEI RINDERN

EINLEITUNG

Clostridien gehören zu den Bodenseuchenerregern. Sie kommen in der Umwelt vor. Sie bilden taxonomisch eine eigene Klasse, umfassen aber eine sehr heterogene Erregergruppe. Zurzeit geht man von ca. etwa 200 verschiedenen Arten im Genus *Clostridium* aus. Es sind Gram-positive, evolutionär sehr alte Erreger, die ausschließlich unter anaeroben Verhältnissen leben. Einige Arten sind aber auch aerotolerant. Es sind Sporenbildner, der größte Teil ist beweglich, *C. perfringens* ist aber z. B. unbeweglich. Sie leben in der Mehrzahl saprophytisch in der Umwelt (Boden, Wasser) oder im Magen-Darm-Trakt (MDT) von Tieren und Menschen. Sie besitzen ein enormes metabolisches Potenzial. Sie sind Destruenten und verfügen darum über ein ganzes Arsenal degradierender Enzyme, wodurch sie in der Lage sind, organische Materialien abzubauen. Entsprechend ihrer bevorzugten Energiequellen werden proteolytische, saccharolytische und Harnsäure spaltende Clostridien unterschieden. Der größte Teil von ihnen ist nützlich. So geht die biotechnologische Acetonproduktion (rauchloses Schießpulver) durch *C. acetobutylicum* auf Weizmann zurück. Einige Arten können Stickstoff im Boden frei fixieren (z.B. *C. pasteurianum*, *C. acetobutylicum*, *C. butyricum*). Nur wenige Arten sind an den drei Erkrankungskomplexen-Gasödem, Enterotoxämie und Toxikation beteiligt. Obwohl diese Erkrankungskomplexe immer schon menschliche und Tiergesundheit bedrohten, scheint heute insbesondere in der Nutztierhaltung ihre Bedeutung zu steigen. Im Rinderbereich müssen neben der leistungsbetonten Fütterung veränderte Erntetechnologien, Delegation der Futterwerbung an Lohnunternehmer, geringe Schnitthöhe, Erntetempo (Sporeneintrag aus Boden, bes. in Risikogebieten und Einarbeitung von Tierleichen), ungünstige Witterungsbedingungen, Belastung des Futters mit Mykotoxinen, Einsatz clostridienhaltiger Dünger (Gülle, Gärreste) angesehen werden.

PATHOGENESEMECHANISMEN

Das pathogenetische Prinzip wird bis auf *C. difficile* ausschließlich durch die Toxine realisiert. Nur *C. difficile* verfügt über Adhäsine, kann so einen direkten Zell-zu-Zell-Kontakt aufbauen. Von den

ca. 200 bekannten Clostridienarten sind 35 pathogen, 15 Arten (<10%) sind potente Toxinbildner. Es handelt sich durchweg um Proteintoxine. Im quantitativen Vergleich zu allen bekannten Bakterientoxinen (327) sind das 58 (18%), die von Clostridien gebildet werden.

CLOSTRIDIEN TOXINE

Bei Clostridien werden auch einige Enzyme als Toxine bezeichnet, die bei anderen Bakterien nicht als solche kategorisiert werden. Die Mehrzahl der Toxine bildet in den Zielzellen Poren (große und kleine), die dann für Gangrän oder Enterotoxämien verantwortlich sind. Das Perfringolysin ist ein Cholesterin-abhängiges Zytolysin, das *C. perfringens* ϵ -Toxin und das *C. septicum* α -Toxin bilden sehr kleine Poren. Einige Toxine wie das α -Toxin von *C. perfringens* (Phospholipase C) oder Collagenasen sind an den Zelloberflächen aktiv, drei Gruppen von Toxinen können auch in die Zellen eindringen und agieren als große glucosylierende Toxine, als binäre Toxine (*C. botulinum* C2-Toxin) and Neurotoxine. Die ersten beiden verändern das Aktinskelett der Zellen durch enzymatische Modifizierung, die Neurotoxine beeinflussen die Exozytose von Neurotransmittern. Weiterhin wird auch ein Enterotoxin gebildet. Die Bildung der Toxine steht in enger Beziehung zur Populationsdichte der Clostridien. Die Erreger identifizieren ihre Dichte über Signalmoleküle, die jedes Bakterium in das Medium abgibt. Diese Autoinducer gehören bei Clostridien zur Gruppe der Furanone (AI-2) und werden besonders während der frühen und mittleren exponentiellen Wachstumsphase abgegeben. Toxinproduktion und Autoinducerkonzentration stehen in enger Beziehung. Auch AI-2-Moleküle anderer Bakterien, z. B. von *E. coli* sind in der Lage, die Toxinproduktion von *C. perfringens* von außen zu steigern, was wieder den Einfluss der Begleitflora im MDT unterstreicht (Ohtani et al. 2002).

ERKRANKUNGEN DES RINDES

Gasödeminfektionen

Die ursächlichen Erreger, *C. perfringens* Typ A, *C. septicum*, *C. chauvoei* (bestimmte Regionen), *C. novyi*, *C. sordellii*, auch als histotoxische Clostridien bezeichnet, kommen sowohl im Kot der

Tiere als auch im Boden vor. Gefährdet sind Jungtiere (Nabelinfektionen) und adulte Tiere durch Infektionen nach banalen Verletzungen wie Schürfwunden, nach Geburtsverletzungen, Zitzenverletzungen, nach Klauenschnitt, Stoßverletzungen, Infektionen aus dem Magen-Darm-Trakt nach direkter Schädigung der Schleimhaut durch Parasiten oder Eintrag von Clostridien durch Parasitenwanderung, durch Dysbiosen etc. Dadurch können am Gasödem beteiligte Clostridien in das Gewebe eindringen und Toxine bilden. Besonders ischämische Gewebe (Geburtsverletzungen, Quetschungen) sind für derartige Infektionen prädestiniert. Es entstehen gangränöse, stinkende, anfänglich warme, später kalte Gewebsentzündungen mit Ausbreitungstendenz. Septikämien sind oft die Folge, im Falle von *C. chauvoei*, *C. septicum* ein häufiges Ergebnis der Infektion.

Enterotoxämien

Die Toxine werden im Darm gebildet. In schweren Enterotoxämiegeschehen bei Kälbern werden die Toxine resorbiert und in die Zirkulation abgegeben. Sie sterben dann oft perakut.

Enterotoxämien kommen sowohl bei Saugkälbern (neonatale hämorrhagische Enteritis *C. perfringens* Typ A, oft unter Beteiligung von *C. sordellii* und als nekrotische Enteritis *C. perfringens* Typ C), bei Jungrindern als auch bei adulten Tieren (HBS, *C. perfringens* Typ A) vor. Für alle Altersgruppen gilt, dass in der Regel eine Prädisponierung für die Infektion vorliegt. Prädisponierende Faktoren sind beim Kalb z.B. Cryptosporidieninfektionen, Kokzidien, abrupte Futterwechsel, Unterkühlung, Dysbakteriosen nach Antibiosen, bei Jungrindern mykotoxinhaltige Futtermittel, hohe *C. perfringens*-Konzentrationen in den Silagen, acidotische Fütterungsregimes, bei Kühen (HBS) Mykosen durch *Aspergillus* spp. und *Mucor* spp.

Die Ursache der Enterotoxämien liegt immer in der schlagartigen Vermehrung der Clostridien im Magen-Darm-Trakt. Dabei ist es unerheblich, ob durch die Aufnahme einer größeren Clostridien-sporenzahl oder durch das exzessive Vermehren der flora-eigenen Clostridien dieser Prozess initiiert wurde. Das Erkrankungsbild richtet sich nach der Menge und der Anzahl der gebildeten Toxine. In der Mehrzahl der Fälle wird *C. perfringens* Typ A, oft in Kombination mit *C. sordellii* beim Rind nachgewiesen. Bei Jungtieren kommen auch die Typen C und E. vor. Pathogenetisch spielen plötzliche Fütterungsumstellungen, Clostridien-haltige, proteinreiche, an leicht verdaulichen Kohlenhydraten reiche Futtermittel, Trypsininhibitoren (Kolostrum), Trypsinmängel, alle Umstände, die zu einer vermehrten Mukosproduktion führen, eine Rolle. Durch große Mengen an leicht verdaulichen Kohlenhydraten kommt es zum schnellen Absinken des Pansen-pH - Wertes mit unvollständigem Abbau von Kohlenhydraten, die den Clostridien als Substrat für Wachstum und Vermehrung der vegetativen Formen mit Toxinbildung im Darm dienen. Durch die Toxine kommt es zur Zerstörung der Darmfunktion und zum Übertritt der Toxine in den Organismus mit Intoxikationen und Ausbildung der jeweiligen Symptomatik. Akutes und perakutes

Verenden ist möglich. Die größte Bedeutung hat in diesem Kontext *C. perfringens*, obwohl auch *C. septicum* und *C. sordellii* im MDT erkrankter und verendeter Tiere nachzuweisen sind. *C. sordelli*-Toxine wirken synergistisch mit *C. perfringens*-Toxinen.

Toxikationen

Die größte Bedeutung für Rinder besitzt *C. botulinum*. *C. tetani* – Intoxikationen treten beim Rind eher sporadisch auf. *C. botulinum* A, B, C, D, E-Toxikoinfektionen treten häufig auch in Verbindung mit Enterotoxämien auf. Die Tiere zeigen oft ungeformte, wässrige Kotkonsistenz. Motilitätsstörungen des MDT stehen im Vordergrund des Geschehens. Das hier gebildete Botulinum-Toxin transloziert und gelangt über Blut-/Lymphbahn an die cholinergen Synapsen. Nachhandschwäche bis Nachhandlähmungen, schwankender, breitbeiniger Gang, Unsicherheit, Überkötten fallen auf. Durch die Neurotoxinwirkung bekommen die Tiere Schluckbeschwerden, Speicheln, haben schwache Lid- und Ohrenreflexe, auffällig ist der fehlende Pupillenreflex bei Lichteinfall. Es sind die Toxintypen A-E in den Rinderbeständen nachweisbar. Die klinische Symptomatik ist in Abhängigkeit von der individuellen Belastung und der noch vorhandenen spezifischen (neutralisierende Antikörper) und unspezifischen (physiologische Mikrobiota des MDT, Mucine, Ganglioside, CRP etc.) Abwehrkapazität der Tiere sehr unterschiedlich. Meist ist die Ursache für das Erkrankungsgeschehen in einem Wechsel der Futtercharge zu suchen, die von suspektem Grünland gewonnen wurde. Als suspektes Grünland müssen folgende Grünlandflächen angesehen werden: Mehrfach überschwemmt, Staunässe tragend, mit Fremdgülle oder Gärresten aus Anlagen mit nicht hofeigenen Kosubstraten gedüngt, mooriges Grünland, mit Grabenaushüben kontaminiert, mit hohem Wildbesatz, Maulwurfshügeln besetzt.

Labordiagnostik

Die labordiagnostischen Untersuchungen beziehen Probenmaterialien (Kot, Pansensaft, Blut, Darminhalte, Organe, bes. Leber, Gewebeprobe etc.) erkrankter bzw. verendeter Tiere sowie die kontaminierten Futtermittel ein. Im Falle von Gasödeminfektionen sind die Erreger im Wundsekret nachweisbar. Ihr Nachweis ist dann pathognomonisch. Zur Einschätzung der Clostridien-situation im MDT bedarf es quantitativer Florauntersuchungen, die einerseits die Clostridienlast abbilden müssen, andererseits Aufschluss über die wesentlichen Normalflorakomponenten wie aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl, Gram-negative Keimzahl, Bacteroides-, Lactobacillus-, Bifidobacterium-, Hefekeimzahlen geben sollten. Von den im MDT befindlichen Clostridien lässt sich entgegen mancher Auffassungen nur *C. perfringens* wegen seiner Unbeweglichkeit und des typischen Wachstumsverhaltens kulturell problemlos nachweisen. Alle anderen pathogenetisch relevanten Clostridien benötigen Spezialbehandlungen. Will man einen Überblick über den Clostridiengehalt in der Probe bekommen, empfehlen sich das MPN-Verfahren nach Erhitzung der Probe und daraus dann der Isolierungsversuch. Natürlich kann man molekularbiologisch die für die einzelnen Erreger und

Toxine relevanten Gene nachweisen, doch dann hat man kein Isolat, aus dem man unter Umständen einen bestandsspezifischen Impfstoff herstellen könnte. Der physiologische *C. perfringens*-Keimgehalt pro Gramm Kot liegt bei erwachsenen Rindern $\leq 10^3$, bei Kälbern können diese Werte höher (ca. 10^5 - 10^6 /g) liegen. Darüber liegende Keimzahlen entsprechen nicht dem physiologischen Wert. Wesentlich ist der Nachweis der relevanten Toxine entweder in den Isolaten über den Toxingennachweis oder durch direkten Toxinnachweis mittels ELISA direkt aus dem Kot, wobei nicht für alle Toxine Antikörper zur Verfügung stehen. Für *C. botulinum* gelten die oben genannten methodischen Vorgehensweisen nicht. Der Erreger entzieht sich in der Regel dem kulturellen Nachweis. Nur in wenigen Fällen gelang bisher die Isolierung. Es werden im Untersuchungsmaterial direkt über den Maus-Test bzw. ELISA oder/und Peroxidasetest bzw. nach Anreicherung von Toxin/Toxinen nach Erregervermehrung in einer Probe das oder die Toxine nachgewiesen. Entscheidend

ist jedoch der klinische Befund. Toxin- und Erregernachweis bei gesunden Kühen kommen auch vor. Aus unseren eigenen Untersuchungen steht der Gehalt an mittels ELISA nachweisbaren Botulinumtoxinen nach der Anreicherung in enger Korrelation zur Sporenzahl im Substrat. Erst Sporenzahlen $> 10^3$ /g ergaben ein messbares Toxinsignal. Diese Sporenzahlen sind nach unseren Untersuchungen erst klinisch relevant. Toxin und Sporen sind nicht gleichmäßig im Futter verteilt. Es empfiehlt sich eine repräsentative Mischprobe von ca. 100g. Der Toxinnachweis erfolgt entweder im oben beschriebenen Tierversuch oder mittels immunologischer Tests (ELISA). Beide Testverfahren besitzen nicht die gleiche Spezifität und Sensitivität. Der ELISA-Test weist auch noch Toxinbruchstücke nach, die vom Mausassay nicht mehr erfasst werden.

Monika Krüger

IHRE NOTIZEN

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....