

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

Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

**Die Hämorrhagische Gastroenteritis des Hundes:  
Untersuchungen zu Pathogenese, Krankheitsverlauf  
und Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure**

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

von

Katrin Hedwig Strohmeyer

aus Nürnberg

München 2010

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Klee

Tag der Promotion: 24.07.2010

Für meine Eltern

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>1 Darmflora des Hundes .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1 Physiologische Darmflora.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Enteropathogene Bakterien.....</b>	<b>3</b>
1.2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	4
1.2.1.1 Shigatoxinbildende <i>Escherichia coli</i> .....	4
1.2.1.2 Enterotoxinbildende <i>Escherichia coli</i> .....	6
1.2.1.3 Enteropathogene/attaching and effacing <i>Escherichia coli</i> .....	7
1.2.2 Salmonellen.....	8
1.2.3 <i>Campylobacter</i> .....	10
1.2.4 Clostridien .....	11
1.2.4.1 <i>Clostridium perfringens</i> .....	11
1.2.4.2 <i>Clostridium difficile</i> .....	12
<b>2 Idiopathische Hämorrhagische Gastroenteritis .....</b>	<b>13</b>
2.1 Geschichte .....	13
2.2 Ätiologie.....	14
2.3 Prädisponierende Faktoren.....	16
2.4 Klinische Symptome .....	17
2.5 Laborveränderungen.....	17
2.6 Pathologische und histologische Befunde.....	18
2.7 Diagnose.....	19
2.8 Verlauf.....	20
2.9 Therapie.....	20
<b>III. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>23</b>
<b>1 Teil 1 - Datenvergleich .....</b>	<b>23</b>
1.1 Tiere .....	23
1.1.1 Patienten .....	23
1.1.1.1 Einschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	23
1.1.1.2 Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	24
1.1.2 Klinikpopulation.....	25

---

1.2.3	Kontrollgruppe .....	25
1.2	Untersuchungen.....	25
1.2.1	Anamnese .....	26
1.2.2	Klinische Untersuchung .....	26
1.2.3	Laboruntersuchungen .....	26
1.2.3.1	Blutuntersuchungen.....	26
1.2.3.2	Kotuntersuchungen.....	27
1.2.4	Bildgebende Diagnostik .....	28
1.3	Statistische Auswertung Teil 1.....	29
<b>2.</b>	<b>Teil 2 - Vergleich verschiedener Untergruppen .....</b>	<b>29</b>
2.1	Patienten .....	30
2.1.1	Einschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	30
2.1.2	Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	30
2.2	Untersuchungen.....	32
2.2.1	Anamnese .....	32
2.2.2	Klinische Untersuchung .....	33
2.2.3	Laboruntersuchungen .....	33
2.2.3.1	Blutuntersuchungen.....	33
2.2.3.2	Kotuntersuchungen.....	34
2.2.4	Bildgebende Diagnostik .....	35
2.3	Überwachung des Krankheitsverlaufes.....	36
2.4	Statistische Auswertung Teil 2.....	37
<b>3</b>	<b>Teil 3 - Therapiestudie .....</b>	<b>38</b>
3.1	Patienten .....	38
3.1.1	Einschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	38
3.1.2	Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme .....	38
3.2	Untersuchungen.....	40
3.2.1	Anamnese .....	40
3.2.2	Klinische Untersuchung .....	41
3.2.3	Laboruntersuchungen .....	41
3.2.3.1	Blutuntersuchungen.....	41
3.2.3.2	Kotuntersuchungen.....	42
3.2.4	Bildgebende Diagnostik .....	43
3.3	Therapie.....	44

---

3.3.1	Medikamente .....	44
3.3.2	Überwachung des Therapieerfolges .....	45
3.3.3	Studienabbrecher .....	45
3.3.4	Vergleich von Teilgruppen der Placebo- und Verumgruppe .....	45
3.4	Statistische Auswertung Teil 3.....	46
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>48</b>
<b>1</b>	<b>Teil 1 – Datenvergleich .....</b>	<b>48</b>
1.1	Signalement .....	48
1.2	Anamnese .....	51
1.3	Laborparameter .....	52
1.3.1	Ergebnisse der Blutuntersuchungen .....	52
1.3.2	Ergebnisse der Kotuntersuchungen.....	54
<b>2</b>	<b>Teil 2 – Vergleich verschiedener Untergruppen.....</b>	<b>55</b>
<b>3</b>	<b>Teil 3 - Therapiestudie .....</b>	<b>57</b>
3.1	Vergleich Placebo- und Verumgruppe .....	57
3.1.1	Initialparameter vor Therapiebeginn .....	57
3.1.1.1	Signalement .....	57
3.1.1.2	Anamnese .....	58
3.1.1.3	Laborparameter .....	58
3.1.1.3.1	Ergebnisse der Blutuntersuchungen .....	58
3.1.1.3.2	Ergebnisse der Kotuntersuchungen.....	60
3.1.1.4	Hämorrhagische-Gastroenteritis-Index .....	61
3.1.2	Parameter zur Beurteilung des Therapieerfolges .....	61
3.1.2.1	Hämorrhagische-Gastroenteritis-Index .....	61
3.1.2.2	Dauer des stationären Aufenthaltes.....	62
3.1.2.3	Anzahl Studienabbrecher .....	62
3.2	Vergleich Studienabbrecher und Nichtabbrecher .....	64
3.2.1	Signalement .....	66
3.2.2	Anamnese .....	67
3.2.3	Laborparameter .....	67
3.2.3.1	Ergebnisse der Blutuntersuchungen .....	68
3.2.3.2	Ergebnisse der Kotuntersuchungen.....	68
3.3	Vergleich von Teilgruppen der Placebo- und Verumgruppe .....	70

---

<b>V. DISKUSSION .....</b>	<b>72</b>
<b>VI. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>88</b>
<b>VII. SUMMARY .....</b>	<b>90</b>
<b>VIII. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>92</b>
<b>IX. ANHANG .....</b>	<b>108</b>
<b>1 Anamnesebogen .....</b>	<b>108</b>
<b>2 Untersuchungsprotokoll .....</b>	<b>110</b>
<b>3 Befunde der Sektion von Fall 4 .....</b>	<b>111</b>
<b>4 Befunde der Sektion von Fall 5 .....</b>	<b>112</b>
<b>X. LEBENSLAUF .....</b>	<b>113</b>
<b>XI. DANKSAGUNG .....</b>	<b>114</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

%	Prozent
<	kleiner
=	gleich
>	größer
≤	kleiner gleich
≥	größer gleich
°C	Celsius
µg	Mikrogramm
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AEEC	attaching and effacing <i>Escherichia coli</i>
AE-Läsionen	attaching and effacing lesions (Läsionen durch Anheftung und Zerstörung)
Allgemeinbef.	Allgemeinbefinden
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AP	Alkalische Phosphatase
aPTT	aktivierte partielle Thrombinzeit
Bfp (A)	bundle forming pilus (A)
C.	<i>Campylobacter</i>
ca.	circa
cAMP	zyklisches Adenosin-Mono-Phosphat
Cl.	<i>Clostridium</i>
cpb2	<i>Clostridium-perfringens</i> -beta-2-Toxin-Gen
CPE	<i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin
cpe	<i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin-Gen

---

cPLI	kanine pankreasspezifische Lipase
d. h.	das heißt
DF	Durchfall
DIG	disseminierte intravasale Gerinnung
Dr.	Doktor
dünnfl.	dünnflüssig
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
eae (A/B)	Intimin-Gen (A/B)
EAF	EPEC-Adhärenz-Faktor
EAggEC	enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>
EIEC	enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPEC	enteropathogene <i>Escherichia coli</i>
et al.	et alii
etc.	et cetera
ETEC	enterotoxinbildende <i>Escherichia coli</i>
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradig
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
Gr.	Gruppe
Gran.	Granulozyten
HGE	Hämorrhagische Gastroenteritis
hgr.	hochgradig

---

HUS	Hämorrhagisch-Urämisches-Syndrom
i. v.	intravenös
IE	internationale Einheiten
Inc.	incorporated
IU	international units
KFZ	kapilläre Füllungszeit
kg	Kilogramm
l	Liter
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LT (I/II)	hitzelabiles Enterotoxin (I/II)
m	männlich
MCV	mean corpuscular volume (mittleres korpuskuläres Volumen)
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
mind.	mindestens
mk	männlich kastriert
mmol	Millimol
neutr.	neutrophil
p. o.	per os
PCR	polymerase chain reaction
pH	pondus hydrognii (Gewicht Wasserstoff)
Prof.	Professor
PT	Prothrombinzeit
s. c.	sub cutan (subkutan)
Sek.	Sekunde

---

SGS	Serumgallensäuren
sog.	sogenannt
<i>sp.</i>	Spezies (Singular)
<i>spp.</i>	Spezies (Plural)
ST (a/b)	hitzestabiles Enterotoxin (a/b)
sta	hitzestabiles-Toxin-a-Gen
stabk.	stabkernig
STah	humans hitzestabiles Enterotoxin a
STap	porzines hitzestabiles Enterotoxin a
STEC	shigatoxinbildende <i>Escherichia coli</i>
STX (1/2)	Shigatoxin (1/2)
u. a.	unter anderem
Univ.	Universität
v. a.	vor allem
VT (1/2)	Verotoxin (1/2)
VTEC	Verotoxin-produzierende <i>Escherichia coli</i>
w	weiblich
wk	weiblich kastriert
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
zw.	zwischen
$\alpha$	Alpha
$\beta$	Beta
$\epsilon$	Epsilon
$\iota$	Iota

## I. EINLEITUNG

Akute Durchfallerkrankungen verlaufen beim Hund in der Regel unkompliziert und selbstlimitierend. Blutiger Durchfall hingegen stellt immer einen verkomplizierenden Befund dar. Deshalb müssen bei Patienten mit hämorrhagischen Durchfällen spezielle diagnostische und therapeutische Maßnahmen ergriffen werden.

Der Begriff „Hämorrhagische Gastroenteritis“ stellt per se einen Überbegriff für Durchfälle und Erbrechen mit Blutbeimengungen dar. Im engeren Sinn wird die Bezeichnung „Hämorrhagische Gastroenteritis“ (HGE) für ein spezielles Syndrom verwendet, welches durch einen akut auftretenden, blutigen Durchfall und eine starke Hämokonzentration aufgrund eines massiven Flüssigkeitsverlustes gekennzeichnet ist (BURROWS, 1977).

Bislang sind nur wenige Fallberichte und Studien zu diesem Krankheitsbild veröffentlicht. Es ist bisher nicht gelungen, einen Auslöser der Erkrankung zu identifizieren. Auch gibt es keine Studien, die den gezielten Einsatz von Antibiotika zur Therapie der Erkrankung untersuchen. Deshalb sind die Ziele dieser Studie 1. Daten von Hunden mit HGE zu sammeln und mit Referenzgruppen zu vergleichen, 2. den Krankheitsverlauf in Abhängigkeit von bestimmten anamnestischen und labordiagnostischen Parametern zu verfolgen und 3. im Rahmen einer prospektiven, geblindeten Therapiestudie den Einfluss einer Gabe von Amoxicillin/Clavulansäure bei Hunden mit HGE zu evaluieren.

## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1 DARMFLORA DES HUNDES

Die physiologische Darmflora des Hundes ist im Vergleich zu der des Menschen viel variabler. Während beim Menschen genauere Informationen über Keimzahlen und Zusammensetzung der Darmflora existieren, zeigte eine Studie beim Hund eine große Variabilität in Anzahl und Zusammensetzung der Keime im Gastrointestinaltrakt. Dadurch wird die Interpretation des Keimspektrums im Hinblick auf einen Zusammenhang mit gastrointestinalen Symptomen erschwert (HALL & GERMAN, 2005, WILLARD et al, 1994).

#### 1.1 PHYSIOLOGISCHE DARMFLORA

Die physiologische Darmflora der verschiedenen Darmabschnitte unterscheidet sich aufgrund deren unterschiedlicher Aufgaben. Im Zäkum und Kolon sind die absoluten Keimzahlen am höchsten, da hier die bakterielle Verdauung stattfindet. Im Ileum sind weniger Bakterien zu finden. Der restliche Dünndarm ist relativ keimarm, da hier die Nahrung v. a. durch Fermentation aufgeschlossen wird (AMTSBERG et al., 1989). In einer Studie von Davis und Cleven (1977) konnten keine Keime in Magen und proximalem Duodenum nachgewiesen werden (DAVIS et al., 1977).

Die physiologische Darmflora unterliegt nach der Geburt dramatischen Veränderungen, v. a. in den distaleren Bereichen des Magen-Darm-Traktes. Während bei neugeborenen Welpen bereits ab dem ersten Lebenstag ähnlich hohe Keimzahlen wie bei adulten Hündinnen gefunden wurden, veränderte sich die Zusammensetzung der Bakterienflora mit einem relativen und absoluten Anstieg der Anzahl der anaeroben Bakterien (BUDDINGTON, 2003). Benno und Mitarbeiter (1992) verglichen die bakterielle Darmflora von Hunden unter zwölf Monaten mit der von Hunden über elf Jahren. Sie fanden in allen Dickdarmabschnitten der älteren Hunde eine geringere Anzahl an *Bacteroides*, Eubakterien, Peptostreptokokken, Bifidobakterien, Laktobazillen und Staphylokokken und eine höhere Anzahl an *Cl. perfringens* und Streptokokken im

Vergleich zu den Junghunden (BENNO et al., 1992).

Die Stabilität der Bakterienzusammensetzung wird durch verschiedene allogene (pH-Wert, Nährstoffzusammensetzung, etc.) und endogene Faktoren (Redoxpotential, Konkurrenz um verfügbare Nährstoffe, etc.) beeinflusst (AMTSBERG et al., 1989).

In verschiedenen Studien wurde der Einfluss diverser Faktoren auf die Zusammensetzung der Darmflora untersucht. Davis und Mitarbeiter (1977) sowie Balish und Mitarbeiter (1977) untersuchten den Einfluss einer geschlossenen Umgebung, die für die Haltung von spezifisch-pathogenfreien Tieren konzipiert war, auf vorher normal gehaltene, neun bis zwölf Monate alte Beagles. Es konnte gezeigt werden, dass die Vielfalt der Zusammensetzung der Darmflora bei dermaßen isolierten Tieren stieg (BALISH et al., 1977; DAVIS et al., 1977). Es wurde diskutiert, dass möglicherweise bestimmte Keime, die nur zur transienten Flora zählen, in die geschlossene Umgebung eingeschleppt wurden und sich so durch Anpassung und erleichterte Wiederbesiedelung (Reinfektion) etablieren konnten. Auch eine Veränderung der Mikroumgebung im Gastrointestinaltrakt in geschlossener Umgebung könnte dazu geführt haben, dass sich weniger prädominierende Keime ansiedeln konnten (DAVIS et al., 1977). Amtsberg und Mitarbeiter (1989) zeigten in einer Studie, dass die Futterzusammensetzung die Darmflora beeinflusst (AMTSBERG et al., 1989).

## **1.2 ENTEROPATHOGENE BAKTERIEN**

Im folgenden Abschnitt werden ausgewählte Bakterien, die als darmpathogene Keime eingestuft werden, näher betrachtet. Da viele der Keime sowohl bei Tieren mit Durchfall als auch bei klinisch gesunden Tieren nachgewiesen werden können, ist deren Bedeutung als potentieller Auslöser einer HGE, noch nicht eindeutig geklärt (BEUTIN, 1999; BURNENS et al. 1992; CANTOR et al., 1997; MARKS et al., 2002).

### 1.2.1 *ESCHERICHIA COLI*

Diese gram-negativen Stäbchen gehören zur normalen Darmflora des Hundes und können somit sowohl bei gesunden als auch an Durchfall erkrankten Hunden gefunden werden. Die zahlreichen Stämme werden antigenetisch unterschieden und nach den verschiedenen Virulenzfaktoren und den hervorgerufenen Veränderungen und Krankheitsbildern in Gruppen eingeteilt. Sogenannte enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) und enteroaggregative *Escherichia coli* (EAggEC) konnten bei Hunden bisher nicht isoliert werden, andere Gruppen konnten in Kotproben von verschiedenen Hunden nachgewiesen werden. Die Bedeutung der *E. coli* als darmpathogene Keime beim Hund ist aufgrund unterschiedlicher Studienergebnisse nicht völlig geklärt (BEUTIN, 1999). Die im Folgenden angeführten Studien sollen zeigen, welche Bakterienstämme und Toxine möglicherweise eine Rolle als Durchfallauslöser beim Hund spielen könnten.

#### 1.2.1.1 SHIGATOXINBILDENDE *ESCHERICHIA COLI*

Bei den shigatoxinbildenden *E. coli* (STEC) handelt es sich um eine Gruppe von toxinbildenden *E. coli*. Früher wurden diese noch in die sogenannten Verotoxin- (auch shigella-like-toxin genannt) produzierenden *E. coli* (VTEC) und die STEC unterteilt. Heute wird diese Gruppe nicht mehr unterteilt und einheitlich als STEC bezeichnet. Die Toxine werden alle als Shigatoxine (STX) bezeichnet (SELBITZ, 2002a).

VTEC wurden 1977 erstmalig beschrieben und nach ihrer Toxizität auf Verozellen benannt (KONOWALCHUK et al., 1977). Sie können zu Durchfall bei Kälbern führen und lösen die Ödemkrankheit beim Schwein aus (KARMALI, 1989; GYLES, 1992). Eine bestimmte, als enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) bezeichnete Untergruppe, wird in der Humanmedizin als obligat pathogen angesehen und gilt als Auslöser des sogenannten Hämorrhagisch-urämisches-Syndroms (HUS) beim Menschen (NATARO & KAPER, 1998).

STEC sind durch ihre STX virulent. Im Kaninchenmodell konnte gezeigt werden, dass diese Toxine selektiv die absorptiven Darmepithelzellen an den Zottenspitzen zerstören. Die sekretorischen Kryptenzellen werden jedoch nicht letal geschädigt. Dadurch überwiegen die sekretorischen über die absorptiven Darmepithelzellen,

was eine vermehrte Flüssigkeitsansammlung im Darm und somit Durchfall zur Folge hat (KEENAN et al., 1979; KANDEL et al., 1989).

Die Prävalenz von STEC beim gesunden Hund liegt nach einer Untersuchung durch Beutin (1999) bei 5 % (3/63) (BEUTIN, 1999). Bentancor und Mitarbeiter (2007) fanden bei *E.-coli*-Isolaten aus dem Kot von gesunden Hunden mittels PCR bei 4 % (17/450) STX-1-Gene und bei 4 % (19/450) STX-2-Gene (BENTANCOR et al., 2007).

Zur Darmpathogenität beim Hund wurde durch Hammermueller und Mitarbeiter (1995) eine erste größere Studie durchgeführt. Hier konnten bei *E.-coli*-Isolaten aus dem Kot mittels PCR Gene für STX 2 bei 22 % (10/45) der an Durchfall erkrankten Hunde, jedoch nicht bei gesunden Hunden nachgewiesen werden. Gene für STX 1 wurden gleichermaßen bei gesunden (12 %) und kranken Hunden (9 %) gefunden (HAMMERMUELLER et al., 1995). Eine ähnliche, zuvor bei Katzen durchgeführte Studie zeigte, dass *E. coli*, die von Katzen mit Durchfall isoliert worden waren, öfter und in höheren Mengen STX produzierten als Isolate von Gesunden (ABAAS et al., 1989).

Eine spätere Studie zum Nachweis von *E.-coli*-Toxingenen und -Toxinen bei Greyhounds mit Durchfall kam zu dem Ergebnis, dass sowohl bei den gesunden als auch bei den kranken Hunden eine Korrelation zwischen dem Auffinden von STX-1-Genen oder STX-2-Genen und dem Vorhandensein von STX besteht. Dabei wurden STX-1-Gene bei 3 %, STX-2-Gene bei 23 % und STX bei 25 % der gesunden Hunde nachgewiesen. Unter den Hunden mit Durchfall waren bei 15 % STX-1-Gene, bei 36 % STX-2-Gene und bei 48 % der Hunde STX nachweisbar. Eine signifikante Korrelation bestand nur zwischen dem Auftreten von Durchfall und dem Auffinden von STX-1-Genen (STAATS et al., 2003).

In verschiedenen Fallberichten wurden bei Hunden Krankheitsbilder beschrieben, die dem HUS in der Humanmedizin ähnlich waren und bei denen ein Zusammenhang mit *E. coli* vermutet wurde. Ein Toxinnachweis gelang in diesen Fällen jedoch nicht (HOLLOWAY et al., 1993; CHANTREY et al., 2002; DELL'ORCO et al., 2005).

### 1.2.1.2 ENTEROTOXINBILDENDE *ESCHERICHIA COLI*

Die enterotoxinbildenden *E. coli* (ETEC) sind durch die Bildung von Enterotoxin charakterisiert (BEUTIN, 1999). Es handelt sich hierbei um zwei Gruppen von Enterotoxinen, den sogenannten hitzestabilen Enterotoxinen (ST) und hitzelablen Enterotoxinen (LT). Von LT sind zwei Typen bekannt, LTI und LTII, die sich in ihren B-Untereinheiten unterscheiden. ST wird weiter in STa und STb unterteilt, wobei beim STa nach dem Ursprung noch in humanes (STah) und porcines STa (STap) unterschieden wird (GYLES, 1994; NATARO & KAPER, 1998). Baljer et al. (1986) konnten einen Zusammenhang zwischen ST-Bildung und Hämolyse beobachten (BALJER et al., 1986). Fimbrienantigene konnten in verschiedenen Fällen nachgewiesen werden (OLSON et al., 1985; WASTESON et al., 1988). 1999 wurden in einer Studie von Holland und Mitarbeitern (1999) erstmals bei *E. coli* aus dem Kot von gesunden Hunden mittels PCR ST- und *eae*-Gene gefunden. Das *eae*-Gen kodiert für Intimin, einen Virulenzfaktor, der typischerweise bei attaching and effacing *E. coli* (AEEC) vorkommt (HOLLAND et al., 1999) und deshalb dort näher erläutert wird.

LTI und in geringerem Maß auch LTII binden mit Hilfe der B-Untereinheit an die Zellmembranen und bilden eine Pore, durch die die A-Untereinheit eingeschleust werden kann. Dies führt zu einer funktionellen Störung des Elektrolyttransportes und somit zu sekretorischer Diarrhoe. Aufgrund desselben Pathomechanismus wird auch durch ST Durchfall ausgelöst (SELBITZ, 2002a). Eine signifikante morphologische Veränderung des Darmepithels entsteht nicht (MORRIS & SOJKA, 1985). ETEC wurden erstmals als mögliche Durchfallerreger beim Hund 1980 durch Josse und Mitarbeiter (1980) beschrieben. Bei den Patienten dieser Studie wurden ausschließlich ST-produzierende *E.-coli*-Stämme nachgewiesen (JOSSE et al., 1980). In verschiedenen anderen Studien wurde ein möglicher Zusammenhang von ETEC und Durchfall bei Hunden untersucht. Aufgrund der heterogenen Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien ist die Bedeutung von ETEC als Durchfallerreger beim Hund nicht völlig klar. Hammermueller und Mitarbeiter (1995) wiesen bei 27 % der untersuchten Hunde mit Durchfall Gene für STap und bei 4 % Gene für STb nach. Bei der gesunden Kontrollgruppe konnten keine ST-Gene nachgewiesen werden. LT-Gene wurden weder bei klinisch erkrankten noch bei gesunden Hunden gefunden (HAMMERMUELLER et al., 1995). Staats und Mitarbeiter (2003) fanden Gene für LT bei 3 % der an

Durchfall erkrankten Tiere, nicht aber bei Gesunden. Gene für ST wurden gleichermaßen bei gesunden und an Durchfall erkrankten Hunden gefunden (STAATS et al., 2003).

### **1.2.1.3 ENTEROPATHOGENE/ATTACHING AND EFFACING *ESCHERICHIA COLI***

Die sog. enteropathogenen *E. coli* (EPEC) sind eine heterogene Gruppe von *E. coli*, die das eae-Gen tragen und weder Shiga- noch Enterotoxine bilden. *E. coli*, die nicht zu den typischen EPEC Serogruppen gehören, aber positiv für eae-Gene sind, werden als attaching and effacing *E. coli* (AEEC) bezeichnet (BEUTIN, 1999). EPEC und AEEC sind durch ihre Fähigkeit zur Anheftung und Auslösung von Läsionen im Darm pathogen. Eine initiale lokale Adhärenz an der Schleimhaut erfolgt mit Hilfe des sog. bundle forming pilus (Bfp) und zeigt sich in einer Bildung bakterieller Mikrokolonien im Darm (SCALETSKY et al., 1984; NATARO & KAPER, 1998). Der Bfp ist auf dem EPEC-Adhärenz-Faktor-(EAF)-Plasmid kodiert (LEVINE et al., 1988; NATARO & KAPER, 1998). Eine engere Anheftung an der Schleimhaut entsteht mit Hilfe von Intimin, welches chromosomal durch das eae-Gen kodiert ist. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass bei Bakterien mit Deletionsmutation, bei denen ein Teil des Genorts eae blockiert worden war, weiterhin eine Herstellung von strukturell identischem Intimin, aber keine enge Anheftung an Epithelialzellen mehr möglich war. Dieser Effekt konnte rückgängig gemacht werden, indem das blockierte Gen auf einem Plasmid wieder eingeführt wurde. Dies deutet darauf hin, dass noch weitere Faktoren für die enge Anheftung nötig sind (DONNENBERG et al., 1993). Zur Induktion von attaching-and-effacing-Läsionen (AE-Läsionen) sind außerdem noch weitere Faktoren nötig (BLISKA et al., 1993; ROSENSHINE & FINLAY, 1993; FOUBISTER et al., 1994).

In einer Studie an Schweinen und Kaninchen konnte gezeigt werden, dass humane EPEC-Stämme zu einem Verlust von Epithelialzellen und Mikrovilli führen. Die verbleibenden Epithelialzellen zeigen einen Zytoplasmaverlust und eine Zytoplasmadegeneration (MOON et al., 1983).

Allgemein wird angenommen, dass der Durchfall durch den Mikrovilliverlust im Bereich der AE-Läsionen und einer resultierenden Malabsorption entsteht. Vermutlich sind auch Mechanismen beteiligt, die eine aktive Sekretion auslösen

(MOON et al., 1983; NATARO & KAPER, 1998). In verschiedenen Studien wurden das Vorkommen von EPEC- und AEEC-Infektionen und ein möglicher Zusammenhang mit dem Auftreten von Durchfall beim Hund untersucht. Broes und Mitarbeiter (1988) beschrieben einen Fall eines Hundewelpen mit chronischem Durchfall. Untersuchungen ergaben, dass eine starke Besiedelung der Dünndarmmukosa mit AEEC vorlag (BROES et al., 1988). Janke und Mitarbeiter (1989) konnten bei drei Hundewelpen im Alter von sieben bis acht Wochen, bei denen in der Sektion AE-Läsionen aufgefallen waren, AEEC isolieren. Es konnten keine anderen Enteropathogene nachgewiesen werden (JANKE et al., 1989). In einer weiteren Studie wurden 13 Tiere mit Colibazillose in Routinesektionen untersucht. Das Alter der Hunde lag größtenteils zwischen eineinhalb bis drei Monaten. Bei zwölf von 13 Tieren konnte eine Infektion mit AEEC nachgewiesen werden. Bei acht lagen Koinfektionen mit anderen Enteropathogenen vor (DROLET et al., 1994). Diese Daten deuten darauf hin, dass EPEC/AEEC v. a. beim Jungtier Bedeutung als potentielle Durchfallerreger haben (BEUTIN, 1999).

Beaudrey und Mitarbeiter (1996) untersuchten 13 *E.-coli*-Isolate von Hunden mit AE-Läsionen auf typische Virulenzfaktoren von humanen EPEC. Sie konnten bei neun von 13 Isolaten eaeA-Gene nachweisen, bei vier davon auch eaeB-Gene. Bei sechs von 13 konnte bfpA-Gene isoliert werden. Bei acht von 13 gelang der Nachweis von EAF (BEAUDRY et al., 1996).

Im Jahr 1999 wurden *E. coli* im Kot von klinisch gesunden Hunden im Alter von fünf Monaten auf Virulenzfaktorgene untersucht. Bei verschiedenen Hunden aus diesem Bestand traten gelegentlich gastrointestinale Blutungen auf. Vorangegangene Kotuntersuchungen hatten jedoch keine Ursache für die Symptomatik ergeben. Bei 55 % (140/260) von 260 *E.-coli*-ähnlichen Kolonien wurden STa-Gene und/oder eae-Gene gefunden. Von diesen 140 Kolonien wurden 60 weiter untersucht; bei 38 % (23/60) davon wurden nur eae-Gene, nachgewiesen (HOLLAND et al., 1999).

### 1.2.2 SALMONELLEN

Diese gramnegativen Stäbchen werden nicht als Bestandteil der physiologischen Darmflora angesehen. Salmonellen sind durch Toxine (Endo-, Zyto- und

Enterotoxine), ihre Adhäsivität, Invasivität und das Vermögen, intrazellulär zu „parasitieren“, pathogen (SELBITZ, 2002b). In Studien konnte gezeigt werden, dass bei engem Kontakt von Salmonellen an den Mikrovilli der Darmepithelzellen starke Veränderungen entstehen. Diese sind jedoch reversibel, wenn die Salmonellen den Intrazellularraum erreicht haben. Weder die molekulare Ursache, noch die Bedeutung dieses für Salmonellen wohl einzigartigen Phänomens für die Invasion sind bisher bekannt (TAKEUCHI, 1967; FINLAY & FALKOW, 1990; GINOCCHIO et al., 1992).

In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche Studien zur Untersuchung der Prävalenz von Salmonellen im Kot von klinisch gesunden Hunden durchgeführt (OJO, 1994; CANTOR et al., 1997; KOCABIYIK et al., 2006; BAGCIGIL et al., 2007; TSAI et al., 2007). Die Ergebnisse variierten zwischen 0 % Prävalenz bei streunenden Hunden in Trinidad (OJO, 1994) und 69 % Prävalenz bei Schlittenhunden, die an einem Schlittenhunderennen in Alaska teilnahmen (CANTOR et al., 1997). Als Ursache der hohen Prävalenz wurde bei Schlittenhunden die Fütterung von rohem, Salmonellen belasteten Fleisch diskutiert (CHENGAPPA et al., 1993). Um diesen Zusammenhang zu belegen, verglichen Stone und Mitarbeiter (1993) die Salmonellenstämme aus dem Kot von 41 Hunden mit Gastroenteritis mit den Salmonellenstämmen aus dem unmittelbar vor Beginn der Erkrankung gefütterten Futters auf identische Merkmale. Sie konnten identische Stämme in Futter und Kot nachweisen und somit einen Zusammenhang von Salmonellen belastetem Futter und der Ausscheidung von Salmonellen im Kot beweisen. Außerdem wurden bei den 41 Hunden mit Durchfall signifikant häufiger Salmonellen nachweisen (61 %) als bei 35 klinisch gesunden Hunden (11 %) (STONE et al., 1993). Bei Cantor und Mitarbeitern (1997) konnte dies jedoch nicht nachvollzogen werden. Hier lag die Prävalenz bei asymptomatischen Tieren bei 69 %, die der klinisch erkrankten bei 63 % (CANTOR et al., 1997).

Ein potentieller Zusammenhang zwischen Salmonellenausscheidung und klinischer Erkrankung wurde auch bei Sato und Kuwamoto (1999) beschrieben. Hier konnte bei einem an Durchfall erkrankten Hund *Salmonella infantis* nachgewiesen werden (SATO & KUWAMOTO, 1999).

### 1.2.3 *CAMPYLOBACTER*

*Campylobacter* (*C.*) sind gramnegative gebogene Stäbchen, die in der Humanmedizin als häufigste Ursache für eine bakterielle Enteritis von Bedeutung sind (WASSENAAR & BLASER, 1999). Ihre Virulenz beruht auf der Beweglichkeit durch Fimbrien, der Fähigkeit zur Adhärenz, der Produktion von Zytotoxin und Enterotoxin und ihrer Fähigkeit zur Invasion in die Darmmukosa (WASSENAAR & BLASER, 1999). Bei dem Zytotoxin handelt es sich um ein Toxin, das dem von bestimmten *E. coli* spp. und *Cl. difficile* ähnelt und möglicherweise für die Invasivität verantwortlich ist (GUERRANT et al., 1987). Nach oraler Aufnahme besiedeln *Campylobacter* spp. Ileum und Kolon, heften sich am Epithel an und dringen, je nach Stamm, in die Mukosa ein (KONKEL & JOENS, 1989; EVEREST et al., 1992; KONKEL et al., 1992; OELSCHLAEGGER et al., 1993). Die genaue Ursache für die Entstehung von Durchfall ist noch unklar. Möglicherweise ist eine lokale Entzündung durch Ausschüttung von Entzündungsmediatoren dafür verantwortlich (EVEREST et al., 1993; HICKEY et al., 1999).

Eine klinische Erkrankung bei Campylobakterinfektionen scheint beim Tier durch eine Koinfektion mit anderen infektiösen Erregern, wie Parvoviren, Salmonellen und Giardien, begünstigt zu werden (BRUCE et al., 1980; SANDSTEDT & WIERUP, 1981). Zur Prävalenz bei Hund und Katze wurden verschiedene Studien durchgeführt. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass *Campylobacter* bei klinisch gesunden Hunden und Katzen nachgewiesen werden kann (TORRE & TELLO, 1993; SHEN et al., 2001). Die Prävalenz von verschiedenen *Campylobacter* spp. bei Hunden und Katzen lag zwischen 4 % und 55 % (DILLON et al., 1987; BENDER et al., 2005).

Torre und Tello (1993) sowie Bender und Mitarbeiter (2005) zeigten eine signifikant höhere Prävalenz von *Campylobacter* bei Jungtieren, sowie eine vermehrte Ausscheidung im Sommer und Herbst (TORRE & TELLO, 1993; BENDER et al., 2005). Moser und Mitarbeiter (2001) wiesen signifikant öfter *C. upsaliensis* bei Hunden über zwölf Monaten (55 %) als bei jüngeren Tieren (28 %) nach (MOSEER et al., 2001).

Burnens und Mitarbeiter (1992) konnten bei Hunden unter zwölf Monaten einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von *Campylobacter* und dem Vorhandensein von Durchfall zeigen. In dieser Studie waren 44 % der

Hunde unter einem Jahr mit Durchfall *Campylobacter* positiv, während unter den gleichaltrigen Tieren ohne Durchfall nur 21 % *Campylobacter* ausschieden. Für ältere Hunde und Katzen lag kein Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen und Erregernachweis vor (BURNENS et al., 1992).

#### 1.2.4 CLOSTRIDIEN

Clostridien (Cl.) sind anaerobe grampositive Sporenbildner, die Teil der physiologischen Darmflora des Hundes sind (SONGER, 1996). *Cl. perfringens* und *Cl. difficile* gehören zu den am häufigsten als Durchfallerreger verdächtigten *Clostridien spp.* (CAVE et al., 2002).

##### 1.2.4.1 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

*Cl. perfringens* werden je nach Produktion der vier Haupttoxine ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\iota$ ,  $\epsilon$ ,) in fünf toxische Typen (A - E) unterteilt. Zusätzlich werden mindestens zehn weitere Toxine gebildet, darunter *Cl.-perfringens*-Enterotoxin (CPE) (MCDONEL, 1986). CPE kann von allen Typen gebildet werden, hauptsächlich wird es aber von Typ A produziert. Die Expressierung des Toxins ist eng mit der Sporulation korreliert (SONGER, 1996).

Für die pathogene Wirkung von CPE im Darm ist die Bindung an spezielle Rezeptoren nötig. Katahira und Mitarbeiter (1997) konnten zeigen, dass auch resistente Mauszellen (ohne CPE-Rezeptor) nach dem Einbau von CPE-Rezeptoren durch CPE geschädigt werden können (KATAHIRA et al., 1997). Nach Erkennung und Bindung an den Rezeptor kommt es zu einer erhöhten Permeabilität der Plasmamembranen für kleine Moleküle und somit zu einem Zusammenbruch des kolloidosmotischen Gleichgewichts (SARKER et al., 1999; MCCLANE, 2000). Weiterhin wurden schwere Zellabschilferungen des Villusepithels, Villusverkürzung und neutrophile Wandinfiltrate beschrieben (MCDONEL & DUNCAN, 1977; MCDONEL & DEMERS, 1982; SHERMAN et al., 1994; SARKER et al., 1999).

In einer experimentellen Studie beim Hund konnte gezeigt werden, dass CPE nach oraler Gabe und direkter Gabe ins Darmlumen zu einer signifikanten Flüssigkeitsansammlung im Dünndarm führt (BARTLETT et al., 1972). Auch

tight junctions im Darmepithel, an denen die CPE-Rezeptoren hauptsächlich lokalisiert sind, werden durch CPE geschädigt (SONODA et al., 1999). Inwiefern dies jedoch zur Pathogenese beiträgt, ist noch unklar (MCCLANE, 2000).

Es besteht kein signifikanter Unterschied in der Prävalenz von *Cl. perfringens* zwischen klinisch gesunden Hunden und Hunden mit Durchfall (MARKS et al., 2002); in mehreren Studien konnte aber signifikant öfter CPE bei an Durchfall erkrankten Hunden als bei gesunden Vergleichshunden gefunden werden. So waren bei Kruth und Mitarbeitern (1989) 41 % der erkrankten Tiere CPE-positiv gegenüber 7 % der nicht erkrankten (KRUTH et al., 1989). Bei Weese und Mitarbeitern (2001) waren es 28 % (24/87) gegenüber 5 % (3/55) (WEESE et al., 2001). Marks und Mitarbeiter (2002) wiesen CPE mittels ELISA bei 12 % (7/58) von klinisch gesunden Hunden, bei 14 % (6/42) von hospitalisierten Hunden ohne Durchfall und bei 34 % (11/32) von hospitalisierten Hunden mit Durchfall nach. Es bestand sowohl ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einem positiven CPE-ELISA und Durchfall als auch zwischen einer positiven cpe-PCR und dem Vorliegen von Durchfall. Ob jedoch dabei das Toxin ursächlich an der Erkrankung beteiligt ist, oder nur durch eine sekundäre Überwucherung CPE-bildender *Cl. perfringens* vermehrt gebildet wird, ist unklar (MARKS et al., 2002).

Thiede und Mitarbeiter (2001) untersuchten Kot oder Darmproben von 24 Hunden mit Durchfall, bei denen *Cl. perfringens* nachgewiesen worden war, auf das Vorhandensein von Clostridientoxinogenen. Sie konnten bei 32 % der Proben das cpb2-Gen, welches für  $\beta$ -2-Toxin kodiert, nachweisen. Da bei 16 % der Proben nur das cpb2-Gen und nicht das cpe-Gen zu finden war, folgerten sie, dass das  $\beta$ -2-Toxin möglicherweise eine Rolle bei der Auslösung von Durchfall spielt (THIEDE et al., 2001).

#### **1.2.4.2 CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

*Cl. difficile* ist vor allem beim Pferd und in der Humanmedizin von Bedeutung. Prädisponierend für eine *Cl.-difficile*-assoziierte Erkrankung scheinen hier Antibiotikatherapien zu sein (HO et al., 1996). Dieser Zusammenhang kann beim Hund nicht generell beobachtet werden (STRUBLE et al., 1994; WEESE et al., 2001; MARKS et al., 2002). In einer untersuchten Gruppe von gesunden, nicht

hospitalisierten Hunden bestand bei Marks und Mitarbeitern (2002) jedoch ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *Cl. difficile* und einer vorangegangenen Antibiotikagabe (Marks et al., 2002).

Für die Pathogenität von *Cl. difficile* sind unter fünf bisher bekannten Toxinen vor allem Toxin A und Toxin B von Bedeutung (LYERLY et al., 1982; BARBUT et al., 2002). Im Gegensatz zu Toxin A, einem Enterotoxin, das eine Sekretion von Flüssigkeit ins Darmlumen verursacht, führt Toxin B, ein Zytotoxin, nicht zu einem bedeutenden Flüssigkeitsverlust über den Darm, sondern zu einer letalen Schädigung von Darmzellen (LYERLY et al., 1985).

In mehreren Studien konnte bei Hunden kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *Cl. difficile* im Kot und Durchfall nachgewiesen werden (STRUBLE et al., 1994; WEESE et al., 2001; MARKS et al., 2002). Marks und Mitarbeiter (2002) fanden jedoch bei Hunden mit Durchfall mittels ELISA signifikant öfter Toxin A, nämlich in 13 % (4/31) der Fälle, als bei klinisch gesunden Vergleichshunden. Hier waren nur 1 % (1/99) der Hunde positiv (MARKS et al., 2002). Dies bestätigte die Ergebnisse von Weese und Mitarbeiter (2001), die bei 21 % (18/87) der an Durchfall erkrankten Tiere Toxin A und B nachweisen konnten, bei Hunden ohne Symptome jedoch nur bei 7 % (4/55) der Hunde (WEESE et al., 2001).

## **2 IDIOPATHISCHE HÄMORRHAGISCHE GASTROENTERITIS**

Im Folgenden wird die Bezeichnung „Hämorrhagische Gastroenteritis“ nur für die idiopathischen blutigen Durchfallerkrankungen verwendet. Es handelt sich dabei um eine akut auftretende Erkrankung, bei der die betroffenen Hunde blutigen Durchfall mit oder ohne Erbrechen zeigen. Seit den ersten Beschreibungen dieses Syndroms wurde ein starker gastrointestinaler Flüssigkeitsverlust, der oft zu einer deutlichen Hämokonzentration führt, als charakteristisch angesehen (BURROWS, 1977).

### **2.1 GESCHICHTE**

Die Hämorrhagische Gastroenteritis, kurz HGE, wurde in der Literatur erstmals von Hill (1972) als eigenständiges Syndrom beschrieben (HILL, 1972). Sie ist

eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung des Hundes (BURROWS, 1977). Die damalige Bezeichnung „canine intestinal hemorrhage syndrome“ (HILL, 1972) ist wahrscheinlich zutreffender als die heutige Bezeichnung „Hämorrhagische Gastroenteritis“, die das Zugrundeliegen einer Entzündung impliziert (BURROWS, 1977). Denn in den bisher durchgeführten histologischen Untersuchungen des Darms von Hunden mit HGE konnten keine Hinweise auf Entzündung gefunden werden (BURROWS, 1977). In einer ersten größeren Studie über HGE aus dem Jahr 1977 von Burrows wurde das Syndrom als spezifisches Krankheitsbild anerkannt. Es wurden Kriterien ermittelt, die als typisch für die Erkrankung angesehen werden. So gelten seitdem der akute Beginn eines blutig wässrigen Durchfalls und eine meist deutliche Hämokonzentration mit einem Hämatokrit über 60 % als Hinweise für das Vorliegen einer HGE (BURROWS, 1977). Da bis heute die Ursache der Erkrankung nicht bekannt ist, werden diese Kriterien auch heute noch, in Kombination mit dem Ausschluss anderer bekannter Ursachen für blutigen Durchfall, zur Diagnosestellung herangezogen.

## 2.2 ÄTIOLOGIE

In den vergangenen Jahren wurden verschiedene Ursachen als potentielle Auslöser einer HGE diskutiert. Hill (1972) vermutete aufgrund des akuten Verlaufs und der Ähnlichkeit zum experimentell ausgelösten Endotoxinschock eine allergische oder anaphylaktische Reaktion. Möglicherweise können unbekannte Fütterungsfaktoren und einfache Magendarmverstörungen den normalen Bakterienhomöostasemechanismus stören und so eine Überproduktion von schädlichen und sensibilisierenden Endotoxinen ermöglichen (HILL, 1972). Dies könnte möglicherweise erklären, warum die Erkrankung gehäuft bei jung adulten Tieren auftritt, da dies die Lebensphase ist, in der die Tiere am empfindlichsten für anaphylaktische Reaktionen sind (MACLEAN & WEIL, 1956). Spielman und Garvey (1993) hielten einen Endotoxinschock für weniger wahrscheinlich, da in diesen Fällen eher Thrombozytopenien und keine dramatische Hämokonzentration zu erwarten wäre (KRUTH, 2006; SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Den Autoren Burrows (1977) und Hill (1972) fiel eine gewisse Ähnlichkeit zu beschriebenen klinischen Verläufen von akuten Futtermittelallergien auf (BAKER, 1974; BURROWS, 1977; HILL, 1972). In der Studie von Burrows (1977) konnte jedoch kein vermehrtes Auftreten von HGE bei bekannten Futtermittelallergikern beobachtet werden. Die Fütterung schien keine wichtige Rolle als Auslöser zu spielen, da die Tiere ihr gewohntes Futter sowohl vor als auch nach der Erkrankung problemlos vertrugen (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Eine weitere Theorie zur Ätiologie der HGE ist eine zugrunde liegende, abnorme Immunantwort (STROMBECK & GUILFORD, 1990). Im Versuch mit Hunden, denen Antikörper gegen Dickdarmmukosa gespritzt wurden, konnten Schleimhautblutungen und Nekrosen nachgewiesen werden (LEVEEN et al., 1961; SHEAN et al., 1964). Ähnliche Schleimhautläsionen wurden bei Tieren beobachtet, die an HGE gestorben waren und deren Darm histopathologisch untersucht worden war (PRESCOTT et al., 1978; BADCOE, 1992; SASAKI et al., 1999). Möglicherweise können auch gewisse Dickdarmbakterien eine solche Immunreaktion auslösen (SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Andere Autoren vermuteten, dass verschiedene darmpathogene Keime eine Rolle bei der Entstehung der HGE spielen. Prescott und Mitarbeiter (1978) fanden in zwei Fällen bei Hunden, die an HGE verstorben waren, massenhaft *Cl. welchii*, die an der Darmschleimhaut im Bereich der veränderten Darmabschnitte anhafteten (PRESCOTT et al., 1978). Diese Clostridien wurden zuvor bei ähnlichen Erkrankungen bei Lämmern, Kälbern, und Ferkeln nachgewiesen (GRINER & BRACKEN, 1953; GRINER & JOHNSON, 1954; HOGH, 1969). Da jedoch *Cl. welchii* im Dickdarm von Hunden physiologisch vorkommen, wurde spekuliert, dass möglicherweise eine erhöhte Bakterienzahl oder eine übermäßig schnelle Vermehrung in bestimmten Situationen einen auslösender Faktor für blutigen Durchfall darstellen könnte (PRESCOTT et al., 1978).

Auch Lloyd-Evans (1978) vermutete, dass möglicherweise stark an der Darmwand anhaftende Enteropathogene, welche klinisch schwer nachweisbar sind, eine Rolle spielen (LLOYD-EVANS, 1978). Slee (1979) beschrieb zwei Fälle, in denen *Campylobacter* sp. im Zusammenhang mit einer tödlich verlaufenen HGE nachgewiesen worden war (SLEE, 1979).

Eine Studie zum Nachweis enteropathogener Keime bei Hunden mit HGE ergab keine Hinweise, dass Bakterien einen solchen Krankheitsprozess auslösen. Es ist jedoch möglich, dass physiologisch im Darm vorkommende Bakterien den Krankheitsverlauf verkomplizieren können, wenn diese durch die stark geschädigte Darmschleimhaut vermehrt in den Blutstrom übertreten (STROMBECK & GUILFORD, 1990; SPIELMAN & GARVEY, 1993).

In mehreren Publikationen wurde ein Zusammenhang zwischen einer HGE und einer *Cl.-perfringens*-Infektion diskutiert (PRESCOTT et al., 1978; BERG et al., 1979; BADCOE, 1992). In einem Fall wurde bei einem Hund, der an HGE gestorben war, *Cl. perfringens Typ A* aus dem Darm isoliert. Die grampositiven Stäbchen wurden in Darmbiopsieproben nachgewiesen (SASAKI et al., 1999). Badcoe (1992) konnte aus dem Darm eines akut an HGE verstorbenen Chihuahuas große Mengen an *Clostridium* spp. isolieren (BADCOE, 1992).

### 2.3 PRÄDISPONIERENDE FAKTOREN

Prinzipiell scheint die HGE bei allen Rassen und Altersgruppen aufzutreten. Es liegt keine Geschlechtsprädisposition vor (BURROWS, 1977). Schon in der ersten Publikation über HGE schienen jedoch Toyrassen in der Patientenpopulation überrepräsentiert zu sein (HILL, 1972). Bestätigt wurde diese Beobachtung 1977 in einer Studie mit 125 Hunden. Hier zeigte sich ein signifikant vermehrtes Auftreten bei Mini-Schnauzern, Mini- und Toy-Pudeln, sowie allgemein bei kleinen Rassen (BURROWS, 1977). Beim Schnauzer wurden als Gründe eine mögliche zugrundeliegende erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Allergien und eine erhöhte Inzidenz eines von-Willebrand-Faktormangels diskutiert. Beim Pudel wurde aufgrund des vermehrten Vorkommens von immunmedierten Thrombozytopenien bei dieser Rasse über einen rassespezifischen, genetischen Defekt in der Immunabwehr spekuliert (BURROWS, 1977). Die Rasseprädisposition für Pudel, Schnauzer und Yorkshireterrier zeigte sich auch in einer Studie von Spielman und Garvey (1993). Diese Autoren vermuteten, dass Toyrassen möglicherweise anfälliger für Stress sind. Dies könnte zu einer reduzierten Darmmotilität und somit zu einer sekundären bakteriellen Überwucherung führen (SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Am häufigsten schienen Tiere im Alter zwischen zwei und vier Jahren zu erkranken, während Hunde unter einem Jahr signifikant weniger häufig betroffen waren. Die HGE schien vermehrt in kalten Jahreszeiten aufzutreten. Die Unterschiede in der jahreszeitlichen Verteilung waren jedoch statistisch nicht signifikant. Bei 6 % der Hunde mit HGE war zuvor bereits mindestens eine HGE-Episode behandelt worden (BURROWS, 1977).

#### **2.4 KLINISCHE SYMPTOME**

Typischerweise beginnt die Erkrankung bei klinisch zuvor völlig unauffälligen Hunden akut. Die Tiere setzen wässrig blutigen, übelriechenden Durchfall ab und zeigen ein mehr oder weniger stark reduziertes Allgemeinbefinden. Viele der Hunde erbrechen zusätzlich (HILL, 1972; BURROWS, 1977). In den meisten Fällen ist der Hämatokrit durch den starken Flüssigkeitsverlust deutlich erhöht. Es ist beschrieben, dass in manchen Fällen durch den akuten Verlauf der Erkrankung klinisch noch keine Dehydratation erfassbar ist, da in einer so kurzen Zeit noch kein vollständiger Flüssigkeitsausgleich zwischen den Körperkompartimenten erfolgt. So kann sich der Flüssigkeitsverlust zunächst nur in einer starken Hämokonzentration, nicht aber in einer Verminderung des Hautturgors äußern (SPIELMAN & GARVEY, 1993).

#### **2.5 LABORVERÄNDERUNGEN**

Als charakteristische Laborveränderung im Zusammenhang mit HGE ist der erhöhte Hämatokrit beschrieben (COTTON & THERAN, 1974). Burrows (1977) ging sogar davon aus, dass Hunde, deren Hämatokrit unter 50 % liegt, nicht an einer akuten HGE leiden und schloss diese aus seiner Studie aus (BURROWS, 1977). Auch Spielmann und Garvey (1993) nahmen in ihre Studie nur Hunde mit einem Hämatokrit von mindestens 60 % auf (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Als Ursachen für diese Hämokonzentration werden der massive Flüssigkeitsverlust in den Darm und möglicherweise eine Kontraktion der Milz aufgrund des Schockgeschehens (CHIEN et al., 1973) gesehen. Der starke Flüssigkeitsverlust wurde dabei einer erhöhten Permeabilität der Kapillarwände zugeschrieben (PENNER & BERNHEIM, 1942; LILLEHEI & MACLEAN, 1958; GILBERT, 1960; RUSH & SPARCS, 1967). Der Hämatokrit scheint v. a.

auch prognostisch ein wichtiger Parameter zu sein. So lag der Hämatokrit in der Studie von Burrows (1977) bei den verstorbenen Tieren im Durchschnitt bei 73 %. Burrows (1977) ging davon aus, dass ab einem Wert über 70 % die Prognose für das Tier initial vorsichtig zu stellen ist (BURROWS, 1977).

Als weitere häufige Laborveränderungen beschrieb Burrows (1977) eine leichte Neutrophilie sowie eine moderate Lymphozytopenie. Die Thrombozytenzahl war meist an der unteren Grenze des Referenzbereichs oder erniedrigt. Die Gerinnungszeiten Prothrombinzeit und partielle Thromboplastinzeit waren insgesamt verlängert. Fibrinolytische Produkte konnten z. T. nachgewiesen werden (BURROWS, 1977). Diese Veränderungen sprechen für das Vorliegen einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIG) (PIERCE, 1973; RODRIGUEZ-ERDMANN, 1974). Unter den übrigen Laborparametern der Serumchemie und der Blutgasanalyse gab es keine regelmäßig auftretenden Veränderungen (BURROWS, 1977).

## **2.6 PATHOLOGISCHE UND HISTOLOGISCHE BEFUNDE**

In den bisher durchgeführten Sektionen waren Veränderungen fast ausschließlich auf den Darm beschränkt (BURROWS, 1977; PRESCOTT et al., 1978). Hill (1972) beschrieb zusätzlich, dass häufig Leber und Nieren blass waren und die Tier z. T. subendokardiale Blutungen aufwies (HILL, 1972). Makroskopisch sah der Darm dunkel gefärbt und aufgetrieben aus. In manchen Fällen war der gesamte Darm betroffen, in anderen Fällen waren nur ein oder mehrere Darmabschnitte oder verschiedene Abschnitte unterschiedlich stark verändert (HILL, 1972; BURROWS, 1977; PRESCOTT et al., 1978). Bei einem von Prescott und Mitarbeitern (1978) untersuchten Tier schien die Serosa aufgeraut (PRESCOTT et al., 1978). Generell befand sich im Darm, z. T. auch im Magen, blutig wässrige Flüssigkeit, die Oberfläche der Mukosa war dunkelrot bis schwarz und samtartig-rau (HILL, 1972; BURROWS, 1977; PRESCOTT et al., 1978). In weniger schwer betroffenen Arealen wirkte die Oberfläche ödematös bis autolytisch. Es konnte keine offensichtliche Blutungsstelle entdeckt werden (HILL, 1972).

Histologisch konnte bei Prescott und Mitarbeitern (1978) sowie Sasaki und Mitarbeitern (1999) bei mehreren Fällen im Darm und bei einem weiteren Fall im

Magen Nekrose nachgewiesen werden. An den nekrotischen Bereichen waren Fibrin, Detritus und Bakterien (v. a. grampositive *Bacilli*) anhaftend. Während bei Sasaki und Mitarbeitern (1999) nur wenige Entzündungszellen gefunden wurden, konnten bei Prescott und Mitarbeitern (1978) mäßig viele polymorphkernige neutrophile Granulozyten und mononukleäre Entzündungszellen nachgewiesen werden (PRESCOTT et al., 1978; SASAKI et al., 1999). Bei den von Hill (1972) untersuchten Darmabschnitten schien die Mukosa intakt, allerdings war die Architektur der Villi unterbrochen. In den Kapillaren der *Lamina propria* der Mukosa und der Submukosa, zeigten sich Gefäßverschlüsse durch Zellansammlungen. In den tieferen Schichten des Darms waren keine Veränderungen zu erkennen (HILL, 1972).

## 2.7 DIAGNOSE

Das klinische Bild kann verdächtig für das Vorliegen einer HGE sein (HILL, 1972). Da die Ätiologie der HGE noch unklar ist, kann die Diagnose nur durch das „typische“ klinische Bild in Kombination mit dem Ausschluss aller anderen möglichen Ursachen für blutigen Durchfall gesichert werden.

Als andere Ursachen für blutige Durchfälle kommen Hämostasestörungen durch Thrombozytopenien, Thrombozytopathien und Koagulopathien in Frage. Diese können infolge von Intoxikationen mit Vitamin-K-Antagonisten, von-Willebrand-Faktormangel, immunmediierter Thrombozytopenien oder disseminierter intravasaler Gerinnung (DIG) in Kombination mit einer gastrointestinalen Irritation auftreten. Zusätzlich kommen Magenulzera, gastrointestinale Neoplasien, Kolitis sowie gastrointestinale Fremdkörper in Betracht (HILL, 1972; BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Weiterhin müssen virale Erreger, wie Parvoviren, Parasiten wie Peitschenwürmer, Hakenwürmer, Kokkizidien und Giardien ausgeschlossen werden. Da Coronaviren und Keime, wie *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., bestimmte *Escherichia coli* spp. potentiell enteropathogen sein können, wurde von manchen Autoren zusätzlich deren Ausschluss empfohlen (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Andere mögliche Ursachen sind eine akute Pankreatitis, ein „Schock-Darm“ und ein Hypoadrenokortizismus (BURROWS, 1977).

## 2.8 VERLAUF

Die HGE ist eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung, so dass in jedem Fall eine tierärztliche Behandlung angezeigt ist (BURROWS, 1977). Bei frühzeitiger Behandlung ist laut Hill (1972) die Prognose gut, da sich die Hunde in der Regel unter entsprechender Therapie sehr schnell erholen (HILL, 1972). Wise und Parmer (1977) beobachteten bereits eine deutliche Verbesserung der Symptomatik ein bis zwei Stunden nach Therapiebeginn (WISE & PARMER, 1977). Die Mortalität lag in einer Studie mit 125 Hunden bei 6 % unter den hospitalisierten Tieren, zusammen mit den ambulant behandelten insgesamt bei 8 % (BURROWS, 1977). Verschiedene Parameter wurden in der Literatur als prognostische Kriterien erwähnt. So scheinen Tiere mit einem höheren Hämatokrit (über 70 %) eine vorsichtiger Prognose zu haben (BURROWS, 1977). Lloyd-Evans (1978) hatte den Eindruck, dass die Prognose von der Körpertemperatur und der Kreislaufsituation des Tieres abhinge (LLOYD-EVANS, 1978).

Als häufigste Komplikation tritt bei Patienten, die keine Flüssigkeitstherapie erhalten, ein hypovolämischer Schock mit Kreislaufversagen ein (HILL, 1972; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Spielman und Garvey (1993) beobachteten in ihrer Studie auch das Auftreten von kardialen Arrhythmien, sowie einen plötzlichen Tod nach 24 bis 72 Stunden (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Eine weitere beschriebene Komplikation ist die Entwicklung einer DIG (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993).

## 2.9 THERAPIE

Bei den in der Literatur beschriebenen Therapiemaßnahmen handelt es sich um zum Teil alte Empfehlungen der jeweiligen Autoren, welche heutzutage als überholt gelten. Der Nutzen bei der Behandlung von Hunden mit HGE (insbesondere des Einsatzes einer antibiotischen Therapie) ist nicht durch Studien belegt.

Burrows (1977) beschrieb, dass es sich bei der Therapie der HGE um eine „symptomatische Therapie“ handelt, die vor einem möglichen hypovolämischen Schock schützen und den Darm vor weiterem Schaden bewahren soll (BURROWS, 1977). Während Hill (1972) noch die Gabe von Vollblut vorschlug (HILL, 1972), wurde in den späteren Veröffentlichungen die Applikation von

kristalloiden Lösungen empfohlen (BURROWS, 1977; WISE & PARMER, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Vor allem in schweren Fällen (Hämatokrit über 60 %) ist eine intravenöse Flüssigkeitssubstitution angezeigt (BURROWS, 1977). Wegen einer möglichen anaphylaktischen Ätiologie und um die Folgen eines Schockgeschehens zu vermindern (STROMBECK & GUILFORD, 1990), wurde in früheren Veröffentlichungen auch die Anwendung von kurzwirksamen Kortikosteroiden empfohlen (HILL, 1972; BURROWS, 1977; WISE & PARMER, 1977; LLOYD-EVANS, 1978; POST & FELDMAN, 1978; SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Mit dem Flüssigkeitsersatz sollte gleichzeitig ein Elektrolytausgleich erfolgen, sowie im Falle einer Azidose gegebenenfalls eine Administration von Natriumbikarbonat (BURROWS, 1977; KRAFT, 1996). Unterstützend kann je nach Bedarf zusätzlich eine antiemetische Therapie durchgeführt werden (BURROWS, 1977). Eine medikamentelle Hemmung der Darmmotorik durch Parasympatholytika oder die Verabreichung von Absorbentien, wie Kaopektat, ist beschrieben (BURROWS, 1977; WISE & PARMER, 1977; POST & FELDMAN, 1978). Kraft (1996) steht dem Einsatz solcher Medikamente jedoch kritisch gegenüber. Eine Hemmung der Darmperistaltik führt seiner Meinung nach zu einer Verzögerung der Darmpassage und somit zu einer erleichterten bakteriellen Überwucherung. Auch Absorbentien seien als wenig nützliche „Kotkosmetik“ anzusehen (KRAFT, 1996).

Um einer DIG als Komplikation vorzubeugen, wird der Einsatz von Heparin empfohlen (KRAFT, 1996). Die erkrankten Tiere erhielten früher in der Regel für 24 Stunden kein Futter. Danach wurden sie mit einer leicht verdaulichen Diät in kleinen Portionen angefüttert (HILL, 1972; BURROWS, 1977; WISE & PARMER, 1977; KRAFT, 1996).

Burrows (1977) beschrieb, dass im Gegensatz zur vorherigen Annahme, jeder HGE-Fall sei ein Notfall, der intensive Therapie benötigt (HILL, 1972), in leichteren Fällen eine Therapie mit vorübergehendem Futterentzug, Antiemetika und Absorbentien ausreichen könne (BURROWS, 1977).

Eine antibiotische Behandlung von Tieren mit HGE wurde in der Regel durchgeführt. Verschiedene Autoren rieten zur parenteralen Gabe eines Breitbandantibiotikums (HILL, 1972; BURROWS, 1977). Bisher wurde der

---

Einsatz von Ampicillin (LLOYD-EVANS, 1978; SPIELMAN & GARVEY, 1993), Natrium-Penicillin (WISE & PARMER, 1977; LLOYD-EVANS, 1978), Cloxacillin (LLOYD-EVANS, 1978) und Chloramphenicol (WISE & PARMER, 1977) beschrieben. Darmwirksame Antibiotika werden routinemäßig nicht eingesetzt (BURROWS, 1977).

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1 TEIL 1 - DATENVERGLEICH**

Da bisherige Publikationen zu Daten von Hunden mit HGE sehr alt sind und teilweise nur kleine Fallzahlen umfassen, war das Ziel des ersten Teils der Studie, Daten von Hunden mit HGE zu erheben und diese mit Daten von gesunden Hunden zu vergleichen. Es wurden Signalement, Anamnese und Labordaten der Patienten mit HGE ausgewertet. Das Signalement wurde mit den entsprechenden Daten der Klinikpopulation, die Laborergebnisse mit den jeweiligen Daten von gesunden Kontrollhunden verglichen.

#### **1.1 TIERE**

Es handelte sich dabei um drei Gruppen: die Patientengruppe, die aus Hunden mit HGE bestand, die Klinikpopulation und die Kontrollgruppe. Letztere bestand aus gesunden Hunden.

##### **1.1.1 PATIENTEN**

Bei den Patienten handelte es sich um 70 Hunde, die im Zeitraum von August 2007 bis September 2009 in der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München mit einer HGE vorgestellt wurden. Zur Diagnosestellung war es notwendig, alle bekannten Ursachen, die zu blutigem Durchfall führen können, auszuschließen.

##### **1.1.1.1 EINSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENTEILNAHME**

Zur Studienteilnahme zugelassen wurden Hunde mit akutem, blutigem Durchfall. Dabei durfte die Dauer der Symptomatik maximal drei Tage betragen.

### 1.1.1.2 AUSSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENTEILNAHME

Von der Studie ausgeschlossen wurden alle Hunde, die innerhalb der sieben vorangegangenen Tage mit Medikamenten behandelt wurden, welche zu einer Schädigung der Magendarmschleimhaut führen können (nichtsteroidale Antiphlogistika) oder mit Antibiotika. Tiere, bei denen eine zugrundeliegende Gerinnungsstörung bestand, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Dabei wurden zweifach verlängerte Prothrombinzeiten (d. h.  $> 46,4$  Sek.) oder aktivierte partielle Thrombinzeiten (d. h.  $> 26,2$  Sek.), sowie Thrombozytopenien mit Thrombozytenzahlen unter  $100 \times 10^9/l$  zugrunde gelegt.

Weiterhin wurden Tiere mit Leber- oder Nierenversagen ausgeschlossen. Als verdächtig für ein Nierenversagen als Ursache für die gastrointestinale Symptomatik galten Tiere mit initial dreifach erhöhten Nierenwerten (d. h. Harnstoff  $> 24,90$  mmol/l und Kreatinin  $> 351,0$   $\mu\text{mol/l}$ ) bei gleichzeitigem Vorliegen eines spezifischen Gewichts des Urins unter 1,030. Ein Leberversagen wurde vermutet, wenn mindestens drei Leberfunktionsparameter (d. h. Serumgallensäuren  $> 20,0$   $\mu\text{mol/l}$ , Cholesterol  $< 3,10$  mmol/l, Harnstoff  $< 3,30$  mmol/l, Albumin  $< 24,6$  g/l, Bilirubin  $> 4,80$   $\mu\text{mol/l}$ , Glukose  $< 5,4$  mmol/l) auffällig waren.

Tiere, bei denen im Ultraschall Verdacht auf das Vorliegen einer gastrointestinalen Neoplasie bestand (z. B. abdominale Lymphknoten  $> 1$  cm, verdickte Darmwände, strukturell veränderte Darmwandschichtung), wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Pankreatitisverdacht wurde aufgrund eines auffälligen Ultraschallbefundes (wie Verbreiterung und Echogenitätsveränderung des Pankreas, hyperechogene Umgebung des Pankreasgewebes, oder Flüssigkeitsansammlung) und einer Schmerzhaftigkeit im kranialen Abdomen gestellt.

Weiterhin wurden Tiere mit infektiösen Magen-Darm-Erkrankungen, die potentiell zu blutigen Durchfällen führen können, nicht in die Studie einbezogen. Darunter fielen Giardienbefall (positiver Giardien-ELISA), Nachweis von Hakenwürmern, Spulwürmern, Peitschenwürmer oder Kokkizidien (Kotflotation), Parvoviren (positiver Parvovirus-Antigentest, elektronenmikroskopischer Nachweis von Parvoviren im Kot), sowie der Nachweis von Salmonellen in der bakteriologischen Kotuntersuchung.

Zum Ausschluss von gastrointestinalen Fremdkörpern oder Invaginationen wurden bei jedem Patienten eine Abdomensonographie und bei Fremdkörperverdacht zusätzlich Röntgenbilder des Abdomens durchgeführt. Um Hinweise auf einen zugrunde liegenden Hypoadrenokortizismus zu erhalten, wurden neben anamnestischen Hinweisen und Blutbild insbesondere der Natrium- und Kaliumspiegel herangezogen. Im Verdachtsfall (Hyperkaliämie, Hyponatriämie, Fehlen eines Stressblutbildes) wurde der basale Kortisolwert gemessen oder ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Tiere mit gastrointestinalen Fremdkörpern, Invaginationen oder Hypoadrenokortizismus wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

### **1.1.2 KLINIKPOPULATION**

Es handelte sich dabei um alle Hunde, die in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München in einem festgelegten Zeitraum vorgestellt worden waren. Die Daten dieser Hunde wurden erfasst und für Vergleiche von Alter, Geschlecht, Gewicht, Rassenverteilung und jahreszeitlicher Unterschiede mit der Patientengruppe herangezogen.

### **1.2.3 KONTROLLGRUPPE**

Die Ergebnisse von Blutwerten, Blut- und Kotkultur, sowie die Prävalenz eines positiven *Clostridium-perfringens*-Enterotoxin-Nachweises und des Nachweises von Coronaviren im Kot wurden mit den Daten einer Kontrollgruppe verglichen. Diese bestand aus 21 gesunden Hunden. Alle Hunde waren im Besitz von Mitarbeitern und hatten weder vorberichtlich gastrointestinale Symptome noch zeigten sie Auffälligkeiten in der klinischen Untersuchung.

## **1.2 UNTERSUCHUNGEN**

Bei allen Tieren wurde eine standardisierte Anamnese erhoben und eine klinische Untersuchung. Des Weiteren wurden ein komplettes Blutbild, eine Serumchemie, Kotuntersuchungen, ein Abdomenultraschall und spezielle Laboruntersuchungen (siehe unten) durchgeführt, um eine HGE von anderen Durchfallursachen abzugrenzen und um systemische Auswirkungen auf den Patienten zu erfassen.

### **1.2.1 ANAMNESE**

Bei allen Tieren wurde eine spezifische Durchfallanamnese erhoben. Besonders wurden Auffälligkeiten in der Fütterungsanamnese, wie Futterwechsel, Schneefressen, Fütterung vom Tisch, oder mögliche Aufnahme von Fremdmaterial beachtet. Des Weiteren wurden Impfstatus (insbesondere Parvoviroseimpfung), Entwurmungsstatus, zurückliegende Auslandsaufenthalte sowie bekannte Erkrankungen und Medikamentengaben erfragt. Die genaue Dauer der Erkrankung, des Erbrechens und des blutigen Durchfalls sowie die Beschaffenheit des Durchfalls und des Erbrochenen wurden festgehalten. Der genaue Anamnesebogen ist im Anhang dargestellt.

### **1.2.2 KLINISCHE UNTERSUCHUNG**

In einer standardisierten klinischen Untersuchung wurde das Allgemeinbefinden beurteilt, die Schleimhäute wurden auf Farbe, Feuchtigkeit und kapilläre Füllungszeit (KFZ) untersucht und die peripheren Körperlymphknoten wurden hinsichtlich einer möglichen Vergrößerung abgetastet. Puls- und Atemfrequenz wurden bestimmt und Herz und Lunge auf auffällige Auskultationsbefunde hin untersucht. Der Hydrationszustand des Tieres wurde anhand der Feuchtigkeit der Schleimhäute und des Hautturgors geschätzt. Weiterhin wurden die Rektaltemperatur gemessen, das Abdomen palpirt und eine rektale Untersuchung durchgeführt. Der Untersuchungsbogen befindet sich im Anhang.

### **1.2.3 LABORUNTERSUCHUNGEN**

Bei den Hunden wurden Blutuntersuchungen (Blutbild, Serumchemie, Gerinnungsstatus) einschließlich einer Blutkultur untersucht. Außerdem wurden Kotuntersuchungen auf Parasiten Viren und Bakterien durchgeführt.

#### **1.2.3.1 BLUTUNTERSUCHUNGEN**

Bei allen Tieren wurde ein Blutbild mit dem Cell-Dyn<sup>®</sup> 3500 R (Firma Abbott Diagnostics, Illinois, USA) erstellt. Eine Differenzierung der weißen Blutkörperchen erfolgte durch Beurteilung und manuelles Auszählen von 100 Leukozyten.

Eine Bestimmung der Elektrolyte, des Blut-pH-Wertes und des Laktats wurde bei allen Hunden mit dem GEM<sup>®</sup> Premier 3000 (Firma Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland) anhand einer frisch entnommenen, venösen Blutprobe durchgeführt. Um möglicherweise vorliegende Gerinnungsstörungen zu erkennen, wurden die Prothrombinzeit (PT) und die aktivierte partielle Thrombinzeit (aPTT) mit Hilfe des Coagulometers CL<sup>®</sup> (Firma BE Behnk Elektronik, Norderstedt, Deutschland) bestimmt.

Die Untersuchung der Serumchemie wurde mit dem Hitachi 912 Automatic Analyzer<sup>®</sup> (Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Es wurden die Leberwerte Alanin-Amino-Transferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), das Gesamt-Bilirubin, Harnstoff und Kreatinin, Alpha-Amylase, Lipase, die Triglyceride, Cholesterol, Gesamteiweiß und Albumin sowie der Blutzuckerspiegel bestimmt. Als Leberfunktionsparameter wurden die Serumgallensäuren (SGS) im nüchternen Zustand gemessen. Die canine pankreasspezifische Lipase (Spez. cPL<sup>®</sup>) wurde bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) bestimmt.

Zusätzlich erfolgte eine bakteriologische Blutuntersuchung vor Antibiotikagabe. Hierfür wurden jeweils nach antiseptischer Vorbereitung der Entnahmestelle zwei Blutproben im Abstand von ca. 30 Minuten steril aus der Vena jugularis entnommen, in ein Oxoid SIGNAL Blood Cultur Medium (Firma Oxoid Limited, Hampshire, Großbritannien) gegeben und im Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München untersucht.

#### **1.2.3.2 KOTUNTERSUCHUNGEN**

Der Kot wurde vor einer Antibiotikagabe auf enteropathogene Bakterien, Hefen sowie CPE bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) untersucht. Zum Nachweis potentiell enteropathogener Bakterien und Hefen wurde Kot hinsichtlich hämolysierender oder schleimig wachsender *E. coli*, koagulasepositiver Staphylokokken, Salmonellen, Yersinien, Campylobakter sowie einer übermäßigen Proteus- oder Klebsiellen-Flora und Hefen untersucht. Hierfür wurde Kot auf je einen Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut mit einem Nalidixinsäure-Testplättchen,

einen MacConkey-II-Agar und einen Campylobakter-Selektivagar nach Butzler aufgetupft und Verdünnungsausstriche angefertigt. Der Campylobakter-Selektivagar wurde mikroaerophil bei 42 °C kultiviert, die anderen Medien aerob bei 37 °C. Nach 48 Stunden wurde jeweils das Wachstum der entsprechenden Keime beurteilt. Zur Anreicherung von Salmonellen wurde zusätzlich eine Selenit-Lactose-Bouillon mit Kot beimpft und nach entsprechender Bebrütung (mind. 18 Stunden aerob bei 37 °C) auf einen Salmonellen-Ident-Agar aufgebracht. Dieser wurde nach 16 – 36 Stunden aerober Bebrütung bei 37 °C auf Bakterienwachstum überprüft. Die Kälteanreicherung von Yersinien erfolgte aerob in einer *Yersinia*-Bouillon für mind. vier Tage bei 2 – 8 °C, danach erfolgte ein Ausstrich auf Yersinia-Selektivagar, eine aerobe Bebrütung für 16 – 36 Stunden bei 30 °C und im Anschluss eine Prüfung auf Yersinienwachstum.

Der Nachweis von CPE erfolgte mit Hilfe des ELISAs Clostridium perfringens Enterotoxin Test (Firma Tech Lab<sup>®</sup> Inc., Blacksburg, USA), aus einer gekühlt gelagerten Kotprobe. Die Auswertung des Tests erfolgte photometrisch mit Hilfe des Sunrise Absorbance Reader (Firma Tecan Austria GmbH, Gröding, Österreich) wobei Werte  $\geq 0,080$  als positiv und Werte  $< 0,080$  als negativ bewertet wurden.

Zur Identifikation von Parasiteneiern wurde eine Flotation nach Standardverfahren mit einer 29,5-prozentigen Natriumnitratlösung (Firma JANSSEN-CILAG, Neuss, Deutschland), zum Nachweis einer Giardieninfektion wurde der Giardien-ELISA, ProSpecT<sup>®</sup> *Giardia* Microplate Assay (Firma Remel Inc., Lenexa, Kansas, USA) durchgeführt. Ein elektronenmikroskopischer Nachweis von Viren wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München durch Elektronenmikroskopie nach Standardverfahren durchgeführt. Bei Verdacht auf Parvovirose (z. B. Neutropenie), wurde zusätzlich oder alternativ der Parvovirus-Antigentest Snap<sup>®</sup> Parvo Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine) durchgeführt.

#### **1.2.4 BILDGEBENDE DIAGNOSTIK**

Bei allen Tieren wurde eine vollständige Abdomensonographie durch einen erfahrenen Ultrasonographen (Diplomate Internal Medicine des European College

of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals) mit dem LOGIQ 5 Expert (Firma GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin, USA) durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf Darmschichtung, Dicke der Darmwand, Pankreasveränderungen, Vergrößerung der abdominalen Lymphknoten, Fremdkörper, sowie sonstige organische Veränderungen gelegt.

### **1.3 STATISTISCHE AUSWERTUNG TEIL 1**

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Microsoft Office 2007 Excel und den Softwarepaketen SPSS 17.0 und STATCALC. Mittelwerte, Mediane und Range (für Alter, Gewicht, Dauer der Erkrankung oder des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung sowie für alle Blutwerte) wurden mit SPSS ermittelt. Für diese nichtparametrischen Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, um Unterschiede zwischen den Gruppen (Patientengruppe versus Klinikpopulation oder Kontrollgruppe) zu testen. Um Häufigkeiten zu vergleichen (Anzahl der Hunde pro Alters- und Gewichtsgruppe, Geschlechtsverteilung und jahreszeitliche Verteilung, Rasseverteilung, Anzahl der Hunde mit Nachweis von CPE, Keimen in der Blutkultur oder Kotkultur, Dysbiose, Coronaviren, einem cPLI-Wert über 200 oder 400 µg/l), wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Für alle Tests wurde ein  $p < 0,05$  als statistisch signifikant festgelegt.

## **2. TEIL 2 - VERGLEICH VERSCHIEDENER UNTERGRUPPEN**

Es wurde der Krankheitsverlauf zwischen verschiedenen Untergruppen verglichen, um zu evaluieren, ob bestimmte anamnestische und labordiagnostische Parameter den Verlauf der Erkrankung beeinflussen und somit Rückschlüsse auf möglich prognostische Parameter ziehen zu können. Es handelte sich dabei um die in Tabelle 1 dargestellten Untergruppen.

**Tabelle 1:** Auflistung der Untergruppen, zwischen denen der Krankheitsverlauf verglichen wurde (ALT= Alanin-Amino-Transferase, cPLI = kanine pankreasspezifische Lipase)

Parameter	Wert	Anzahl der Tiere	Wert	Anzahl der Tiere
Dauer der Erkrankung bis zur Vorstellung	> 24 Stunden	n = 12	≤ 24 Stunden	n = 48
Hämatokrit	> 0,58 l/l	n = 28	≤ 0,58 l/l	n = 32
Gesamtleukozyten	> 16,0 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 28	≤ 16,0 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 51
stabkernige, neutrophile Granulozyten	> 0,5 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 23	≤ 0,5 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 34
	> 1,0 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 11	≤ 1,0 x 10 <sup>9</sup> /l	n = 46
ALT	> 91,0 U/l	n = 15	≤ 91,0 U/l	n = 45
Serumgallensäuren	> 20,0 µmol/l	n = 5	≤ 20,0 µmol/l	n = 49
cPLI	> 200 µg/dl	n = 12	≤ 200 µg/dl	n = 42
	> 400 µg/dl	n = 8	≤ 400 µg/dl	n = 46
Blutkultur	positiv	n = 10	negativ	n = 44
Kotkultur	abnormal	n = 20	normal	n = 35
<i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin	positiv	n = 15	negativ	n = 35
Coronaviren	positiv	n = 13	negativ	n = 45

## 2.1 PATIENTEN

Es wurde der Krankheitsverlauf verschiedener Untergruppen verglichen, um einen möglichen Einfluss von initialen Befunden zu untersuchen. Dazu wurde eine Teilgruppe der HGE-Patienten aus Teil 1 herangezogen. Es handelte sich dabei um 60 Hunde, die im Zeitraum von August 2007 bis September 2009 in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München wegen HGE vorgestellt wurden. Neben dem Ausschluss bekannter Ursachen für einen akuten, blutigen Durchfall (wie auch in Teil 1 beschrieben), galten folgende zusätzliche Ausschlusskriterien: Anzeichen einer Sepsis bei Vorstellung und fehlende Besitzereinstimmung.

### 2.1.1 EINSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENANTEILNAHME

Zur Studienteilnahme zugelassen wurden Hunde mit akutem, blutigen Durchfall. Dabei durfte die Dauer der Symptomatik maximal drei Tage betragen.

### 2.1.2 AUSSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENANTEILNAHME

Von der Studie ausgeschlossen wurden alle Hunde, die innerhalb der sieben vorangegangenen Tage mit Medikamenten behandelt wurden, welche zu einer

Schädigung der Magendarmschleimhaut führen können (nichtsteroidale Antiphlogistika) oder mit Antibiotika. Patienten mit Anzeichen einer möglichen Sepsis durften nicht in die Studie aufgenommen werden: Hierunter fielen Tiere mit einer Rektaltemperatur über 39,5 °C, einer Leukopenie ( $< 4,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten) einer starken Leukozytose ( $> 25,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten) und einer klinisch relevanten Linksverschiebung ( $> 1,5 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten).

Zusätzlich wurden Tiere ausgeschlossen, deren Besitzer nicht zu einer Studienteilnahme einwilligten. Zum Ausschluss aller Erkrankungen, die dafür bekannt sind, dass sie blutigen Durchfall auslösen, wurden die in den nächsten Abschnitten angeführten Anamneseerhebungen, Untersuchungen und diagnostischen Tests durchgeführt.

Tiere, bei denen eine zugrundeliegende Gerinnungsstörung bestand, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Dabei wurden zweifach verlängerte Prothrombinzeiten (d. h.  $> 46,4$  Sek.) oder aktivierte partielle Thrombinzeiten (d. h.  $> 26,2$  Sek.), sowie Thrombozytopenien mit Thrombozytenzahlen unter  $100 \times 10^9/l$  zugrunde gelegt.

Weiterhin wurden Tiere mit Leber- oder Nierenversagen ausgeschlossen. Als verdächtig für ein Nierenversagen als Ursache für die gastrointestinale Symptomatik galten Tiere mit initial dreifach erhöhten Nierenwerten (d. h. Harnstoff  $> 24,90$  mmol/l und Kreatinin  $> 351,0$   $\mu$ mol/l) bei gleichzeitigem Vorliegen eines spezifischen Gewichts des Urins unter 1,030. Ein Leberversagen wurde vermutet, wenn mindestens drei Leberfunktionsparameter (d. h. Serumgallensäuren  $> 20,0$   $\mu$ mol/l, Cholesteroll  $< 3,10$  mmol/l, Harnstoff  $< 3,30$  mmol/l, Albumin  $< 24,6$  g/l, Bilirubin  $> 4,80$   $\mu$ mol/l, Glukose  $< 5,4$  mmol/l) auffällig waren.

Tiere, bei denen im Ultraschall Verdacht auf das Vorliegen einer gastrointestinalen Neoplasie bestand (z. B. abdominale Lymphknoten  $> 1$  cm, verdickte Darmwände, strukturell veränderte Darmwandschichtung), wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Pankreatitisverdacht wurde aufgrund eines auffälligen Ultraschallbefundes (wie Verbreiterung und Echogenitätsveränderung des Pankreas, hyperechogene Umgebung des Pankreasgewebes, oder Flüssigkeitsansammlung) und einer Schmerzhaftigkeit im kranialen Abdomen

gestellt.

Weiterhin wurden Tiere mit infektiösen Magen-Darm-Erkrankungen, die potentiell zu blutigen Durchfällen führen können, nicht in die Studie einbezogen. Darunter fielen Giardienbefall (positiver Giardien-ELISA), Nachweis von Hakenwürmern, Spulwürmern, Peitschenwürmer oder Kokkizidien (Kotflotation), Parvoviren (positiver Parvovirus-Antigentest, elektronenmikroskopischer Nachweis von Parvoviren im Kot), sowie der Nachweis von Salmonellen in der bakteriologischen Kotuntersuchung.

Zum Ausschluss von gastrointestinalen Fremdkörpern oder Invaginationen wurden bei jedem Patienten ein Abdomenultraschall und bei Fremdkörperverdacht zusätzlich Röntgenbilder des Abdomens durchgeführt. Um Hinweise auf einen zugrunde liegenden Hypoadrenokortizismus zu erhalten, wurden neben anamnestischen Hinweisen und Blutbild insbesondere der Natrium- und Kaliumspiegel herangezogen. Im Verdachtsfall (Hyperkaliämie, Hyponatriämie, Fehlen eines Stressblutbildes) wurde der basale Kortisolwert gemessen oder ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Tiere mit gastrointestinalen Fremdkörpern, Invaginationen oder Hypoadrenokortizismus wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

## **2.2        UNTERSUCHUNGEN**

Bei allen Tieren wurde eine standardisierte Anamnese erhoben und eine klinische Untersuchung. Des Weiteren wurden ein komplettes Blutbild, eine Serumchemie, Kotuntersuchungen, ein Abdomenultraschall und spezielle Laboruntersuchungen (siehe unten) durchgeführt, um eine HGE von anderen Durchfallursachen abzugrenzen und um systemische Auswirkungen auf den Patienten zu erfassen.

### **2.2.1     ANAMNESE**

Bei allen Tieren wurde eine spezifische Durchfallanamnese erhoben. Besonders wurden Auffälligkeiten in der Fütterungsanamnese, wie Futterwechsel, Schneefressen, Fütterung vom Tisch, oder mögliche Aufnahme von Fremdmaterial beachtet. Des Weiteren wurden Impfstatus (insbesondere Parvoviroseimpfung), Entwurmungsstatus, zurückliegende Auslandsaufenthalte,

sowie bekannte Erkrankungen und Medikamentengaben erfragt. Die genaue Dauer der Erkrankung, des Erbrechens und des blutigen Durchfalls sowie die Beschaffenheit des Durchfalls und des Erbrochenen wurden festgehalten. Der genaue Anamnesebogen ist im Anhang dargestellt.

### **2.2.2 KLINISCHE UNTERSUCHUNG**

In der standardisierten klinischen Untersuchung wurde das Allgemeinbefinden beurteilt, die Schleimhäute wurden auf Farbe, Feuchtigkeit und KFZ untersucht und die peripheren Körperlymphknoten wurden hinsichtlich einer möglichen Vergrößerung abgetastet. Puls- und Atemfrequenz wurden bestimmt und Herz und Lunge auf auffällige Auskultationsbefunde hin untersucht. Der Hydrationszustand des Tieres wurde anhand der Feuchtigkeit der Schleimhäute und des Hauturgors geschätzt. Weiterhin wurden die Rektaltemperatur gemessen, das Abdomen palpirt und eine rektale Untersuchung durchgeführt. Der Untersuchungsbogen befindet sich im Anhang.

### **2.2.3 LABORUNTERSUCHUNGEN**

Bei den Hunden wurden Blutuntersuchungen (Blutbild, Serumchemie, Gerinnungsstatus) einschließlich einer Blutkultur untersucht. Außerdem wurden Kotuntersuchungen auf Parasiten Viren und Bakterien durchgeführt.

#### **2.2.3.1 BLUTUNTERSUCHUNGEN**

Bei allen Tieren wurde ein Blutbild mit dem Cell-Dyn<sup>®</sup> 3500 R (Firma Abbott Diagnostics, Illinois, USA) erstellt. Eine Differenzierung der weißen Blutkörperchen erfolgte durch Beurteilung und manuelles Auszählen von 100 Leukozyten.

Eine Bestimmung der Elektrolyte, des Blut-pH-Wertes und des Laktats wurde bei allen Hunden mit dem GEM<sup>®</sup> Premier 3000 (Firma Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland) anhand einer frisch entnommenen, venösen Blutprobe durchgeführt. Um möglicherweise vorliegende Gerinnungsstörungen zu erkennen, wurden die Prothrombinzeit (PT) und die

aktivierte partielle Thrombinzeit (aPTT) mit Hilfe des Coagulometers CL<sup>®</sup> (Firma BE Behnk Elektronik, Norderstedt, Deutschland) bestimmt.

Die Untersuchung der Serumchemie wurde mit dem Hitachi 912 Automatic Analyzer<sup>®</sup> (Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Es wurden die Leberwerte Alanin-Amino-Transferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), das Gesamt-Bilirubin, Harnstoff und Kreatinin, Alpha-Amylase, Lipase, die Triglyceride, Cholesterol, Gesamteiweiß und Albumin sowie der Blutzuckerspiegel bestimmt. Als Leberfunktionsparameter wurden die Serumgallensäuren (SGS) im nüchternen Zustand gemessen. Die canine pankreasspezifische Lipase (Spez. cPL<sup>®</sup>) wurde bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) bestimmt.

Zusätzlich erfolgte eine bakteriologische Blutuntersuchung vor Antibiotikagabe. Hierfür wurden jeweils nach antiseptischer Vorbereitung der Entnahmestelle zwei Blutproben im Abstand von ca. 30 Minuten steril aus der Vena jugularis entnommen, in ein Oxoid SIGNAL Blood Cultur Medium (Firma Oxoid Limited, Hampshire, Großbritannien) gegeben und im Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München untersucht.

#### **2.2.3.2 KOTUNTERSUCHUNGEN**

Der Kot wurde vor einer Antibiotikagabe auf enteropathogene Bakterien, Hefen sowie CPE bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) untersucht. Zum Nachweis potentiell enteropathogener Bakterien und Hefen wurde Kot hinsichtlich hämolysierender oder schleimig wachsender *E. coli*, koagulasepositiver Staphylokokken, Salmonellen, Yersinien, Campylobakter sowie einer übermäßigen Proteus- oder Klebsiellen-Flora und Hefen untersucht. Hierfür wurde Kot auf je einen Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut mit einem Nalidixinsäure-Testplättchen, einen MacConkey-II-Agar und einen Campylobakter-Selektivagar nach Butzler aufgetupft und Verdünnungsausstriche angefertigt. Der Campylobakter-Selektivagar wurde mikroaerophil bei 42 °C kultiviert, die anderen Medien aerob bei 37 °C. Nach 48 Stunden wurde jeweils das Wachstum der entsprechenden Keime beurteilt. Zur Anreicherung von Salmonellen wurde zusätzlich eine

Selenit-Lactose-Bouillon mit Kot beimpft und nach entsprechender Bebrütung (mind. 18 Stunden aerob bei 37 °C) auf einen Salmonellen-Ident-Agar aufgebracht. Dieser wurde nach 16 – 36 Stunden aerober Bebrütung bei 37 °C auf Bakterienwachstum überprüft. Die Kälteanreicherung von Yersinien erfolgte aerob in einer *Yersinia*-Bouillon für mind. vier Tage bei 2 – 8 °C, danach erfolgte ein Ausstrich auf Yersinia-Selektivagar, eine aerobe Bebrütung für 16 – 36 Stunden bei 30 °C und im Anschluss eine Prüfung auf Yersinienwachstum.

Der Nachweis von CPE erfolgte mit Hilfe des ELISAs Clostridium perfringens Enterotoxin Test (Firma Tech Lab<sup>®</sup> Inc., Blacksburg, USA), aus einer gekühlt gelagerten Kotprobe. Die Auswertung des Tests erfolgte photometrisch mit Hilfe des Sunrise Absorbance Reader (Firma Tecan Austria GmbH, Gröding, Österreich) wobei Werte  $\geq 0,080$  als positiv und Werte  $< 0,080$  als negativ bewertet wurden.

Zur Identifikation von Parasiteneiern wurde eine Flotation nach Standardverfahren mit einer 29,5-prozentigen Natriumnitratlösung (Firma JANSSEN-CILAG, Neuss, Deutschland), zum Nachweis einer Giardieninfektion wurde der Giardien-ELISA, ProSpecT<sup>®</sup> *Giardia* Microplate Assay (Firma Remel Inc., Lenexa, Kansas, USA) durchgeführt. Ein elektronenmikroskopischer Nachweis von Viren wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München durch Elektronenmikroskopie nach Standardverfahren durchgeführt. Bei Verdacht auf Parvovirose (z. B. Neutropenie), wurde zusätzlich oder alternativ der Parvovirus-Antigentest Snap<sup>®</sup> Parvo Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine) durchgeführt.

#### **2.2.4 BILDGEBENDE DIAGNOSTIK**

Bei allen Tieren wurde eine vollständige Abdomensonographie durch einen erfahrenen Ultrasonographen (Diplomate Internal Medicine des European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals) mit dem LOGIQ 5 Expert (Firma GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin, USA) durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf Darmschichtung, Dicke der Darmwand, Pankreasveränderungen, Vergrößerung der abdominalen Lymphknoten, Fremdkörper, sowie sonstige organische Veränderungen gelegt.

### 2.3 ÜBERWACHUNG DES KRANKHEITSVERLAUFES

Der Tag der Einlieferung wurde als Tag 1 festgelegt. Der Gesundheitszustand der Tiere wurde bei Einlieferung und dann alle 24 Stunden über sieben Tage mittels eines Krankheitsaktivitätsindex (HGE-Index) beurteilt. Dieser erfasste jeweils die Parameter Allgemeinbefinden, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz und Dehydratation. Jeder Parameter wurde mit 0 bis 3 Punkten bewertet, so dass insgesamt 0 bis 18 Punkte erreicht werden konnten. Die Bewertung erfolgte wie unter Abbildung 1 dargestellt.

<b>HGE-Index (alle Punkte beziehen sich auf die letzten 24 Stunden) (falls kein Kotabsatz, bitte notieren -&gt; keine Bewertung!)</b>				
<b>Name:</b> _____, <b>Patientennummer.:</b> _____, <b>Datum:</b> _____, <b>Tag 1</b>				
Allgemeinbefinden:	<b>0:</b> normal	<b>1:</b> ggr. reduziert	<b>2:</b> mgr. reduziert	<b>3:</b> hgr. reduziert
Appetit:	<b>0:</b> normal	<b>1:</b> ggr. reduziert	<b>2:</b> mgr. reduziert	<b>3:</b> hgr. reduziert
Erbrechen:	<b>0:</b> kein Erbrechen	<b>1:</b> 1/Tag	<b>2:</b> 2 - 3/Tag	<b>3:</b> > 3/Tag
Kotkonsistenz:	<b>0:</b> normal	<b>1:</b> ggr. weich/Schleim/Blut	<b>2:</b> sehr weich	<b>3:</b> wässrig
Kotabsatzfrequenz:	<b>0:</b> 0 - 1/Tag	<b>1:</b> 2 - 3/Tag	<b>2:</b> 4 - 5/Tag	<b>3:</b> > 5/Tag
Dehydratation:	<b>0:</b> keine	<b>1:</b> < 5 %	<b>2:</b> 5 - 10 %	<b>3:</b> > 10 %
HGE-Index:	_____	_____	_____	_____
		+	+	

**Abbildung 1:** Formblatt zur Beurteilung des HGE-Indexes, (ggr. = geringgradig, mgr. = mittelgradig, hgr. = hochgradig)

Falls das Tier im Beurteilungszeitraum keinen Kot absetzte, wurde dies mit 0, der jeweils besten Bewertung für Kotkonsistenz, in der Statistik berücksichtigt.

Der Index wurde während des stationären Aufenthalts in der Klinik jeden Tag durch denselben geblindeten Tierarzt beurteilt. Nach der Entlassung aus der Klinik wurde durch die Besitzer ein Tagebuch ausgefüllt, das die Parameter Allgemeinbefinden, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz berücksichtigte (siehe Abbildung 2). Die Vergabe der Punkte erfolgte analog der Beurteilung in der Klinik. Der Grad der Dehydratation wurde nach Entlassung

nicht mehr beurteilt und mit 0, also „keine Dehydratation“, in die Statistik aufgenommen.

<b>Tagebuch für „_____“ von _____</b>					
<b>Datum _____:</b>					
Allgemeinbef.:	<input type="checkbox"/> gut		<input type="checkbox"/> leicht reduziert		
	<input type="checkbox"/> mittelgradig reduziert		<input type="checkbox"/> stark reduziert		
Appetit:	<input type="checkbox"/> frisst leer		<input type="checkbox"/> frisst mehr als die Hälfte		
	<input type="checkbox"/> frisst weniger als die Hälfte		<input type="checkbox"/> frisst nicht		
Erbrechen:	<input type="checkbox"/> kein	<input type="checkbox"/> 1/Tag	<input type="checkbox"/> 2 - 3/Tag	<input type="checkbox"/> > 3/Tag	
Kotabsatz:	1. Mal	2. Mal	3. Mal	4. Mal	5. Mal
fest:	_____	_____	_____	_____	_____
breiig:	_____	_____	_____	_____	_____
dünnflüssig:	_____	_____	_____	_____	_____
wässrig:	_____	_____	_____	_____	_____

**Abbildung 2:** Besitzertagebuch zur Beurteilung des HGE-Indexes (Allgemeinbef. = Allgemeinbefinden)

#### 2.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG TEIL 2

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Microsoft Office 2007 Excel und dem Softwarepaket SPSS 17.0. Um Unterschiede zwischen den verschiedenen Untergruppen zu testen, wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Dabei wurden jeweils die HGE-Indexe an jedem einzelnen Tag verglichen, sowie die Differenzen im HGE-Index zwischen Tag 1 und Tag 3, Tag 1 und Tag 7 sowie Tag 3 und Tag 7. Für alle Tests wurde ein  $p < 0,05$  als statistisch signifikant festgelegt.

### **3 TEIL 3 - THERAPIESTUDIE**

Da bisher keine Studien zum Einsatz einer antibiotischen Therapie bei HGE veröffentlicht worden sind, ist in diesem Teil der Studie der Einfluss einer Behandlung mit Amoxicillin/Clavulansäure auf den Krankheitsverlauf von Hunden mit HGE untersucht worden. Um diesen zu beurteilen, erfolgte eine doppelblinde und randomisierte Verteilung der Patienten in eine von zwei Therapiegruppen (Placebogruppe und Verumgruppe). Alle Tiere erhielten neben dem Studienmedikament (Placebo oder Amoxicillin/Clavulansäure) über eine Woche eine standardisierte Therapie. Der Therapieerfolg wurde anhand von klinischen Parametern und der Dauer des stationären Aufenthaltes verglichen.

#### **3.1 PATIENTEN**

Bei den Patienten handelte es sich um 60 Hunde, die im Zeitraum von August 2007 bis September 2009 in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München mit HGE vorgestellt wurden (siehe Teil 2). Diese wurden im Rahmen einer prospektiven Therapiestudie, wie in den folgenden Abschnitten beschrieben wird, untersucht und therapiert.

##### **3.1.1 EINSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENANTEILNAHME**

Zur Studienteilnahme zugelassen wurden Hunde mit akutem, blutigem Durchfall. Dabei durfte die Dauer der Symptomatik maximal drei Tage betragen.

##### **3.1.2 AUSSCHLUSSKRITERIEN ZUR STUDIENANTEILNAHME**

Von der Studie ausgeschlossen wurden alle Hunde, die innerhalb der sieben vorangegangenen Tage mit Medikamenten behandelt wurden, welche zu einer Schädigung der Magendarmschleimhaut führen können (nichtsteroidale Antiphlogistika) oder mit Antibiotika. Patienten mit möglichen Anzeichen einer Sepsis durften nicht in die Studie aufgenommen werden: hierunter fielen Tiere mit einer Rektaltemperatur über 39,5 °C, einer Leukopenie ( $< 4,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten) einer starken Leukozytose ( $> 25,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten) und einer klinisch relevanten Linksverschiebung ( $> 1,5 \times 10^9/l$  stabkernige,

neutrophile Granulozyten).

Zusätzlich wurden Tiere ausgeschlossen, deren Besitzer nicht zu einer Studienteilnahme einwilligten. Zum Ausschluss aller Erkrankungen, die dafür bekannt sind, dass sie blutigen Durchfall auslösen, wurden die in den nächsten Abschnitten angeführten Anamneserhebungen, Untersuchungen und diagnostischen Tests durchgeführt.

Tiere, bei denen eine zugrundeliegende Gerinnungsstörung bestand, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Dabei wurden zweifach verlängerte Prothrombinzeiten (d. h.  $> 46,4$  Sek.) oder aktivierte partielle Thrombinzeiten (d. h.  $> 26,2$  Sek.), sowie Thrombozytopenien mit Thrombozytenzahlen unter  $100 \times 10^9/l$  zugrunde gelegt.

Weiterhin wurden Tiere mit Leber- oder Nierenversagen ausgeschlossen. Als verdächtig für ein Nierenversagen als Ursache für die gastrointestinale Symptomatik galten Tiere mit initial dreifach erhöhten Nierenwerten (d. h. Harnstoff  $> 24,90$  mmol/l und Kreatinin  $> 351,0$   $\mu$ mol/l) bei gleichzeitigem Vorliegen eines spezifischen Gewichts des Urins unter 1,030. Ein Leberversagen wurde vermutet, wenn mindestens drei Leberfunktionsparameter (d. h. Serumgallensäuren  $> 20,0$   $\mu$ mol/l, Cholesterol  $< 3,10$  mmol/l, Harnstoff  $< 3,30$  mmol/l, Albumin  $< 24,6$  g/l, Bilirubin  $> 4,80$   $\mu$ mol/l, Glukose  $< 5,4$  mmol/l) auffällig waren.

Tiere, bei denen im Ultraschall Verdacht auf das Vorliegen einer gastrointestinalen Neoplasie bestand (z. B. abdominale Lymphknoten  $> 1$  cm, verdickte Darmwände, strukturell veränderte Darmwandschichtung), wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Pankreatitisverdacht wurde aufgrund eines auffälligen Ultraschallbefundes (wie Verbreiterung und Echogenitätsveränderung des Pankreas, hyperechogene Umgebung des Pankreasgewebes, oder Flüssigkeitsansammlung) und einer Schmerzhaftigkeit im kranialen Abdomen gestellt.

Weiterhin wurden Tiere mit infektiösen Magen-Darm-Erkrankungen, die potentiell zu blutigen Durchfällen führen können, nicht in die Studie einbezogen. Darunter fielen Giardienbefall (positiver Giardien-ELISA), Nachweis von Hakenwürmern, Spulwürmern, Peitschenwürmer oder Kokkizidien (Kotflotation), Parvoviren (positiver Parvovirus-Antigentest, elektronenmikroskopischer

Nachweis von Parvoviren im Kot), sowie der Nachweis von Salmonellen in der bakteriologischen Kotuntersuchung.

Zum Ausschluss von gastrointestinalen Fremdkörpern oder Invaginationen wurden bei jedem Patienten ein Abdomenultraschall und bei Fremdkörperverdacht zusätzlich Röntgenbilder des Abdomens durchgeführt. Um Hinweise auf einen zugrunde liegenden Hypoadrenokortizismus zu erhalten, wurden neben anamnestischen Hinweisen und Blutbild insbesondere der Natrium- und Kaliumspiegel herangezogen. Im Verdachtsfall (Hyperkaliämie, Hyponatriämie, Fehlen eines Stressblutbildes) wurde der basale Kortisolwert gemessen oder ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Tiere mit gastrointestinalen Fremdkörpern, Invaginationen oder Hypoadrenokortizismus wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

## **3.2        UNTERSUCHUNGEN**

In der standardisierten klinischen Untersuchung wurde das Allgemeinbefinden beurteilt, die Schleimhäute wurden auf Farbe, Feuchtigkeit und KFZ untersucht und die peripheren Körperlymphknoten wurden hinsichtlich einer möglichen Vergrößerung abgetastet. Puls- und Atemfrequenz wurden bestimmt und Herz und Lunge auf auffällige Auskultationsbefunde hin untersucht. Der Hydrationszustand des Tieres wurde anhand der Feuchtigkeit der Schleimhäute und des Hautturgors geschätzt. Weiterhin wurden die Rektaltemperatur gemessen, das Abdomen palpirt und eine rektale Untersuchung durchgeführt.

### **3.2.1     ANAMNESE**

Bei allen Tieren wurde eine spezifische Durchfallanamnese erhoben. Besonders wurden Auffälligkeiten in der Fütterungsanamnese, wie Futterwechsel, Schneefressen, Fütterung vom Tisch, oder mögliche Aufnahme von Fremdmaterial beachtet. Des Weiteren wurden Impfstatus (insbesondere Parvoviroseimpfung), Entwurmungsstatus, zurückliegende Auslandsaufenthalte, sowie bekannte Erkrankungen und Medikamentengaben erfragt. Die genaue Dauer der Erkrankung, des Erbrechens und des blutigen Durchfalls sowie die Beschaffenheit des Durchfalls und des Erbrochenen wurden festgehalten. Der

genaue Anamnesebogen ist im Anhang dargestellt.

### **3.2.2 KLINISCHE UNTERSUCHUNG**

In der standardisierten klinischen Untersuchung wurde das Allgemeinbefinden beurteilt, die Schleimhäute wurden auf Farbe, Feuchtigkeit und KFZ untersucht und die peripheren Körperlymphknoten wurden hinsichtlich einer möglichen Vergrößerung abgetastet. Puls- und Atemfrequenz wurden bestimmt und Herz und Lunge auf auffällige Auskultationsbefunde hin untersucht. Der Hydrationszustand des Tieres wurde anhand der Feuchtigkeit der Schleimhäute und des Hauturgors geschätzt. Weiterhin wurden die Rektaltemperatur gemessen, das Abdomen palpirt und eine rektale Untersuchung durchgeführt. Der Untersuchungsbogen befindet sich im Anhang.

### **3.2.3 LABORUNTERSUCHUNGEN**

Bei den Hunden wurden Blutuntersuchungen (Blutbild, Serumchemie, Gerinnungsstatus) einschließlich einer Blutkultur untersucht. Außerdem wurden Kotuntersuchungen auf Parasiten Viren und Bakterien durchgeführt.

#### **3.2.3.1 BLUTUNTERSUCHUNGEN**

Bei allen Tieren wurde ein Blutbild mit dem Cell-Dyn<sup>®</sup> 3500 R (Firma Abbott Diagnostics, Illinois, USA) erstellt. Eine Differenzierung der weißen Blutkörperchen erfolgte durch Beurteilung und manuelles Auszählen von 100 Leukozyten.

Eine Bestimmung der Elektrolyte, des Blut-pH-Wertes und des Laktats wurde bei allen Hunden mit dem GEM<sup>®</sup> Premier 3000 (Firma Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim bei München, Deutschland) anhand einer frisch entnommenen, venösen Blutprobe durchgeführt. Um möglicherweise vorliegende Gerinnungsstörungen zu erkennen, wurden die Prothrombinzeit (PT) und die aktivierte partielle Thrombinzeit (aPTT) mit Hilfe des Coagulometers CL<sup>®</sup> (Firma BE Behnk Elektronik, Norderstedt, Deutschland) bestimmt.

Die Untersuchung der Serumchemie wurde mit dem Hitachi 912 Automatic Analyzer<sup>®</sup> (Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Es wurden die Leberwerte Alanin-Amino-Transferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), das Gesamt-Bilirubin, Harnstoff und Kreatinin, Alpha-Amylase, Lipase, die Triglyceride, Cholesterol, Gesamteiweiß und Albumin sowie der Blutzuckerspiegel bestimmt. Als Leberfunktionsparameter wurden die Serumgallensäuren (SGS) im nüchternen Zustand gemessen. Die canine pankreasspezifische Lipase (Spez. cPL<sup>®</sup>) wurde bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) bestimmt.

Zusätzlich erfolgte eine bakteriologische Blutuntersuchung vor Antibiotikagabe. Hierfür wurden jeweils nach antiseptischer Vorbereitung der Entnahmestelle zwei Blutproben im Abstand von ca. 30 Minuten steril aus der Vena jugularis entnommen, in ein Oxoid SIGNAL Blood Cultur Medium (Firma Oxoid Limited, Hampshire, Großbritannien) gegeben und im Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München untersucht.

### **3.2.3.2 KOTUNTERSUCHUNGEN**

Der Kot wurde vor einer Antibiotikagabe auf enteropathogene Bakterien, Hefen sowie CPE bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) untersucht. Zum Nachweis potentiell enteropathogener Bakterien und Hefen wurde Kot hinsichtlich hämolysierender oder schleimig wachsender *E. coli*, koagulasepositiver Staphylokokken, Salmonellen, Yersinien, Campylobakter sowie einer übermäßigen Proteus- oder Klebsiellen-Flora und Hefen untersucht. Hierfür wurde Kot auf je einen Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut mit einem Nalidixinsäure-Testplättchen, einen MacConkey-II-Agar und einen Campylobakter-Selektivagar nach Butzler aufgetupft und Verdünnungsausstriche angefertigt. Der Campylobakter-Selektivagar wurde mikroaerophil bei 42 °C kultiviert, die anderen Medien aerob bei 37 °C. Nach 48 Stunden wurde jeweils das Wachstum der entsprechenden Keime beurteilt. Zur Anreicherung von Salmonellen wurde zusätzlich eine Selenit-Lactose-Bouillon mit Kot beimpft und nach entsprechender Bebrütung (mind. 18 Stunden aerob bei 37 °C) auf einen Salmonellen-Ident-Agar

aufgebracht. Dieser wurde nach 16 – 36 Stunden aerober Bebrütung bei 37 °C auf Bakterienwachstum überprüft. Die Kälteanreicherung von Yersinien erfolgte aerob in einer *Yersinia*-Bouillon für mind. vier Tage bei 2 – 8 °C, danach erfolgte ein Ausstrich auf Yersinia-Selektivagar, eine aerobe Bebrütung für 16 – 36 Stunden bei 30 °C und im Anschluss eine Prüfung auf Yersinienwachstum.

Der Nachweis von CPE erfolgte mit Hilfe des ELISAs Clostridium perfringens Enterotoxin Test (Firma Tech Lab<sup>®</sup> Inc., Blacksburg, USA), aus einer gekühlt gelagerten Kotprobe. Die Auswertung des Tests erfolgte photometrisch mit Hilfe des Sunrise Absorbance Reader (Firma Tecan Austria GmbH, Gröding, Österreich) wobei Werte  $\geq 0,080$  als positiv und Werte  $< 0,080$  als negativ bewertet wurden.

Zur Identifikation von Parasiteneiern wurde eine Flotation nach Standardverfahren mit einer 29,5-prozentigen Natriumnitratlösung (Firma JANSSEN-CILAG, Neuss, Deutschland), zum Nachweis einer Giardieninfektion wurde der Giardien-ELISA, ProSpecT<sup>®</sup> *Giardia* Microplate Assay (Firma Remel Inc., Lenexa, Kansas, USA) durchgeführt. Ein elektronenmikroskopischer Nachweis von Viren wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München durch Elektronenmikroskopie nach Standardverfahren durchgeführt. Bei Verdacht auf Parvovirose (z. B. Neutropenie), wurde zusätzlich oder alternativ der Parvovirus-Antigentest Snap<sup>®</sup> Parvo Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine) durchgeführt.

#### **3.2.4 BILDGEBENDE DIAGNOSTIK**

Bei allen Tieren wurde eine vollständige Abdomensonographie durch einen erfahrenen Ultrasonographen (Diplomate Internal Medicine des European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals) mit dem LOGIQ 5 Expert (Firma GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin, USA) durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf Darmschichtung, Dicke der Darmwand, Pankreasveränderungen, Vergrößerung der abdominalen Lymphknoten, Fremdkörper, sowie sonstige organische Veränderungen gelegt.

### 3.3 THERAPIE

Alle Studienpatienten erhielten neben dem Studienmedikament eine standardisierte Therapie. Diese sowie die Methoden zur Überwachung des Therapieerfolges werden in den folgenden Abschnitten näher beschrieben.

#### 3.3.1 MEDIKAMENTE

Es erfolgte eine doppelgeblindete, randomisierte Verteilung der Tiere in zwei gleich große Therapiegruppen (je 30 Tiere). Die Hunde in Gruppe 1 (Placebogruppe) erhielten während des stationären Aufenthalts kein Antibiotikum und nach Entlassung zweimal täglich ein Placebo-Präparat (P-Dragees rosa Lichtenstein von Winthrop Arzneimittel GmbH, Mülheim-Kärlich, Deutschland) bis zum Tag 7. Die Tiere in Gruppe 2 (Verumgruppe) wurden mindestens über drei Tage mit 8,75 mg/kg Amoxicillin/Clavulansäure (Synulox<sup>®</sup> RTU von PFIZER PHARMA, GmbH, Karlsruhe, Deutschland) einmal täglich subkutan (s. c.) behandelt und erhielten dann weiter 12,5 mg/kg Amoxicillin/Clavulansäure (Synulox<sup>®</sup> von PFIZER PHARMA, GmbH, Karlsruhe, Deutschland) zweimal täglich per os (p. o.) bis zum Tag 7. Der Tag der Einlieferung wurde als Tag 1 festgelegt.

Die zusätzliche Therapie war standardisiert und somit in beiden Gruppen gleich, um die Wirkung des Studienmedikamentes beurteilen zu können. Alle Tiere erhielten Infusionstherapie mit kristalloiden und ggf. zusätzlich kolloidalen Infusionslösungen. Die Infusionsmenge wurde anhand des Austrocknungsgrades, des Körpergewichtes und der geschätzten weiteren Verluste errechnet. Alle Tiere wurden an Tag 1 einmalig mit dem Antiemetikum Maropitant (Cerenia<sup>®</sup> von PFIZER PHARMA GmbH, Karlsruhe, Deutschland) in einer Dosierung von 1 mg/kg s. c. behandelt. Ranitidin (Sostril<sup>®</sup> von GlaxoSmithKline Manufacturing S. p. A., Verona, Italien) wurde an Tag 1 und Tag 2 je dreimal täglich in einer Dosis von 2 mg/kg langsam intravenös (i. v.) verabreicht. Um einer DIG vorzubeugen, wurden an Tag 1 zweimal täglich 75 internationalen Einheiten (IE) pro Kilogramm Körpergewicht Dalteparin-Natrium (Fragmin<sup>®</sup> D von PFIZER PHARMA GmbH, Karlsruhe, Deutschland) s. c. injiziert. Die Dosis wurde bis Tag 3 langsam reduziert, d. h. an Tag 2 wurde zweimal täglich je 38 IE/kg und an Tag 3 je 19 IE/kg gegeben. Schmerzmittel wurden an Tag 1 nach Bedarf

verabreicht.

### **3.3.2 ÜBERWACHUNG DES THERAPIEERFOLGES**

Der Gesundheitszustand der Tiere wurde bei Einlieferung und dann alle 24 Stunden über sieben Tage mittels eines Krankheitsaktivitätsindex (HGE-Index) beurteilt. Dieser erfasste jeweils die Parameter Allgemeinbefinden, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz und Dehydratation. Jeder Parameter wurde mit 0 bis 3 Punkten bewertet, so dass insgesamt 0 bis 18 Punkte erreicht werden konnten. Die Bewertung erfolgte wie in Abbildung 1 dargestellt.

Falls das Tier im Beurteilungszeitraum keinen Kot absetzte, wurde dies mit 0, der jeweils besten Bewertung, für Kotkonsistenz in der Statistik berücksichtigt.

Der Index wurde während des stationären Aufenthaltes in der Klinik jeden Tag durch denselben geblindeten Tierarzt beurteilt. Nach der Entlassung wurde durch die Besitzer ein Tagebuch ausgefüllt, das die Parameter Allgemeinbefinden, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz berücksichtigte (siehe Abbildung 2). Die Vergabe der Punkte erfolgte analog der Beurteilung in der Klinik. Der Grad der Dehydratation wurde nach Entlassung nicht mehr beurteilt und mit 0, also keine Dehydratation, in die Statistik aufgenommen. Zusätzlich wurde die Dauer des stationären Aufenthaltes der Tiere erfasst und verglichen.

### **3.3.3 STUDIENABBRECHER**

Als Studienabbrecher wurden die Tiere erfasst, die initial die Einschlusskriterien erfüllten, bei denen die Studie aber aufgrund von Komplikationen (massive klinische Verschlechterung, Anzeichen von Sepsis) nicht über sieben Tage durchgeführt werden konnte. Des Weiteren wurden Tiere, die während der Studie verstarben, als Studienabbrecher gewertet.

### **3.3.4 VERGLEICH VON TEILGRUPPEN DER PLACEBO- UND VERUMGRUPPE**

Der Krankheitsverlauf mittels HGE-Index wurde nicht nur in der gesamten Patientengruppe, sondern auch zwischen Hunden aus bestimmten Teilgruppen verglichen, bei denen vermutet wurde, dass eine antibiotische Therapie den

Krankheitsverlauf beeinflusst haben könnte. Es handelte sich dabei um die in Tabelle 2 dargestellten Teilgruppen.

<b>Tabelle 2:</b> Auflistung der Teilgruppen von Verum- und Placebogruppe, zwischen denen der Krankheitsverlauf verglichen wurde		
Parameter	Anzahl der Tiere aus Placebogruppe	Anzahl der Tiere aus Verumgruppe
Gesamtleukozyten $> 16,0 \times 10^9/l$	n = 4	n = 5
stabkernige, neutrophile Granulozyten $> 0,5 \times 10^9/l$ und $< 1,5 \times 10^9/l$	n = 15	n = 8
stabkernige, neutrophile Granulozyten $> 1,0 \times 10^9/l$ und $< 1,5 \times 10^9/l$	n = 6	n = 5
positive Blutkultur	n = 3	n = 7
abnormale Kotkultur	n = 14	n = 6
<i>Clostridium-perfringens</i> - Enterotoxin positiv	n = 7	n = 8

In diesen Teilgruppen wurde der Krankheitsverlauf der Hunde aus der Verumgruppe mit dem der Hunde aus der Placebogruppe verglichen.

### 3.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG TEIL 3

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Microsoft Office 2007 Excel, den Softwarepaketen SPSS (Version 17.0), SAS (Version 9.2) und STATCALC. Mittelwerte, Mediane und Range für die Parameter Alter, Gewicht, Dauer der Erkrankung oder des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung, Blutwerte HGE-Inde und deren Differenzen wurden mit SPSS ermittelt. Für diese nichtparametrischen Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, um Unterschiede zwischen den Gruppen (Placebo- und Verumgruppe sowie Studienabbrecher und Nichtabbrecher) zu testen. Um Häufigkeiten zu vergleichen (Anzahl der Hunde pro Alters- und Gewichtsgruppe, Geschlechtsverteilung und jahreszeitliche Verteilung, Rasseverteilung, Anzahl der Hunde mit Nachweis von CPE, Keimen in der Blut- oder Kotkultur, Dysbiose, Coronaviren, einem cPLI-Wert über 200 oder 400  $\mu g/l$ , Anzahl der Tiere mit Durchfall pro Tag, Anzahl der Studienabbrecher pro Gruppe) wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Der Verlauf im HGE-Index wurde mit Hilfe eines gemischten Modells (SAS, Proc MIXED) ausgewertet, wobei für wiederholte Messungen im Tier korrigiert wurde.

Die Auswertungen, bezogen auf die Verumgruppe im Vergleich zur Placebogruppe, wurden zusätzlich sowohl mit als auch ohne Studienabbrecher durchgeführt, um den Effekt dieser Tiere auf die Ergebnisse zu untersuchen (per Protokoll-Analyse und Intention-to-treat-Analyse). Es wurde außerdem für den Unterschied in der Anzahl der Studienabbrecher eine Power-Analyse für zwei unabhängige Proportionen mit PASS 2008 durchgeführt. Der Unterschied im Krankheitsverlauf zwischen beiden Therapiegruppen von Hunden aus bestimmten Teilgruppen wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Für alle Tests wurde ein  $p < 0,05$  als statistisch signifikant festgelegt.

## **IV. ERGEBNISSE**

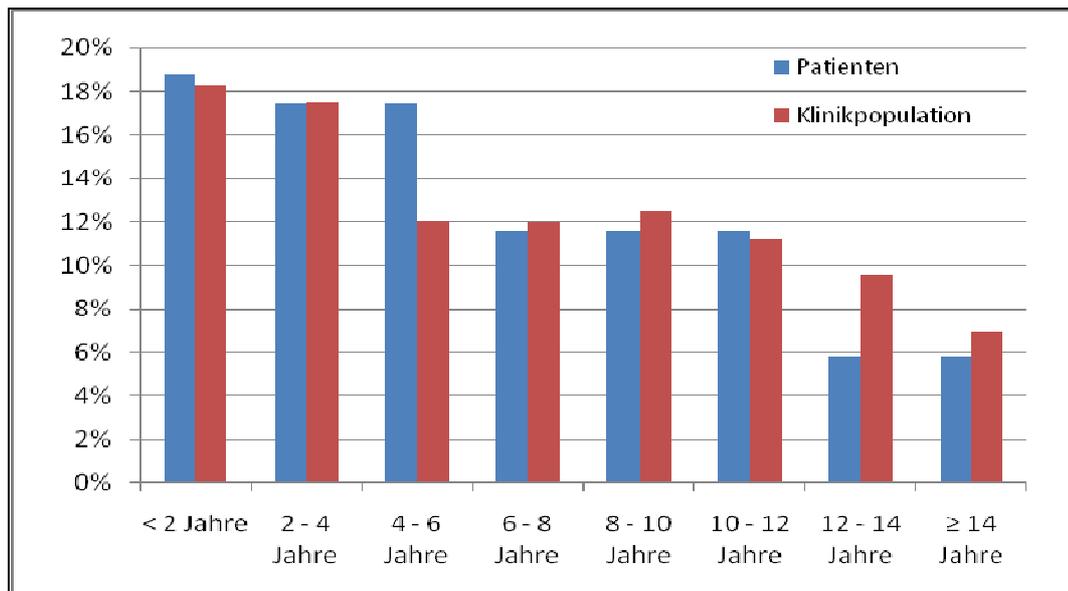
### **1 TEIL 1 – DATENVERGLEICH**

Die Daten des Signalements der Hunde mit HGE wurden mit den Daten der Klinikpopulation verglichen. Die Ergebnisse der Blut- und Kotuntersuchungen der Patienten mit HGE wurden mit den Ergebnissen der Kontrollgruppe verglichen.

#### **1.1 SIGNALEMENT**

Es wurden Alter, Geschlecht, Gewicht, Rasse und der Monat der Vorstellung der Hunde aus der Patientengruppe erfasst und mit den Daten der Hunde der Klinikpopulation verglichen. Die Tiere der Patientengruppe waren im Alter zwischen 0,6 und 15,4 Jahren. Median und Mittelwert lagen bei 5,2 und 6,26 Jahren. Es bestand kein signifikanter Unterschied im Alter zwischen den Patienten und der Klinikpopulation ( $p = 0,512$ ). Auch beim Vergleich der Altersgruppen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und der Klinikpopulation. Die Gruppenvergleiche werden in Abbildung 3 dargestellt.

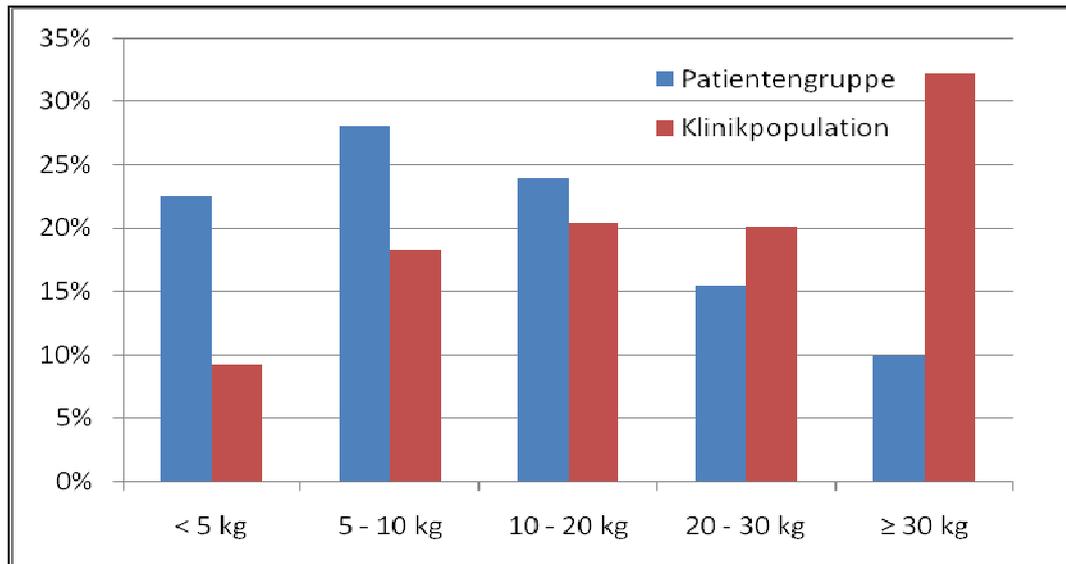
Von den Patienten waren 31,4 % (22/70) männlich intakt, 14,3 % (10/70) waren weiblich intakt. 54,3 % (38/70) der Patienten waren kastriert, darunter 15,7 % (11/70) männlich kastriert, und 38,6 % (27/70) weiblich kastriert. Weiblich kastrierte Tiere waren in der Patientengruppe überrepräsentiert ( $p = 0,017$ ). Die übrige Geschlechterverteilung war nicht signifikant unterschiedlich zu der der Klinikpopulation. Die Gruppenvergleiche sind in Tabelle 3 dargestellt.



**Abbildung 3:** In dieser Abbildung ist das Alter, in Altersgruppen eingeteilt, vergleichend zwischen Patienten und Klinikpopulation dargestellt. Auf der x-Achse ist die Altersgruppe abgebildet, auf der y-Achse die Anzahl der Tiere in der jeweiligen Altersgruppe in Prozent.

Geschlecht	Patientengruppe		Klinikpopulation		p-Wert
	Anzahl	Anzahl in %	Anzahl	Anzahl in %	
männlich gesamt	33/70	47,1%	2002/4005	50,0%	0,725
männlich kastriert	11/70	15,7%	551/4005	13,8%	0,767
männlich intakt	22/70	31,4%	1451/4005	36,2%	0,412
weiblich	37/70	52,9%	2002/4005	50,0%	0,722
weiblich kastriert	27/70	38,6%	1013/4005	25,3%	0,017
weiblich intakt	10/70	14,3%	989/4005	24,7%	0,062

Das Gewicht der Patienten lag zwischen 1,6 kg und 41,6 kg. Median und Mittelwert waren 9,7 kg und 13,96 kg. Das Gewicht der Patienten war statistisch signifikant niedriger als das der Hunde der Klinikpopulation ( $p < 0,001$ ). In Gewichtsgruppen eingeteilt, kamen Tiere unter 5,0 kg ( $p = 0,001$ ) und Tiere zwischen 5,0 kg und 10,0 kg ( $p = 0,039$ ) in der Patientengruppe signifikant häufiger vor als in der Klinikpopulation. Hunde ab 30,0 kg waren unter den HGE-Patienten statistisch signifikant unterrepräsentiert ( $p < 0,001$ ). Die Vergleiche sind in Abbildung 4 dargestellt.



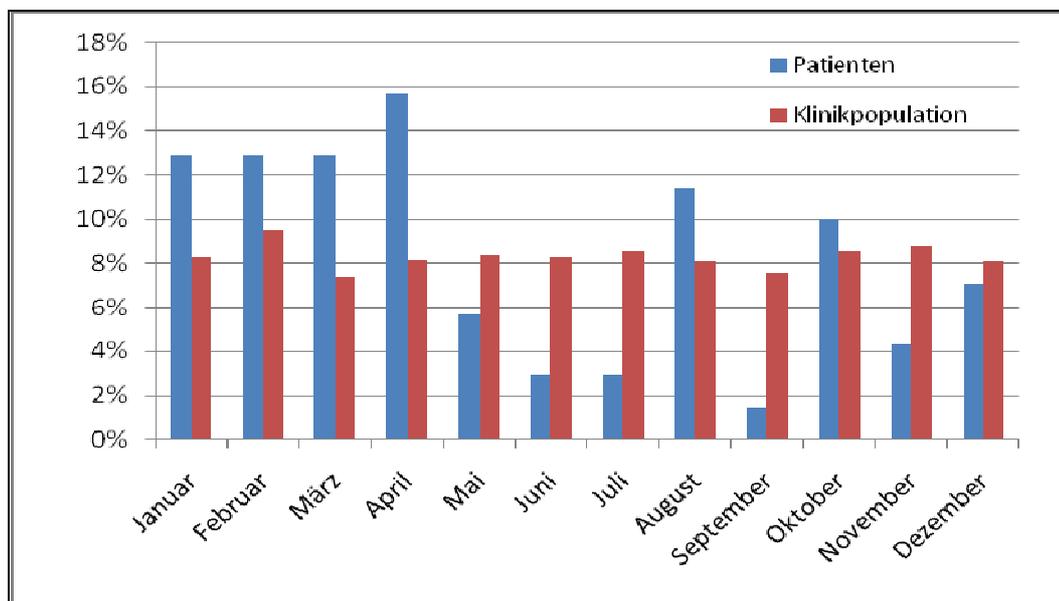
**Abbildung 4:** In dieser Abbildung ist das Gewicht der Tiere, in Gewichtskategorien eingeteilt, der Patientengruppe und Klinikpopulation vergleichend dargestellt. Die x-Achse gibt das Gewicht in kg an, die y-Achse die Anzahl der Tiere in Prozent.

In der Patientengruppe waren 34,3 % (24/70) der Hunde Mischlinge. Unter den 27 vertretenen Rassen waren die häufigsten Rassen Malteser und Rehpinscher mit je 7,1 % (5/70), sowie Yorkshire Terrier, Zwergschnauzer, Zwergpudel und Jack Russell Terrier mit je 4,3 % (3/70).

Im Vergleich mit der Klinikpopulation waren in der Patientengruppe, Rehpinscher, Zwergschnauzer, Jack Russell Terrier sowie Zwergpudel signifikant überrepräsentiert. Der Vergleich der Häufigkeit der verschiedenen Rassen ist in Tabelle 4 dargestellt.

Verglichen mit der Klinikpopulation waren Hunde mit HGE in den kalten Monaten (von November bis einschließlich April) signifikant überrepräsentiert. In den warmen Monaten (Mai bis einschließlich Oktober) waren sie signifikant unterrepräsentiert ( $p = 0,015$ ). Im monatlichen Vergleich mit der Klinikpopulation wurden im April signifikant mehr Tiere mit HGE vorgestellt ( $p = 0,041$ ). Die jahreszeitliche Verteilung ist in Abbildung 5 dargestellt.

<b>Tabelle 4: Häufigste Rassen der Patientengruppe im Vergleich mit der Klinikpopulation</b>					
Hunderassen	Patientengruppe		Klinikpopulation		p-Werte
	Anzahl	Anzahl in %	Anzahl	Anzahl in %	
Mischlinge	24/70	34,4%	1918/6803	28,2%	0,321
Malteser	5/70	7,1%	43/6803	0,6%	< 0,001
Rehpinscher	5/70	7,1%	20/6803	0,3%	< 0,001
Zwergschnauzer	3/70	4,3%	8/6803	0,1%	< 0,001
Yorkshire Terrier	3/70	4,3%	85/6803	1,2%	0,087
Jack Russel Terrier	3/70	4,3%	63/6803	0,9%	0,029
Zwergpudel	3/70	4,3%	7/6803	0,1%	< 0,001



**Abbildung 5:** Auf der Abbildung ist die jahreszeitliche Verteilung von Patienten und Klinikpopulation vergleichend zu sehen. Auf der x-Achse sind die Monate abgebildet, auf der y-Achse die Anzahl der Tiere, die im jeweiligen Monat vorgestellt wurden, angegeben in Prozent.

## 1.2 ANAMNESE

Aus den anamnestischen Angaben wurden Informationen über Dauer der Erkrankung und des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung, Vorliegen anderer klinischer Symptome und Futterumstellung oder Fremdmaterialaufnahme gewonnen. Durchschnittlich lag die Dauer der Erkrankung der Hunde bei Vorstellung in der Klinik bei 23,9 Stunden. Der Median betrug 18 Stunden

(Range: 2 Stunden – 96 Stunden). Dabei wurden 78,6 % (55/70) der Hunde innerhalb von 24 Stunden und 47,1 % (33/70) innerhalb von 12 Stunden nach Beginn der Erkrankung vorgestellt. Die Dauer des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung betrug im Mittel 15,5 Stunden. Der Median lag bei 12 Stunden (Range: 0 Stunden – 72 Stunden).

Von den Patienten zeigten 81,4 % (57/70) zusätzlich Erbrechen. Bei 22,9 % (16/70) der Tiere trat das Erbrechen vor dem Durchfall auf. 14,3 % (10/70) der Hunde zeigten Durchfall, der sich erst später zu blutigem Durchfall entwickelte.

Bei 17,9 % (12/67) der Tiere wurde vom Besitzer angegeben, dass das Futter gewechselt wurde oder etwas Ungewohntes gefüttert wurde. Bei 7,5 % (5/67) der Hunde wurde vorberichtlich beobachtet, dass die Hunde Schnee gefressen hatten.

### **1.3 LABORPARAMETER**

Es wurden Ergebnisse aus Blutbild, Blutgasanalyse, Gerinnung und Serumprofil sowie die Befunde aus Blutkultur und Kotkultur, des Nachweises von CPE und Coronaviren im Kot ausgewertet. Diese wurden mit den Daten der Kontrollgruppe verglichen.

#### **1.3.1 ERGEBNISSE DER BLUTUNTERSUCHUNGEN**

Bei den Blutwerten wurden jeweils Mittelwert und Median sowie der Range ermittelt. Unter den Laborparametern waren bei den HGE-Patienten Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit, sowie Gesamtleukozytenzahl, Anzahl der stabkernigen und segmentkernigen, neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Thrombozyten signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Auch die Aktivitäten der Leberenzyme ALT und AP sowie die Glukosekonzentration waren signifikant höher als die der Kontrollhunde. Die Lymphozytenzahl und die Zahl der eosinophilen Granulozyten, Cholesterol- und Triglyceridspiegel, Kreatininkonzentration sowie der Kalziumspiegel waren bei den HGE-Patienten signifikant niedriger als bei den Tieren aus der Kontrollgruppe. Auch die Gerinnungszeit PT war bei den Tieren mit HGE signifikant kürzer als bei den Kontrollhunden. Die jeweiligen Daten sind in Tabelle 1 abgebildet, der Vergleich der Werte in Tabelle 5.

**Tabelle 5:** Darstellung und Vergleich der Laborwerte der Hunde aus Patienten- und Kontrollgruppe (MCV = mittleres korpuskuläres Volumen, PT = Prothrombinzeit, aPTT = aktivierte partielle Thrombinzeit, ALT = Alanin-Aminio-Transferase, AP = Alkalische Phosphatase, SGS = Serungallensäuren)

Laborparameter	Patientengruppe			Kontrollgruppe			p-Werte		
	Mittelwert	Median	Minimalwert	Maximalwert	Mittelwert	Median		Minimalwert	Maximalwert
	Erythrozyten ( $\times 10^{12}/l$ )	8,72	8,7	5,5	11,6	6,84		6,8	5,6
Hämoglobin (mmol/l)	12,73	12,8	8,2	16,5	10,16	10,1	8,3	11,9	<b>p &lt; 0,001</b>
Hämatokrit (l/l)	0,570	0,58	0,35	0,76	0,450	0,45	0,36	0,54	<b>p &lt; 0,001</b>
MCV (fl)	65,44	65,7	56,7	70,7	66,21	65,6	64,1	69,3	<b>p = 0,281</b>
Gesamtleukozyten ( $\times 10^9/l$ )	12,59	12,6	4,9	23,4	8,70	8,7	6,5	12,2	<b>p &lt; 0,001</b>
Monozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,680	0,53	0,00	5,01	0,280	0,20	0,00	0,85	<b>p = 0,004</b>
Lymphozyten ( $\times 10^9/l$ )	1,290	1,10	0,00	4,65	2,230	2,12	1,26	4,03	<b>p &lt; 0,001</b>
Stabkernige neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,530	0,39	0,00	2,08	0,100	0,07	0,00	0,31	<b>p &lt; 0,001</b>
Segmentkernige neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	10,15	10,5	0,0	19,9	5,53	5,3	3,2	8,7	<b>p &lt; 0,001</b>
Eosinophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,070	0,00	0,00	1,10	0,440	0,30	0,07	1,64	<b>p &lt; 0,001</b>
Basophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,02	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,08	<b>p = 0,681</b>
Thrombozyten ( $\times 10^9/l$ )	400,4	362	161	898	303,6	301	119	452	<b>p = 0,004</b>
PT (Sek.)	18,66	19,0	10,4	36,5	15,11	14,6	11,4	22,5	<b>p &lt; 0,001</b>
aPTT (Sek.)	11,44	11,1	7,7	18,2	11,99	11,8	9,6	15,5	<b>p = 0,131</b>
ALT (U/l)	93,14	53,5	13,0	1651,0	38,38	33,0	20,0	112,0	<b>p &lt; 0,001</b>
AP (U/l)	65,74	48,5	14,0	259,0	42,43	31,0	12,0	201,0	<b>p = 0,015</b>
Bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )	2,630	2,39	0,39	11,43	2,400	2,36	0,48	4,99	<b>p = 0,825</b>
SGS ( $\mu\text{mol/l}$ )	9,46	5,1	0,0	67,2	6,51	5,3	1,9	28,4	<b>p = 0,913</b>
$\alpha$ -Amylase (U/l)	929,2	603	197	6741	571,1	568	349	805	<b>p = 0,142</b>
Lipase (U/l)	939,5	338	60	14469	266,3	232	55	732	<b>p = 0,051</b>
Cholesterol (mmol/l)	5,230	4,83	1,93	9,57	6,080	6,15	3,11	9,32	<b>p = 0,021</b>
Triglyceride (mmol/l)	0,530	0,47	0,10	2,00	0,670	0,60	0,24	2,01	<b>p = 0,043</b>
Gesamteiweiß (g/l)	62,36	62,5	32,5	83,3	61,11	61,7	53,8	67,5	<b>p = 0,370</b>
Albumin (g/l)	35,22	35,7	20,3	47,9	36,74	37,3	30,4	42,3	<b>p = 0,321</b>
Harnstoff (mmol/l)	7,170	6,74	2,65	17,03	6,430	6,10	4,67	9,60	<b>p = 0,296</b>
Kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	69,46	64,0	27,0	146,0	81,24	79,0	43,0	122,0	<b>p = 0,019</b>
Glukose (mmol/l)	6,13	6,1	3,5	12,3	5,30	5,1	4,5	6,5	<b>p = 0,006</b>
Natrium (mmol/l)	142,0	142	131	152	143,1	143	140	145	<b>p = 0,080</b>
Kalium (mmol/l)	3,89	3,8	3,1	6,7	4,03	4,0	3,3	5,0	<b>p = 0,128</b>
ionisiertes Kalzium (mmol/l)	1,22	1,2	1,0	1,4	1,30	1,3	1,1	1,4	<b>p &lt; 0,001</b>
Phosphat (mmol/l)	1,48	1,3	0,7	4,4	1,36	1,3	1,0	1,8	<b>p = 0,913</b>
Chlorid (mmol/l)	110,5	111	96	119	110,9	111	105	115	<b>p = 0,474</b>

Der cPLI-Wert lag bei 14,8 % (8/54) der getesteten Tieren über dem Grenzwert von 400 µg/l. Median und Mittelwert lagen bei 41 µg/l und 170,4 µg/l (wobei die untere Messgrenze < 30 µg/l mit 30 µg/l und die obere Messgrenze > 1000 µg/l mit 1000 µg/l berücksichtigt wurde).

Die Blutkultur war bei 17,2 % (10/58) der Tiere aus der Patientengruppe positiv. Bei den Keimen handelte es sich um *Staphylococcus intermedius* (zweimal), *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, coryneforme Stäbchen, die nicht weiter differenzierbar waren, *Acinetobacter lwoffii*, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium accolens* und *Arthrobacter* spp.. In keinem dieser Fälle wurde der gleiche Keim in der Kotkultur angezüchtet. Unter den Hunden der Kontrollgruppe war die Blutkultur bei 9,5 % (2/21) der Hunde positiv. In einem Fall wurden hämolysierende *E. coli* nachgewiesen, in einem anderen Fall waren es *Corynebacterium* spp. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe in der Anzahl der Tiere, die in der Blutkultur positiv getestet wurden ( $p = 0,499$ ).

### 1.3.2 ERGEBNISSE DER KOTUNTERSUCHUNGEN

CPE wurde in der Patientengruppe bei 30,9 % (17/55) der getesteten Tiere mittels ELISA nachgewiesen. Unter den Hunden der Kontrollgruppe war CPE bei 4,8 % (1/21) im Kot nachweisbar. In der Patientengruppe waren statistisch signifikant mehr Tiere CPE-positiv als in der Kontrollgruppe ( $p = 0,030$ ).

Bei 22,4 % (13/58) der untersuchten Hunde aus der Patientengruppe wurden elektronenmikroskopisch Coronaviren nachgewiesen. Bei den Hunden aus der Kontrollgruppe waren in 4,8 % (1/21) der Fälle Coronaviren im Kot nachweisbar. Der Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe in der Nachweishäufigkeit von Coronaviren im Kot war nicht signifikant ( $p = 0,097$ ).

In der Patientengruppe wurden bei 34,6 % der Patienten (19/55) potentiell enteropathogene Keime nachgewiesen. Dabei handelte es sich in 17 Fällen um hämolysierende *E. coli*, einmal um *Klebsiella pneumoniae* und einmal um hämolysierende *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae*. Bei vier weiteren Tieren wurde die Kotkultur als nicht physiologisch eingestuft (dreimal kein Nachweis grampositiver Keime, einmal kein Nachweis aerob wachsender Keime), so dass die Kotkultur insgesamt bei 41,8 % (23/55) der Hunde als abnormal eingestuft

wurde. In der Kotkultur der Hunde der Kontrollgruppe wurden bei 33,3 % (7/21) der Tiere *E. coli* nachgewiesen. Bei 19,1 % (4/21) handelte es sich um hämolysierende *E. coli*, bei 14,3 % (3/21) um mukoid wachsende *E. coli*. Bei weiteren 23,8 % (5/21) der Kontrollhunde wurde eine Dysbiose diagnostiziert, so dass die Kotkultur insgesamt bei 57,1 % (12/21) der gesunden Hunde als abnormal eingestuft wurde. Der Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe in der Nachweishäufigkeit potentiell enteropathogener Keime ( $p = 0,896$ ) oder einer abnormalen Kotkultur war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,214$ ). In der Kontrollgruppe waren statistisch signifikant mehr Tiere mit Dysbiose ( $p = 0,046$ ).

## 2 TEIL 2 – VERGLEICH VERSCHIEDENER UNTERGRUPPEN

Es bestand kein signifikanter Unterschied im HGE-Index zwischen den Tieren mit einem cPLI-Wert  $> 400 \mu\text{g/l}$  und  $\leq 400 \mu\text{g/l}$ , mit einem cPLI-Wert  $> 200 \mu\text{g/l}$  und  $\leq 200 \mu\text{g/l}$ , mit und ohne Nachweis von CPE, mit und ohne Nachweis von Coronaviren im Kot, mit und ohne Keimwachstum in der Blutkultur, sowie zwischen den Patienten mit physiologischer Kotkultur und abnormaler Kotkultur. Des Weiteren lag kein Unterschied zwischen den Tieren mit erhöhten und normalen SGS ( $\leq 20 \text{ mmol/l}$ ), denjenigen mit erhöhter und normaler ALT ( $\leq 91 \text{ U/l}$ ), zwischen denen mit einer Krankheitsdauer über 24 Stunden und unter 24 Stunden bis zur Vorstellung, sowie denjenigen mit initial zwischen  $0,5 \times 10^9/\text{l}$  und  $1,5 \times 10^9/\text{l}$  stabkernigen, neutrophilen Granulozyten und maximal  $0,5 \times 10^9/\text{l}$  stabkernigen, neutrophilen Granulozyten vor.

Die Patienten mit initial erhöhtem Hämatokrit ( $> 0,58 \text{ l/l}$ ) hatten im Vergleich mit den übrigen Tieren an Tag 4 einen signifikant niedrigeren HGE-Index. Patienten mit initial erhöhter Gesamtleukozytenzahl ( $> 16,0 \times 10^9/\text{l}$ ) hatten an Tag 1 einen signifikant höheren HGE-Index und einen signifikant höheren Abfall im HGE-Index von Tag 1 bis Tag 7 im Vergleich zu Hunden, deren Gesamtleukozytenzahl im Referenzbereich lag. Patienten, bei denen initial zwischen  $1,0 \times 10^9/\text{l}$  und  $1,5 \times 10^9/\text{l}$  stabkernigen, neutrophilen Granulozyten vorlagen, hatten an Tag 4 einen signifikant höheren HGE-Index im Vergleich zu denjenigen, bei denen maximal  $1,0 \times 10^9/\text{l}$  stabkernigen, neutrophilen Granulozyten gezählt worden waren. Die p-Werte der jeweiligen Vergleiche sind in Tabelle 6 aufgeführt.

**Tabelle 6:** p-Werte der Gruppenvergleiche (cPLI = kanine pankreaspezifische Lipase, pos. = positiv, neg. = negativ, CPE = *Clostridium-perfringens* -Enterotoxin, stabk., neutr. Gran. = stabkernige, neutrophile Granulozyten, ALT = Alanin-Amino-Transferase)

verglichene Gruppen	p-Wert Tag 1	p-Wert Tag 2	p-Wert Tag 3	p-Wert Tag 4	p-Wert Tag 5	p-Wert Tag 6	p-Wert Tag 7	Index-Differenz Tag 1/Tag 3	Index-Differenz Tag 1/Tag 7	Index-Differenz Tag 3/Tag 7
Krankheitsdauer > 24 Stunden (n = 12)/ < 24 Stunden (n = 48)	0,896	0,969	0,983	0,843	0,598	0,416	0,908	0,852	0,886	0,816
Hämatokrit > 0,58 l/l (n = 28)/ < 0,58 l/l (n = 32)	0,109	0,702	0,373	<b>0,014</b>	0,540	0,869	0,427	0,174	0,052	0,684
Gesamtleukozyten > 16 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 9)/ < 16 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 51)	<b>0,018</b>	0,924	0,756	0,310	0,653	0,271	0,928	0,095	<b>0,019</b>	0,908
stabk., neutr. Gran. > 0,5 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 11)/ < 0,5 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 46)	0,751	0,261	0,226	0,502	0,341	0,354	0,967	0,625	0,742	0,502
stabk., neutr. Gran. > 1,0 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 11)/ < 1,0 x 10 <sup>9</sup> /l (n = 46)	0,241	0,123	0,086	<b>0,013</b>	0,707	0,866	0,846	1,000	0,474	0,168
Serungallensäuren > 20 µmol/l (n = 5)/ < 20 µmol/l (n = 49)	0,321	0,078	0,449	0,819	0,957	0,283	0,787	0,988	0,375	0,459
ALT > 91 U/l (n = 15)/ < 91 U/l (n = 45)	0,206	0,159	0,612	0,815	0,811	0,638	0,229	0,381	0,740	0,550
cPLI > 200 µg/dl (n = 12)/ < 200 µg/dl (n = 42)	0,419	0,314	0,183	0,668	0,094	0,650	0,264	0,755	0,440	0,458
cPLI > 400 µg/dl (n = 8)/ < 400 µg/dl (n = 46)	0,759	0,896	0,656	0,594	0,121	0,291	0,568	0,732	0,700	0,681
Blutkultur pos. (n = 10)/ neg. (n = 44)	0,946	0,575	0,366	0,558	0,526	0,952	0,495	0,475	0,784	1,000
Kotkultur abnormal (n = 20)/ normal (n = 35)	0,467	0,119	0,907	0,667	0,076	0,265	0,912	0,879	0,983	0,714
CPE pos. (n = 15)/ neg. (n = 35)	0,616	0,856	0,539	0,321	0,294	0,197	0,232	0,929	0,288	0,209
Corona pos. (n = 13)/ neg. (n = 45)	0,835	0,412	0,286	0,614	0,158	0,337	0,182	0,450	0,407	1,000

### **3 TEIL 3 - THERAPIESTUDIE**

Der Therapieerfolg von Amoxicillin/Clavulansäure bei der HGE wurde mittels Therapieverlauf beurteilt. Dabei wurde dieser jeweils zwischen der Placebo- und Verumgruppe verglichen.

#### **3.1 VERGLEICH PLACEBO- UND VERUMGRUPPE**

Die Vergleichbarkeit der Gruppen wurde beurteilt, indem die Initialparameter vor Therapiebeginn auf signifikante Unterschiede untersucht wurden. Der Therapieerfolg wurde anhand des Vergleichs des Krankheitsverlaufes zwischen beiden Therapiegruppen verglichen.

##### **3.1.1 INITIALPARAMETER VOR THERAPIEBEGINN**

Zur Überprüfung einer gleichmäßigen Verteilung der Patienten in den beiden Therapiegruppen wurden die Daten aus Anamnese und Signalement zwischen der Verum- und Placebogruppe verglichen. Des Weiteren wurden Befunde der Labor- und Kotuntersuchungen auf signifikante Unterschiede untersucht.

###### **3.1.1.1 SIGNALEMENT**

Zwischen Placebo- und Verumgruppe bestand kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Alter ( $p = 0,324$ ), Gewicht ( $p = 0,147$ ) und Geschlecht (männlich intakt:  $p = 0,398$ , männlich kastriert:  $p = 0,299$ , weiblich intakt:  $p = 0,299$ , weiblich kastriert  $p = 0,422$ ). Das Alter lag in der Placebogruppe durchschnittlich bei 7,20 Jahren (Median: 5,9 Jahre, Range: 1,1 Jahre – 14,6 Jahre), in der Verumgruppe bei 6,30 Jahren (Median: 6,6 Jahre, Range: 0,6 Jahre – 15,4 Jahre).

In der Placebogruppe waren 36,7 % (11/30) Tiere männlich intakt, 10,0 % (3/30) männlich kastriert, 10,0 % (3/30) der Hunde waren weiblich intakt und 43,3 % (13/30) weiblich kastriert. In der Verumgruppe waren 23,3 % (7/30) der Patienten männlich, 23,3 % (7/30) männlich kastriert, 23,3 % (7/30) der Tiere waren weiblich und 30,0 % (9/30) weiblich kastriert. Die Unterschiede zwischen den Therapiegruppen waren statistisch nicht signifikant.

Das Gewicht lag in der Placebogruppe im Durchschnitt bei 15,97 kg (Median: 11,2 kg, Range: 2,1 kg – 41,6 kg), in der Verumgruppe bei 11,95 kg (Median: 8,5 kg, Range: 1,6 kg – 40,0 kg).

### **3.1.1.2 ANAMNESE**

Zwischen Placebo- und Verumgruppe bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Dauer der Erkrankung ( $p = 0,875$ ) und des blutigen Durchfalls ( $p = 0,256$ ) bis zur Vorstellung in der Klinik. Die Dauer der Erkrankung bis zur Vorstellung in der Klinik betrug bei den Tieren aus der Placebogruppe im Durchschnitt 28,0 Stunden (Median: 24 Stunden, Range: 2 Stunden – 96 Stunden). In der Verumgruppe lag die mittlere Dauer bei 20,5 Stunden (Median: 12 Stunden, Range: 3 Stunden – 72 Stunden). Die Dauer des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung lag im Durchschnitt bei 19,5 Stunden (Median: 16 Stunden, Range: 1 Stunde – 72 Stunden) in der Placebogruppe, in der Verumgruppe waren es 12,8 Stunden (Median: 9 Stunden, Range: 0 Stunden – 48 Stunden).

### **3.1.1.3 LABORPARAMETER**

Es wurden Ergebnisse aus Blutbild, Blutgasanalyse, Gerinnung und Serumprofil verglichen. Des Weiteren wurden die Befunde aus Blutkultur und Kotkultur, des Nachweises von CPE und Coronaviren im Kot ausgewertet und auf Unterschiede untersucht.

#### **3.1.1.3.1 Ergebnisse der Blutuntersuchungen**

Bei den Laborwerten unterschieden sich die beiden Therapiegruppen signifikant in der Höhe der aPTT, Lipasekonzentration und im Albuminspiegel. Bei Tieren aus der Placebogruppe war die aPTT signifikant länger ( $p = 0,030$ ), die Lipasekonzentration signifikant höher ( $p = 0,032$ ) sowie der Albuminspiegel niedriger ( $p = 0,009$ ), als bei Hunden aus der Verumgruppe. Die Werte der beiden Gruppen sind in Tabelle 7 dargestellt.

**Tabelle 7: Laborwerte der Hunde der Patienten- und Kontrollgruppe (MCV = mittleres korpuskuläres Volumen, PT = Prothrombinzeit, Sek. = Sekunden, aPTT = aktivierte partielle Thrombinzeit, ALT = Alanin-Amino-Transferase, AP = Alkalische Phosphatase, SGS = Serungallensäuren)**

Laborparameter	Placebogruppe				Verumgruppe				p-Werte
	Mittelwert	Median	Minimalwert	Maximalwert	Mittelwert	Median	Minimalwert	Maximalwert	
	Erythrozyten ( $\times 10^{12}/l$ )	8,57	8,5	6,7	10,8	8,99	8,9	5,9	
Hämoglobin (mmol/l)	12,48	12,6	9,7	16,1	13,41	13,1	8,9	16,5	0,088
Hämatokrit (l/l)	0,551	0,56	0,35	0,76	0,585	0,59	0,39	0,75	0,082
MCV (fl)	65,25	65,9	56,7	70,7	65,45	65,7	60,1	70,3	0,982
Gesamtleukozyten ( $\times 10^9/l$ )	12,63	12,8	4,9	20,2	12,36	12,5	5,7	23,4	0,610
Monozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,642	0,61	0,00	1,91	0,602	0,34	0,00	5,01	0,075
Lymphozyten ( $\times 10^9/l$ )	1,320	1,24	0,00	4,65	1,115	1,06	0,15	3,23	0,185
Stabkernige, neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,581	0,51	0,00	1,50	0,430	0,28	0,00	1,10	0,294
Segmentkernige, neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	10,16	11,1	2,7	15,5	10,24	10,6	3,1	19,9	0,817
Eosinophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,070	0,00	0,00	0,53	0,079	0,00	0,00	1,10	0,378
Basophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,035	0,00	0,00	1,00	0,013	0,00	0,00	0,15	0,313
Thrombozyten ( $\times 10^9/l$ )	384,4	327	177	752	436,7	433	161	898	0,121
PT (Sek.)	19,38	19,0	10,4	36,5	17,86	18,4	11,7	23,6	0,396
aPTT (Sek.)	12,15	12,2	9,7	18,2	10,87	10,9	7,7	13,9	<b>0,030</b>
ALT (U/l)	126,80	55,5	18,0	1651,0	71,27	62,0	17,0	174,0	0,994
AP (U/l)	68,93	52,5	21,0	199,0	56,23	38,5	16,0	202,0	0,249
Bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )	2,830	2,37	0,39	11,43	2,463	2,38	0,50	5,42	0,819
SGS ( $\mu\text{mol/l}$ )	6,68	3,7	0,1	33,5	11,79	7,6	0,1	67,2	0,111
$\alpha$ -Amylase (U/l)	1028,7	588	197	6741	814,9	705	300	2049	0,388
Lipase (U/l)	1163,3	233	60	14469	747,3	504	111	3971	<b>0,032</b>
Cholesterol (mmol/l)	5,029	4,70	1,93	9,08	5,494	5,51	2,50	9,57	0,300
Triglyceride (mmol/l)	0,504	0,41	0,10	2,00	0,555	0,51	0,30	1,00	0,054
Gesamteiweiß (g/l)	61,44	59,7	34,2	80,3	64,40	64,0	34,9	83,3	0,135
Albumin (g/l)	33,72	35,0	21,7	47,9	37,14	37,8	20,3	46,9	<b>0,009</b>
Harnstoff (mmol/l)	6,601	6,43	2,65	11,87	8,062	6,95	2,80	17,03	0,098
Kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	71,37	67,5	34,0	146,0	70,93	65,0	27,0	138,0	0,830
Glukose (mmol/l)	6,02	5,9	4,0	9,6	6,20	6,4	3,5	12,3	0,808
Natrium (mmol/l)	141,2	142	131	147	142,6	143	134	151	0,164
Kalium (mmol/l)	3,87	3,8	3,4	5,3	4,00	3,8	3,3	6,7	0,518
ionisiertes Kalzium (mmol/l)	1,22	1,2	1,0	1,4	1,21	1,2	1,0	1,3	0,632
Phosphat (mmol/l)	1,37	1,3	1,0	2,1	1,62	1,3	0,67	4,4	0,539
Chlorid (mmol/l)	110,3	110	104	117	110,6	111	96	119	0,417

Eine positive Blutkultur hatten 11,5 % (3/26) der Patienten aus der Placebogruppe (*Staph. intermedius*, ein nicht näher differenzierbares coryneformes Stäbchen, *Corynebacterium accolens*) und 25,0 % (7/28) der Patienten aus der Verumgruppe (*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosum*, *Acinetobacter lwoffii*, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Arthrobacter* spp.). Der Unterschied im Vorkommen einer positiven Blutkultur zwischen den Gruppen war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,298$ ).

In der Placebogruppe betrug der cPLI-Wert durchschnittlich 195,0  $\mu\text{g/l}$  (Median: 41  $\mu\text{g/l}$ , Range: 30  $\mu\text{g/l}$  – 1000  $\mu\text{g/l}$ ) in der Verumgruppe 143,8  $\mu\text{g/l}$  (Median: 42  $\mu\text{g/l}$ , Range: 30  $\mu\text{g/l}$  – 1000  $\mu\text{g/l}$ ). In der Placebogruppe hatten 21,4 % (6/28) der Hunde ein cPLI > 400  $\mu\text{g/l}$ , in der Verumgruppe waren es 7,7 % (2/26). Weder die cPLI-Höhe ( $p = 0,899$ ) noch die Anzahl der Patienten mit cPLI-Werten oberhalb des Referenzbereiches ( $p = 0,253$ ) waren zwischen den beiden Therapiegruppen signifikant unterschiedlich.

### 3.1.1.3.2 Ergebnisse der Kotuntersuchungen

In der Placebogruppe wurde bei 25,0 % (7/28) der Hunde Coronaviren nachgewiesen, in der Verumgruppe bei 20,0 % (6/30). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ( $p = 0,888$ ).

In der Placebogruppe waren 46,2 % (12/26) der Hunde in der Kotkultur bezügliche potentiell enteropathogener Keime positiv (elfmal hämolysierende *E. coli*, einmal *Klebsiella pneumoniae* und hämolysierende *E. coli*), in der Verumgruppe waren es 17,2 % (5/29) (viermal hämolysierende *E. coli*, einmal *Klebsiella pneumoniae*). Der Unterschied war statistisch signifikant ( $p = 0,043$ ). Bei drei weiteren Tieren wurde die Kotkultur nicht als physiologisch eingestuft (zweimal kein Nachweis grampositiver Keime, einmal kein Nachweis aerob wachsender Keime), darunter zwei Hunde aus der Placebogruppe und einer aus der Verumgruppe. Damit wurde die Kotkultur bei 53,9 % (14/26) der Hunde aus der Placebogruppe und 20,7 % (6/29) aus der Verumgruppe als abnormal eingestuft. Der Unterschied im Vorkommen einer abnormalen Kotkultur zwischen den Therapiegruppen war statistisch signifikant ( $p = 0,023$ ).

CPE wurde bei 25,9 % (7/27) der Tiere aus der Placebogruppe nachgewiesen und bei 34,8 % (8/23) der Hunde aus der Verumgruppe. Der Unterschied zwischen

beiden Therapiegruppen war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,710$ ).

#### **3.1.1.4 HÄMORRHAGISCHE-GASTROENTERITIS-INDEX**

Der initiale HGE-Index (Tag 1) betrug zwischen 3,0 und 16,0 (Median: 12,5, Mittelwert: 11,63) in der Placebogruppe und 6,0 und 17,0 (Median: 13,0, Mittelwert: 12,37) in der Verumgruppe. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,376$ ).

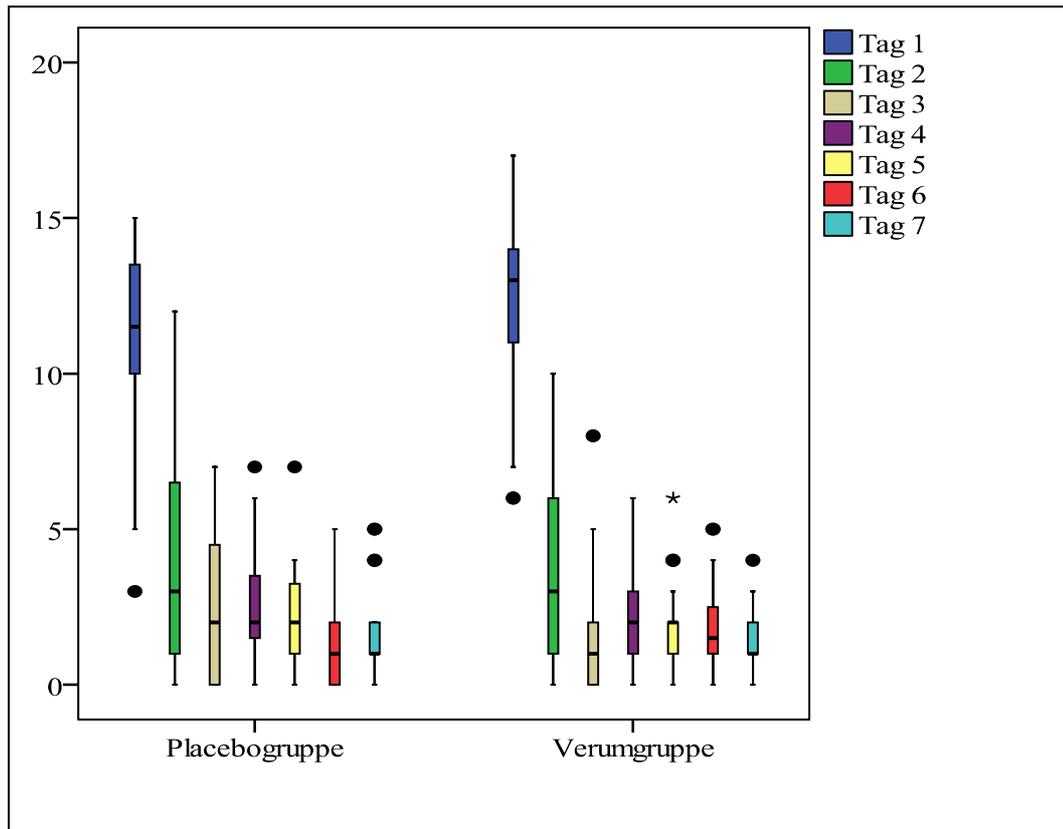
### **3.1.2 PARAMETER ZUR BEURTEILUNG DES THERAPIEERFOLGES**

Um einen Unterschied im Therapieerfolg festzustellen, wurden der Krankheitsverlauf und die Dauer des stationären Aufenthaltes der beiden Therapiegruppen miteinander verglichen. Dabei wurde der HGE-Index tageweise verglichen, eine Verlaufsanalyse über den gesamten Studienzeitraum durchgeführt, sowie Differenzen zwischen verschiedenen Tagen gebildet, um eine Verbesserung über einen bestimmten Zeitraum zu erfassen. Die Kotkonsistenz, als entscheidender Parameter, wurde zusätzlich gesondert ausgewertet. Außerdem wurde die Dauer des stationären Aufenthaltes verglichen.

#### **3.1.2.1 HÄMORRHAGISCHE-GASTROENTERITIS-INDEX**

An keinem Tag ergab sich ein signifikanter Unterschied im HGE-Index zwischen den Patienten aus beiden Therapiegruppen. Von Tag 1 bis Tag 3 fiel der HGE-Index der Hunde aus der Verumgruppe signifikant stärker ab als bei den Hunden aus der Placebogruppe ( $p = 0,032$ ). In den anderen Differenzen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Therapiegruppen (siehe Abbildung 6 und Tabelle 8). Mittels einer Verlaufsanalyse (mixed model) war kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Krankheitsverlaufes zwischen der Placebo- und Verumgruppe festzustellen ( $p = 0,487$ ).

Wenn nur die Dauer des Durchfalls (Kotkonsistenz  $> 0$ ) betrachtet wurde, ergaben sich an keinem Tag signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Die Werte sind in Tabelle 9 vergleichend dargestellt.



**Abbildung 6:** In der Abbildung sind die HGE-Indexe von Tag 1 bis Tag 7 in Boxplots vergleichend zwischen den beiden Therapiegruppen dargestellt.

### 3.1.2.2 DAUER DES STATIONÄREN AUFENTHALTES

Die Dauer des stationären Aufenthaltes betrug in der Placebogruppe durchschnittlich 3,50 Tage (Median: 3,0 Tage, Range: 3,0 Tage – 7,0 Tage), in der Verumgruppe 3,44 Tage (Median: 3,0 Tage, Range: 3,0 Tage – 4,0 Tage). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,740$ ).

### 3.1.2.3 ANZAHL STUDIENABBRECHER

Bei sieben von 60 Patienten wurde die Studie abgebrochen. Sechs von sieben der Studienabbrecher stammten aus der Placebogruppe, einer der sieben aus der Verumgruppe. In der Placebogruppe waren also 20,0 % (6/30) der Hunde Studienabbrecher, in der Verumgruppe waren es 3,3 % (1/30). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,103$ ). Bei der vorliegenden Gruppengröße von 30 Tieren pro Gruppe beträgt die statistische Power 58 % für den Unterschied in der Anzahl der Studienabbrecher zwischen den Therapiegruppen.

**Tabelle 8:** Vergleiche der HGE-Index-Werte von Placebo- und Verumgruppe (zw. = zwischen)

Tag	Placebogruppe				Verumgruppe				p-Wert
	Mittelwert	Median	Minimalwert	Maximalwert	Mittelwert	Median	Minimalwert	Maximalwert	
HGE-Index Tag 1	11,6	13	3	16	12,4	13	6	17	0,376
HGE-Index Tag 2	4,5	3	0	12	4,2	3	0	11	0,861
HGE-Index Tag 3	3,0	2	0	13	1,5	1	0	8	0,072
HGE-Index Tag 4	3,0	2	0	11	2,5	2	0	6	0,529
HGE-Index Tag 5	2,1	2	0	7	1,8	2	0	6	0,715
HGE-Index Tag 6	1,5	1	0	5	1,9	2	0	5	0,286
HGE-Index Tag 7	1,7	1	0	5	1,5	1	0	4	0,910
Differenz zw. Tag 1 und Tag 3	8,4	8	-15	0	10,8	11	-16	-4	<b>0,032</b>
Differenz zw. Tag 1 und Tag 7	9,5	10	-15	-1	10,5	11	-15	-5	0,147
Differenz zw. Tag 3 und Tag 7	0,8	1	-5	5	0,1	-1	-7	3	0,206

**Tabelle 9:** Anteil der Hunde mit Durchfall (Kotkonsistenz > 0), DF = Durchfall

Tag	Placebogruppe		Verumgruppe		p-Wert
	Anzahl der Hunde mit DF	Prozentualer Anteil der Hunde mit DF	Anzahl der Hunde mit DF	Prozentualer Anteil der Hunde mit DF	
Tag 1	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	0,643
Tag 2	20/29	68,7 %	17/30	56,7 %	0,880
Tag 3	15/27	55,6 %	12/29	41,4 %	0,063
Tag 4	15/25	60,0 %	15/29	51,7 %	0,374
Tag 5	12/24	50,0 %	8/29	27,6 %	0,080
Tag 6	10/24	41,7 %	7/29	24,1 %	0,224
Tag 7	6/24	25,0 %	3/29	10,3 %	0,116

### 3.2 VERGLEICH STUDIENABBRECHER UND NICHTABBRECHER

Es wurden Daten des Signalements, der Anamnese sowie der Laboruntersuchungen der Abbrecher und Nichtabbrecher verglichen, um festzustellen, ob bei Einlieferung bereits Unterschiede zwischen den Tieren, welche die Studie beendeten (hier im Weiteren als Nichtabbrecher bezeichnet), und den Studienabbrechern vorlagen. Bei den Studienabbrechern handelte es sich um die im Folgenden beschriebenen sieben Fälle, die chronologisch hinsichtlich des Vorstellungszeitpunktes aufgezählt werden:

Bei Fall 1 handelte es sich um einen 5,2 Jahre alten, männlichen Rauhaardackel aus der Placebogruppe. An Tag 3 hatte der Patient noch Durchfall und es wurde eine Laborkontrolle durchgeführt. Hier fiel eine Leukozytose mit Linksverschiebung ( $17,7 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $1,6 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten,  $15,1 \times 10^9/l$  segmentkernige Leukozyten) auf. Initial hatte der Hund  $14,1 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $0,4 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten und  $11,1 \times 10^9/l$  segmentkernige Leukozyten. Aufgrund der Leukozytose mit Linksverschiebung und somit Verdacht auf Sepsis wurde der

Studienpatient entblindet und darauffolgend mit Amoxicillin/Clavulansäure behandelt. Der Hund wurde noch mehrere Tage wegen des Durchfalls stationär behandelt.

Bei Fall 2 handelte es sich um eine 9,6 Jahre alte, kastrierte Yorkshire-Terrier-Hündin aus der Placebogruppe. An Tag 3 zeigte der Patient ein reduziertes Allgemeinbefinden, Anorexie und Durchfall. In einer Blutbildkontrolle wurde eine degenerative Linksverschiebung festgestellt ( $15,1 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $5,6 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten,  $3,4 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten). Das initiale Blutbild wies eine gering- bis mittelgradige Leukozytose ( $19,3 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten) und eine Linksverschiebung ( $1,4 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten) auf. Nach einer Entblindung wegen Sepsisverdacht wurde der Patient mit Amoxicillin/Clavulansäure und Enrofloxacin behandelt. Der Hund begann am folgenden Tag wieder zu fressen und zeigte keinen Durchfall mehr.

Bei Fall 3 handelte es sich um eine 2,9 Jahre alte, weibliche Rehpinscherhündin aus der Placebogruppe. An Tag 3 wurde eine erhöhte Körpertemperatur von  $39,7 \text{ }^\circ\text{C}$  festgestellt. Eine Kontrolle des Blutbildes zeigte eine Leukopenie ( $1,5 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $0,4 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten,  $0,2 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten). Der Parvovirus-Antigentest sowie die virologische Kotuntersuchung waren negativ für Parvovirose. Der Patient wurde wegen Verdacht auf Sepsis entblindet und mit Amoxicillin/Clavulansäure und Enrofloxacin behandelt. Am folgenden Tag hatte der Hund  $5,4 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $0,1 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten und  $1,1 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. Der Hund wurde mit gutem Allgemeinbefinden nach Hause entlassen.

Bei Fall 4 handelte es sich um eine 12,8 Jahre alte, kastrierte Pekinesen-Mix-Hündin aus der Placebogruppe. Obwohl sie bei Vorstellung klinisch stabil erschien, verstarb sie akut 8 Stunden nach der stationären Aufnahme. Das initiale Blutbild zeigte  $15,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $1,4 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten und  $13,4 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. In der pathologischen Untersuchung wurde eine nekrotisierende Enteritis mit *Cl. perfringens* diagnostiziert. Der ausführliche Sektionsbericht befindet sich im Anhang.

Bei Fall 5 handelte es sich um einen 8,3 Jahre alten, männlichen Rehpinscher aus der Verumgruppe. Sein Allgemeinbefinden verbesserte sich initial, an Tag 2 verstarb er jedoch akut. Das initiale Blutbild zeigte  $18,7 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $1,3 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten und  $14,6 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. Das pathologische Gutachten ergab Enteritis, Mitralfibrose, sowie eine Sialozele. Der ausführliche Sektionsbericht befindet sich im Anhang.

Bei Fall 6 handelte es sich um eine 4,9 Jahre alte, kastrierte Mischlingshündin aus der Placebogruppe. An Tag 3 wurde sie mit noch leichtem Durchfall entlassen und an Tag 4 erneut mit massivem, blutigem Durchfall vorgestellt. Das initiale Blutbild zeigte  $10,9 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten, keine stabkernigen, neutrophilen Granulozyten und  $10,1 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. An Tag 4 ergab das Blutbild  $12,2 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten, keine stabkernigen, neutrophilen Granulozyten und  $11,0 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. Der Hund wurde wegen des Rezidivs entblindet und mit Amoxicillin/Clavulansäure behandelt. Am nächsten Tag entwickelte ein zweiter Hund im gleichen Haushalt die gleichen Symptome.

Bei Fall 7 handelte es sich um eine 11,8 Jahre alte, kastrierte Riesenschnauzerhündin aus der Placebogruppe. An Tag 2 zeigte die Hündin ein sehr schlechtes Allgemeinbefinden. In einer Blutbildkontrolle wurde eine Leukopenie von  $1,1 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $0,1 \times 10^9/l$  stabkernigen, neutrophilen Granulozyten und  $0,5 \times 10^9/l$  segmentkernigen Granulozyten, festgestellt. Das initiale Blutbild zeigte  $9,3 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten,  $0,5 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten und  $7,3 \times 10^9/l$  segmentkernige Granulozyten. Der Parvovirus-Antigentest sowie die virologische Kotuntersuchung ergaben keinen Hinweis auf Parvovirose. Aufgrund des schlechten Allgemeinbefindens, Dokumentation von Thoraxmassen und der vorsichtigen Prognose entschieden sich die Besitzer zu einer Euthanasie. Eine pathologische Untersuchung wurde nicht durchgeführt.

### 3.2.1 SIGNALEMENT

Es bestand kein signifikanter Unterschied im Alter ( $p = 0,327$ ), Geschlecht (männlich intakt:  $p = 1,000$ , weiblich intakt:  $p = 1,000$ , weiblich kastriert:  $p =$

0,405) und Gewicht ( $p = 0,307$ ) zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern. Das Alter lag bei den Studienabbrechern im Durchschnitt bei 7,92 Jahren (Median: 8,3 Jahre, Range: 2,9 Jahre – 12,8 Jahre). Die Nichtabbrecher waren im Mittel 6,41 Jahre alt (Median: 5,3 Jahre, Range: 0,6 Jahre – 15,4 Jahre). Unter der Studienabbrechern waren 28,6 % (2/7) der Tiere männlich intakt, 14,3 % (1/7) weiblich intakt und 57,1 % (4/7) weiblich kastriert. Unter den Nichtabbrechern waren 30,2 % (16/53) männlich intakt, 17,0 % (9/53) weiblich intakt, sowie 18,9 % (10/53) männlich kastriert und 34,0 % (18/53) weiblich kastriert. Das Gewicht lag bei den Studienabbrechern im Durchschnitt bei 12,94 kg (Median: 5,7 kg, Range: 2,1 kg – 39,8 kg). Das Gewicht der Nichtabbrecher betrug durchschnittlich 14,09 kg (Median: 10,0 kg, Range: 1,6 kg – 41,6 kg).

### **3.2.2 ANAMNESE**

Zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern bestand kein signifikanter Unterschied in der Dauer der Erkrankung ( $p = 0,875$ ) und des blutigen Durchfalls ( $p = 0,256$ ) bis zur Vorstellung in der Klinik. Die Dauer der Erkrankung betrug bei den Studienabbrechern durchschnittlich 21,3 Stunden (Median: 24 Stunden, Range: 5 Stunden – 48 Stunden) bis zur Vorstellung in der Klinik. Bei den Nichtabbrechern lag sie bei 24,6 Stunden (Median: 18 Stunden, Range: 2 Stunden – 96 Stunden).

Die Dauer des blutigen Durchfalls bis zur Vorstellung in der Klinik lag bei den Studienabbrechern im Mittel bei 20,3 Stunden (Median: 18 Stunden, Range: 4 Stunden – 48 Stunden). Bei den Nichtabbrechern betrug die Dauer durchschnittlich 15,6 Stunden (Median: 12 Stunden, Range: 0 Stunden – 72 Stunden). Der HGE-Index an Tag 1 war nicht signifikant unterschiedlich zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern ( $p = 0,164$ ).

### **3.2.3 LABORPARAMETER**

Es wurden Ergebnisse aus Blutbild, Blutgasanalyse, Gerinnung und Serumprofil verglichen. Des Weiteren wurden die Befunde aus Blutkultur und Kotkultur, des Nachweises von CPE und Coronaviren im Kot ausgewertet und auf Unterschiede

untersucht.

### 3.2.3.1 ERGEBNISSE DER BLUTUNTERSUCHUNGEN

Im Vergleich der Laborwerte der Studienabbrechern mit den Nichtabbrechern zeigten sich bei den Studienabbrechern signifikant niedrigere Werte bei  $\alpha$ -Amylase- ( $p = 0,009$ ) und Lipasekonzentration ( $p = 0,033$ ). Unter den übrigen Laborparametern lagen keine statistisch signifikanten Unterschiede vor. Die Laborwerte sind vergleichend in Tabelle 10 aufgeführt.

Bei keinem der getesteten Studienabbrecher (0/4) war die Blutkultur positiv. Bei den Nichtabbrechern waren 20,0 % (10/50) positiv. Der Unterschied im Vorkommen eines positiven Blutkulturergebnisses zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern war statistisch nicht signifikant ( $p = 1,000$ ).

Der cPLI-Wert lag bei den Studienabbrechern durchschnittlich bei 39,4  $\mu\text{g/l}$  (Median: 30  $\mu\text{g/l}$ , Range: 30  $\mu\text{g/l}$  – 66  $\mu\text{g/l}$ ). Unter den Nichtabbrechern betrug er im Mittel 183,7  $\mu\text{g/l}$  (Median: 45  $\mu\text{g/l}$ , Range: 30  $\mu\text{g/l}$  – 1000  $\mu\text{g/l}$ ). Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen Studienabbrechern und den Nichtabbrechern vor ( $p = 0,562$ ). Keiner der getesteten Studienabbrecher (0/5) hatte ein cPLI > 400  $\mu\text{g/l}$ . Bei den Nichtabbrechern waren es 16,3 % (8/49). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 1,000$ ).

### 3.2.3.2 ERGEBNISSE DER KOTUNTERSUCHUNGEN

Bei den Studienabbrechern waren 28,6 % (2/7) der Tiere Coronavirus-positiv. Unter den Nichtabbrechern waren es 21,6 % (11/51). Der Unterschied zwischen den Studienabbrechern und den Nichtabbrechern war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,658$ ).

Bei 33,3 % (2/6) der Studienabbrecher wurden in der Kotkultur potentiell enteropathogene Keime nachgewiesen (jeweils hämolysierende *E. coli*). Bei den Nichtabbrechern waren es 30,6 % (15/49) (13 Mal hämolysierende *E. coli*, einmal *Klebsiella pneumoniae* und einmal hämolysierende *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae*). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 1,000$ ).

CPE wurde bei 40,0 % (2/5) der Studienabbrecher nachgewiesen. Unter den

Nichtabbrechern waren es 28,9 % (13/45). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p = 0,629$ ).

**Tabelle 10:** Laborwerte der Studienabbrecher und Nichtabbrecher (MCV = mittleres korpuskulares Volumen, PT = Prothrombinzeit, Sek. = Sekunden, aPTT = aktivierte partielle Thrombinzeit, ALT = Alanin-Amino-Transferase, AP = Alkalische Phosphatase, SGS = Serungallensäuren)

Laborparameter	Studienabbrecher			Nichtabbrecher			p-Werte
	Mittelwert	Median	Minimalwert   Maximalwert	Mittelwert	Median	Minimalwert   Maximalwert	
Erythrozyten ( $\times 10^{12}/l$ )	9,22	9,5	7,8   10,1	8,73	8,7	5,5   11,6	0,286
Hämoglobin (mmol/l)	13,30	13,1	11,7   14,7	12,71	12,7	8,9   16,5	0,315
Hämatokrit (l/l)	0,590	0,59	0,53   0,66	0,565	0,58	0,35   0,76	0,442
MCV (fl)	63,93	65,0	56,7   69,0	65,54	65,8	60,1   70,7	0,330
Gesamtleukozyten ( $\times 10^9/l$ )	13,70	14,1	8,6   19,3	12,33	12,6	4,9   23,4	0,428
Monozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,610	0,44	0,00   1,41	0,624	0,51	0,00   5,01	0,748
Lymphozyten ( $\times 10^9/l$ )	1,137	0,99	0,30   2,43	1,231	1,10	0,00   4,65	0,858
Stabkernige, neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,774	0,52	0,00   1,35	0,470	0,28	0,00   1,50	0,144
Segmentkernige, neutrophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	11,15	11,1	6,1   15,4	10,07	10,6	2,7   19,9	0,438
Eosinophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,033	0,00	0,00   0,14	0,080	0,00	0,00   1,10	0,694
Basophile Granulozyten ( $\times 10^9/l$ )	0,000	0,00	0,00   0,00	0,027	0,00	0,00   1,00	0,748
Thrombozyten ( $\times 10^9/l$ )	491,0	552	278   752	399,9	363	161   898	0,256
PT (Sek.)	22,18	20,8	12,0   36,5	18,17	18,3	10,4   26,4	0,214
aPTT (Sek.)	10,84	10,7	7,9   13,4	11,52	11,1	7,7   18,2	0,584
ALT (U/l)	69,86	43,0	19,0   141,0	102,89	62,0	17,0   1651,0	0,542
AP (U/l)	53,14	47,0	32,0   81,0	63,83	47,0	16,0   202,0	0,770
Bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )	2,453	2,41	1,02   5,42	2,672	2,37	0,39   11,43	0,752
SGS ( $\mu\text{mol/l}$ )	7,32	4,3	0,2   22,5	9,47	4,5	0,1   67,2	0,677
<b><math>\alpha</math>-Amylase (U/l)</b>	418,2	351	197,7   738	996,8	610	300   6741	<b>0,009</b>
<b>Lipase (U/l)</b>	227,5	162	111   437	1068,3	398	60   14469	<b>0,033</b>
Cholesterol (mmol/l)	4,387	4,44	3,47   5,39	5,355	5,22	1,93   9,57	0,128
Triglyceride (mmol/l)	0,535	0,41	0,10   1,00	0,527	0,48	0,20   2,00	0,685
Gesamteiweiß (g/l)	63,71	63,0	50,1   74,7	62,86	62,8	34,2   83,3	0,973
Albumin (g/l)	32,64	32,6	24,6   40,3	35,80	36,0	20,3   47,9	0,246
Harnstoff (mmol/l)	7,970	7,80	2,65   17,03	7,232	6,82	2,80   14,40	0,936
Kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	62,29	59,0	34,0   103,0	72,32	67,0	27,0   146,0	0,341
Glukose (mmol/l)	6,55	6,4	5,3   9,6	6,04	6,1	3,5   12,3	0,469
Natrium (mmol/l)	141,6	142	135   147	142,0	142	131   151	0,787
Kalium (mmol/l)	3,91	3,8	3,4   4,6	3,93	3,8	3,3   6,7	0,875
ionisiertes Kalzium (mmol/l)	1,19	1,2	10,6   1,3	1,22	1,2	1,0   1,4	0,387
Phosphat (mmol/l)	1,59	1,3	1,0   3,5	1,48	1,3	0,7   4,4	0,904
Chlorid (mmol/l)	109,8	109	107   116	110,5	111	96   119	0,408

### 3.3 VERGLEICH VON TEILGRUPPEN DER PLACEBO- UND VERUMGRUPPE

Im Vergleich der jeweiligen HGE-Indexe von Tag 1 bis Tag 7, sowie der Index Differenzen von Tag 1 zu Tag 3, Tag 1 zu Tag 7 und Tag 3 bis Tag 7 ergab sich ein signifikanter Unterschied bei folgenden Gruppenvergleichen: Unter allen Patienten, die initial zwischen  $1,0 \times 10^9/l$  und  $1,5 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten (11/57) hatten, war der HGE-Index der Hunde aus Verumgruppe (5/11) an Tag 3 signifikant niedriger und die Differenz der Indexe von Tag 1 und Tag 3 signifikant höher ( $p = 0,032$ ). Bei den Tieren aus Placebogruppe (6/11) war die Differenz der Indexe von Tag 3 und Tag 7 signifikant höher. Wenn nur die Tiere verglichen wurden, bei denen CPE nachgewiesen worden war (15/50), hatten Tiere aus Verumgruppe (8/15) an Tag 5 einen signifikant niedrigeren HGE-Index. Unter allen Patienten mit einer positiven Blutkultur (10/54), war die Differenz im HGE-Index von Tag 1 bis Tag 3 signifikant höher bei Tieren aus Verumgruppe (7/10).

Kein signifikanter Unterschied bestand im Verlauf folgender Teilgruppen: Unter allen Hunden, die initial mindestens  $16,0 \times 10^9/l$  Gesamtleukozyten hatten (9/60), ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren aus Placebo- und Verumgruppe. Auch im Vergleich der Hunde, die initial zwischen  $0,5 \times 10^9/l$  und  $1,5 \times 10^9/l$  stabkernige, neutrophile Granulozyten hatten (23/57), ergaben sich keine Unterschiede zwischen den beiden Therapiegruppen. Beim Vergleich von Placebogruppe und Verumgruppe der Hunde mit abnormaler Kotkultur (20/55) ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Die p-Werte aller Vergleiche sind in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11:** p-Werte der Vergleiche von Teilgruppen der Verum- und Placebogruppe (CPE = *Clostridium-perfringens* -Enterotoxin, Gr. 1 = Placebogruppe, Gr. 2 = Verumgruppe, stabk., neutr. Gran. = stabkernige, neutrophile Granulozyten)

verglichene Gruppen	p-Wert Tag 1	p-Wert Tag 2	p-Wert Tag 3	p-Wert Tag 4	p-Wert Tag 5	p-Wert Tag 6	p-Wert Tag 7	Index-Differenz Tag 1/Tag 3	Index-Differenz Tag 1/Tag 7	Index-Differenz Tag 3/Tag 7
Gesamtleukozyten > $16 \times 10^9/l$ (Gr. 1: n = 4/Gr. 2: n = 5)	0,190	0,556	0,200	1,000	0,400	0,057	0,400	0,886	0,114	0,629
stabk., neutr. Gran. > $0,5 \times 10^9/l$ (Gr. 1: n = 15/Gr. 2: n = 8)	0,466	0,920	0,128	0,837	0,650	0,299	0,482	0,056	0,299	0,261
stabk., neutr. Gran. > $1,0 \times 10^9/l$ (Gr. 1: n = 6/Gr. 2: n = 5)	0,329	0,841	<b>0,016</b>	0,686	0,486	0,200	0,200	<b>0,032</b>	0,343	<b>0,029</b>
Blutkultur positiv (Gr. 1: n = 3/Gr. 2: n = 7)	0,117	0,667	0,267	0,183	1,000	0,517	0,518	<b>0,033</b>	0,117	0,117
Kotkultur abnormal (Gr. 1: n = 14/Gr. 2: n = 6)	0,153	0,659	0,467	0,966	0,964	0,102	0,083	0,106	0,250	0,180
CPE positiv (Gr. 1: n = 7/Gr. 2: n = 8)	0,867	0,463	0,867	0,081	<b>0,030</b>	0,833	0,127	0,536	0,354	0,622

## V. DISKUSSION

In bisherigen Studien wurde der Einsatz von Antibiotika bei der Behandlung von Hunden mit HGE aus folgenden Gründen beschrieben und empfohlen: Zum einen wurde eine mögliche Beteiligung von Clostridien und anderen Bakterien bei der HGE diskutiert (LLOYD-EVANS, 1978; PRESCOTT et al., 1978; BADCOE, 1992). Zum anderen wurde befürchtet, dass die schützende Darmschranke nicht mehr intakt ist und es so zu einem erhöhten Risiko für eine Bakteriämie und Sepsis kommt (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Jedoch muss eine ungezielte antibiotische Behandlung kritisch bewertet werden, da Antibiotika unter anderem zu Resistenzbildung von Bakterien führen können (BIBBAL et al., 2009). Aus diesem Grund waren die Ziele der vorliegenden Studie im Rahmen einer strukturierten Aufarbeitung von Patienten mit HGE Daten zu sammeln, um unter anderem eine mögliche Beteiligung potentiell enteropathogener Keime bei der HGE zu klären, zu untersuchen, ob sich der Krankheitsverlauf bei Hunden mit HGE in Abhängigkeit von verschiedenen initialen Befunden unterscheidet und den Nutzen einer antibiotischen Behandlung bei der Behandlung von Hunden mit HGE zu beurteilen. In der Literatur gibt es bisher nur wenige und ältere Studien, zu Daten von HGE-Patienten und keine Studien zur Therapie. In der ersten und bisher auch größten Studie (125 Hunde) zur Datenerhebung bei Hunden mit HGE von Burrows (1977) und auch in einer folgenden kleineren Studie von Spielman (1993) wurde weniger standardisiert nach zugrundeliegenden Erkrankungen gesucht als in der vorliegenden Studie. Infolge dessen könnte es sein, dass in diesen Veröffentlichungen auch eine größere Anzahl von Hunden, die nicht an einer HGE im eigentlichen Sinne erkrankt sind, erfasst wurden (BURROWS, 1977, SPIELMAN & GARVEY, 1993).

Da der Auslöser der HGE nicht bekannt ist, ist zur Diagnose bisher ein Ausschluss aller Erkrankungen, die blutigen Durchfall auslösen können, nötig. Es ist noch unklar, ob für die HGE ein auslösendes Agens existiert. Es ist möglich, dass die Ursache mit der bisher durchgeführten Diagnostik noch nicht gefunden werden konnte. In dieser Studie wurden Hunde mit Nachweis von Coronaviren, CPE, sowie potentiell enteropathogenen Keimen wie *E. coli* und Klebsiellen nicht

ausgeschlossen, da diese Erreger und Toxine auch im Kot von gesunden Hunden vorkommen können und deren Bedeutung als Auslöser von blutigen Durchfällen nicht geklärt ist.

Eine Diagnose der HGE ausschließlich anhand des klinischen Bildes ist nicht möglich. Einerseits können die Symptome von Patienten mit bekannten Ursachen für blutigen Durchfall (wie Medikamentennebenwirkungen, gastrointestinalen Fremdkörpern etc.) jenen von HGE-Patienten sehr ähnlich sein, andererseits können HGE-Patienten in sehr unterschiedlichem, klinischen Zustand vorgestellt werden. Wie bei Burrows (1977) beschrieben, reichte die Bandbreite der Symptome der Hunde auch in der vorliegenden Studie von milden Symptomen mit gutem Allgemeinbefinden bis hin zu massivem hypovolämischen Schock (BURROWS, 1977).

Bei Burrows (1977) waren Tiere zwischen zwei und vier Jahren überrepräsentiert. Der Autor spekulierte, dass anaphylaktische Reaktionen als Auslöser der HGE in Frage kommen und dass v. a. Tiere in dieser Altersgruppe für eine solche Hypersensitivitätsreaktion empfänglich sind (BURROWS, 1977). Diese Altersprädisposition konnte weder bei der Studie von Spielman und Garvey in einer kleineren Patientengruppe (15 Hunde) (SPIELMAN & GARVEY, 1993) noch in der vorliegenden Studie nachvollzogen werden. Dies deutet darauf hin, dass Hunde aller Altersgruppen gleichermaßen mit einer HGE vorgestellt werden können. In der Literatur wurde keine Geschlechtsprädisposition beschrieben (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Warum in der vorliegenden Studie weiblich kastrierte Tiere überrepräsentiert waren, ist unklar.

Ein saisonal gehäuftes Vorkommen der HGE wurde in der Literatur zwar beschrieben, konnte aber bisher nicht statistisch bestätigt werden (BURROWS, 1977). In der vorliegenden Studie zeigte sich ein signifikant häufigeres Auftreten in den kälteren Monaten des Jahres (November bis April), sowie im Monat April. Eine mögliche Erklärung für das vermehrte Vorkommen in kälteren Jahreszeiten könnte Schneefressen der Hunde oder das Ablecken von Streusalz von den Pfoten sein. Da jedoch auch in einzelnen Sommermonaten (z. B. August) relativ viele Patienten mit HGE vorgestellt wurden, muss davon ausgegangen werden, dass Schneefressen oder das Ablecken von Streusalz die Entstehung einer HGE zwar begünstigen können, aber nicht die primären Auslöser dieser Erkrankung darstellen.

In der vorliegenden Studie waren Hunde mit einem Körpergewicht unter fünf Kilogramm und Hunde zwischen fünf und zehn Kilogramm in der Patientengruppe überrepräsentiert. Hunde über 30 kg hingegen waren im Vergleich zur Klinikpopulation seltener vertreten. Eine Rasseprädisposition wurde in dieser Studie für Malteser, Rehpinscher, Zwergschnauzer, Jack Russell Terrier und Zwergpudel gezeigt. Dies steht im Einklang mit den bisherigen Beobachtungen, dass sowohl Toy-Rassen als Gruppe, wie auch kleine Rassen, darunter Zwergschnauzer, Zwergpudel und Yorkshire Terrier, in bisherigen Studien (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993) überrepräsentiert waren. Als mögliche Ursache für die erhöhte Prävalenz unter kleinen Hunden wurde in der Literatur eine höhere Stressanfälligkeit dieser Tiere diskutiert. Es wird vermutet, dass eine bei kleinen Hunderassen vermehrte Ausschüttung von Katecholaminen zu einer reduzierten Darmperistaltik führt. Dies könnte somit die Entstehung einer bakteriellen Überwucherung mit sekundärer, vermehrter Toxinfreisetzung erleichtern (GUYTON, 1986). Es wäre auch denkbar, dass es sich um keine erhöhte Prävalenz von HGE unter kleinen und somit leichten Hunde handelt, sondern dass die Ursache im Flüssigkeitshaushalt kleiner Tiere liegt. So haben kleinrassige Hunde relativ zum Körpergewicht einen höheren Flüssigkeitsbedarf (HASKINS, 1984) und scheinen schneller zu dehydrieren. Dies könnte zu Symptomen führen, die für den Besitzer besorgniserregend sind und deshalb zu einer Vorstellung der Hunde in der Klinik führen. Zudem wäre es möglich, dass Besitzer von kleinen Hunderassen einen engeren Kontakt zu ihren Tieren haben und somit klinische Probleme genauer beobachten. Es wäre also möglich, dass diese Tiere beim Auftreten einer HGE häufiger vorgestellt werden als schwerere Hunde, die weniger schnell dehydrieren.

78,6 % (55/70) der Hunde wurden innerhalb von 24 Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome vorgestellt, 47,1 % (33/70) innerhalb von 12 Stunden nach Beginn der Erkrankung. Bei Burrows waren es jeweils 60,8 % (76/125) und 25,6 % (32/125) der Hunde. In der vorliegenden Studie wurden also mehr Tiere sehr schnell nach Beginn der Erkrankung vorgestellt, obwohl die maximale Dauer der Erkrankung, um für die Studienteilnahme zugelassen zu werden, in dieser Studie mit  $\leq 72$  Stunden länger sein durfte als in der Studie von Burrows mit  $< 48$  Stunden (BURROWS, 1977). Dies zeigt, dass die Symptome sehr akut auftreten

und, dass die Patienten aufgrund des Schweregrades der Symptome schnell beim Tierarzt vorgestellt werden. Möglicherweise kommt der Unterschied dadurch zustande, dass das Verhältnis von Besitzern zu ihren Haustieren in den letzten Jahrzehnten enger wurde und sie die Tiere nun schneller beim Tierarzt vorstellen. Ob jedoch Tiere, bei denen die Erkrankung nicht akut beginnt, weniger wahrscheinlich an einer HGE erkrankt sind, d. h. häufiger eine andere Ursache für den blutigen Durchfall gefunden wird, ist bisher nicht untersucht worden. Wie in bisherigen Studien beschrieben, wurde auch in dieser Studie Erbrechen als häufiges Symptom bei Hunden mit HGE beobachtet (HILL, 1972; BURROWS, 1977). Das Erbrechen kann durch starke Irritation der Magen-Darm-Schleimhaut erklärt werden. Abweichend zu den Angaben in der Literatur lag in dieser Studie der Anteil der Tiere, bei denen der Durchfall gleich zu Beginn der Erkrankung blutig war, mit 85,7 % (60/70) relativ hoch (im Vergleich zu 10,4 % bei Burrows) (BURROWS, 1977).

In verschiedenen Studien wurde die Fütterung anamnestisch genauer erfragt. Bisher ergaben diese Untersuchungen keine Hinweise auf einen möglichen Einfluss der Diät, einer Fremdmaterialaufnahme oder möglicher Futtermittelallergien der Tiere auf die Entstehung der HGE (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Die Tatsache, dass die Rezidivhäufigkeit mit 5,6 % relativ gering ist (BURROWS, 1977), spricht gegen eine mögliche Futtermittelallergie. In der vorliegenden Studie lag der Anteil der Hunde, die vorberichtlich Schnee, oder ein anderes Futter als sonst gefressen hatten, mit 25,4 % (17/67) höher als in den bisherigen Studien. Dies könnte zeigen, dass eine Aufnahme von Fremdmaterial, eine Futterumstellung oder Schneefressen zwar nicht primär eine HGE auslöst, aber einen prädisponierenden Faktor darstellt.

In der vorliegenden Studie hatten die Patienten im Vergleich zu den Hunden aus der gesunden Kontrollgruppe einen signifikant höheren Hämatokrit, eine signifikant höhere Erythrozytenzahl, sowie eine signifikant höhere Hämoglobinkonzentration. Dies ist durch den Flüssigkeitsverlust in den Darm, der mit der Erkrankung einhergeht, erklärbar (WILLARD, 2005). Ein erhöhter Hämatokrit war die am häufigsten in der Literatur beschriebene Laborveränderung, wenn dieser auch in den Studien von Burrows sowie Spielman und Garvey durch die Einschlusskriterien vorselektiert war (BURROWS, 1977;

SPIELMAN & GARVEY, 1993). Somit erscheint die HGE in der Regel von einem deutlichen Flüssigkeitsverlust gekennzeichnet zu sein. Gleichzeitig ist der Gesamteiweiß- und Albuminspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe unverändert. Als Erklärung für diesen Befund wurde ein gastrointestinaler Plasmaverlust, der durch den Einfluss von cAMP entsteht, vermutet (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Das Auftreten einer Leukozytose bei Hunden mit HGE ist in der Literatur beschrieben (BURROWS, 1977). In der vorliegenden Studie war sowohl die Anzahl der Gesamtleukozyten, als auch die der stabkernigen, neutrophilen Granulozyten in der Patientengruppe höher als in der Kontrollgruppe. Die Neutrophilie könnte durch den Stress der Erkrankung (akuter Verlauf, deutlicher Flüssigkeitsverlust) erklärt werden. Die erhöhte Anzahl an stabkernigen, neutrophilen Granulozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe spricht jedoch für eine systemische Entzündungsreaktion. Die übrigen Veränderungen im Differentialblutbild (Monozytose, Lymphozytopenie und Eosinopenie) entsprechen den typischen Veränderungen im Rahmen eines „Stressleukogramms“. In einigen Fällen wurde eine Hyperglykämie beobachtet, welche ebenfalls durch den Stress der Erkrankung bedingt sein kann. Die relativ zur Kontrollgruppe erhöhten Aktivitäten der Leberwerte ALT und AP können einerseits durch die schlechtere Durchblutung der Leber aufgrund des Flüssigkeitsverlustes erklärt werden. Andererseits könnte auch eine vermehrte Belastung der Leber mit Substanzen, die durch die geschädigte Darmwand übertreten, zu einer vorübergehenden Leberwerterhöhung führen. Bei einigen HGE-Patienten wurden erniedrigte Werte hinsichtlich des ionisierten Kalziums gemessen. Eine Hypokalzämie tritt gelegentlich bei einer akuten Pankreatitis auf. Allerdings bestand bei den Studienpatienten weder klinisch noch ultrasonographisch ein Hinweis auf eine klinisch relevante Pankreatitis. Am wahrscheinlichsten erscheint, dass sich durch die Hämokonzentration verschiedene Substanzen im Körper ansammeln, die zu einer Komplexbildung mit freien Kalziumionen führen. Erniedrigte Triglycerid- und Cholesterolspiegel könnten durch gastrointestinale Verluste entstanden sein. In der Literatur ist beschrieben, dass bei protein-losing-Enteropathien auch Triglyceride und Cholesterin über den Darm verloren werden können. Obwohl eine Dehydratation in der Regel zu einer Erhöhung von Harnstoff und Kreatinin führt, wurde in der Patientengruppe ein signifikant niedrigerer Kreatininspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen. Dies könnte möglicherweise durch geringere

Muskelmasse bei den HGE-Patienten erklärt werden, da es sich um signifikant leichtere Tiere handelt. Die isoliert längere PT im Vergleich zur Kontrollgruppe könnte mit dem Vorliegen einer DIG erklärt werden (WILLARD, 2005). Auch bei Burrows wurden teilweise labordiagnostisch Anzeichen einer DIG (niedrige Thrombozytenzahlen oder Werte am unteren Referenzbereich, verlängerte PT und aPTT, sowie Fibrinospaltprodukte) nachgewiesen (BURROWS, 1977). In der vorliegenden Studie bestanden jedoch sonst labordiagnostisch keine Anzeichen einer DIG. Das Vorliegen einer massiven DIG ist somit äußerst unwahrscheinlich. Die Thrombozytenzahlen lagen sogar in der Patientengruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe und könnten durch den Glukokortikoideinfluss bei Stress bedingt sein. Die Rolle einer DIG als Komplikation bei HGE wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Für eine spezifischere Abklärung müsste eine Messung von D-Dimeren und Antithrombin III bei Hunden mit HGE durchgeführt werden.

Die Blutuntersuchung ist v. a. im Hinblick auf folgende Fragestellungen wichtig: Da die Erkrankung häufig sehr akut verläuft, kann der tatsächliche Hydrationszustand des Tieres klinisch manchmal nur schwer eingeschätzt werden, weil noch kein Flüssigkeitsshift zwischen den Flüssigkeitskompartimenten im Körper stattgefunden hat (SCHAER, 1989). Somit ist der Hämatokrit ein wichtiger zusätzlicher Parameter, um den bestehenden Flüssigkeitsverlust beurteilen zu können. Einen hohen Hämatokrit als spezifisches Kriterium zur Diagnose einer HGE heranzuziehen, muss sehr kritisch betrachtet werden, da auch bei blutigen Durchfällen anderer Genese durch starken Flüssigkeitsverlust eine Hämokonzentration entstehen kann (STRAUCH, 2004). Eine Leukozytose mit Linksverschiebung kann auch bei unkomplizierten HGE-Fällen beobachtet werden. Ein Differentialblutbild ist sinnvoll zur Abgrenzung einer bei HGE typischen Leukozytenreaktion von Anzeichen einer möglichen Sepsis, die ebenfalls im Zusammenhang mit HGE auftreten kann. Da die HGE letztlich nur durch den Ausschluss aller anderen zu blutigem Durchfall führenden Erkrankungen diagnostiziert werden kann, ist u. a. eine Serumchemieuntersuchung notwendig, um metabolische Ursachen, wie ein Leber- und Nierenversagen, auszuschließen.

In dieser Studie wurde eine Pankreatitis durch klinische Untersuchung (Schmerzhaftigkeit im kranialen Abdomen) und Abdomensonographie

ausgeschlossen. Die Sensitivität der Sonographie zur Diagnose einer Pankreatitis wird mit 68 % angegeben, die Spezifität ist hoch (HESS et al., 1998; STEINER, 2003). In den bisher veröffentlichten Studien zur HGE ist nicht näher erläutert, wie und ob eine Pankreatitis ausgeschlossen wurde, da nicht bei allen Patienten eine Laboruntersuchung und ein Abdomenultraschall durchgeführt worden war (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). Da  $\alpha$ -Amylase und Lipase mit 62 % und 73 % sowohl eine niedrige Sensitivität wie auch mit 57 % und 55 % eine niedrige Spezifität beim Hund besitzen (MANSFIELD & JONES, 2000), wurden in der vorliegenden Studie diese Werte nicht zur Diagnose herangezogen. Der cPLI-Wert wird in der Literatur mit über 80 % Sensitivität als der sensitivste und mit mindestens 96 % Spezifität spezifischste Test zur Diagnose einer Pankreatitis angegeben (STEINER et al., 2001a; STEINER, 2003). Die Spezifität wurde bisher allerdings nur an ausgewählten Patientengruppen (z. B. Hunde mit exokriner Pankreasinsuffizienz, Gastritis oder chronischem Nierenversagen) und nicht an Hunden mit akuten, gastrointestinalen Erkrankungen evaluiert (STEINER et al., 2001b; STEINER et al., 2001c; STEINER, 2003). In dieser Studie lag der cPLI-Wert bei 22,4 % (13/58) der Tiere über 200  $\mu\text{g/l}$ . Ab diesem Grenzwert beginnt laut dem Referenzlabor (IDEXX Vet•Med•Labor GmbH) der fraglich Pankreatitis-verdächtige Bereich. 17,2 % (10/58) der Hunde hatten einen Wert über 400  $\mu\text{g/l}$ . Werte über 400  $\mu\text{g/l}$  sprechen laut dem Referenzlabor (IDEXX Vet•Med•Labor GmbH) für das Vorliegen einer Pankreatitis. Es erscheint unwahrscheinlich, dass bei den Studienpatienten eine akute Pankreatitis den Auslöser des blutigen Durchfalls darstellt. So ist eine akute, massive Pankreatitis, die sekundär zu blutigem Durchfall führt, in der Regel mit einer langsameren klinischen Verbesserung über mehrere Tage assoziiert. Die Patienten in dieser Studie zeigten hingegen eine sehr rasche klinische Verbesserung und es bestand kein signifikanter Unterschied im Krankheitsverlauf zwischen den Tieren mit einem cPLI-Wert über und unter 200  $\mu\text{g/l}$  bzw. 400  $\mu\text{g/l}$ . Eine deutliche Hypovolämie und damit verbundene Hypoxie scheint in der Pathogenese der akuten Pankreatitis eine Rolle zu spielen (ROBERT et al., 1988). Es ist jedoch nicht klar, ob die cPLI-Erhöhung bei einigen HGE-Patienten eine milde Form der Pankreatitis reflektiert oder ob es im Rahmen dieser akuten Durchfallerkrankung lediglich zu einer Enzymfreisetzung kommt, ohne dass eine Entzündung oder letale Schädigung der Zellen im Pankreas auftritt. Es wäre sicherlich interessant, in weiteren Studien den Verlauf des cPLIs bei Hunden mit HGE über mehrere

Tage zu verfolgen, sowie das Pankreas ultrasonographisch zu reevaluieren und ggf. zu biopsieren, um weitere Informationen über die Relevanz und eine mögliche ursächliche Beteiligung oder sekundäre Entstehung einer Pankreatitis bei der Erkrankung zu erhalten.

Es bestand kein signifikanter Unterschied im Nachweis von Keimen in der Blutkultur zwischen Patienten und den gesunden Hunden der Kontrollgruppe. Dies deutet darauf hin, dass eine bakterielle Translokation keine große Rolle bei der HGE spielt. In der Gruppe der Studienabbrecher, die für diese Fragestellung besonders interessant ist, wurde allerdings nur bei vier von sieben Hunden eine Blutkultur untersucht. Bei keinem dieser Studienabbrecher wurde jedoch ein Keim in der Blutkultur nachgewiesen. Weiterhin unklar ist, ob es sich bei den in der Blutkultur nachgewiesenen Keimen um Kontaminanten handelt, da bei keinem der Tiere der gleiche Keim in der Kotkultur gefunden wurde und es sich bei vielen isolierten Keimen (insbesondere den Staphylokokken), um typische Hautkeime handelt (NAGASE et al., 2002). Der einzige Hinweis, dass es sich um eine echte Bakteriämie handeln könnte, ist, dass die Tiere mit positiver Blutkultur aus der Verumgruppe einen signifikant höheren Abfall im HGE-Index von Tag 1 bis Tag 3 zeigten als diejenigen aus der Placebogruppe. Auch hier sind die Gruppen jedoch sehr klein und deshalb muss dieses Ergebnis sehr vorsichtig interpretiert werden.

In dieser Studie wurde CPE mittels ELISA signifikant häufiger bei HGE-Patienten als in der Kontrollgruppe nachgewiesen. Falls es sich dabei um das auslösende Toxin der HGE handeln sollte, wäre eine Prävalenz von 30,9 % in der Patientengruppe relativ gering. Da der ELISA als relativ sensitiv eingeschätzt wird (BERRY et al., 1988), ist es unwahrscheinlich, dass viele falsch negative Fälle vorlagen. Genaue Angaben über die Sensitivität des ELISAs bestehen jedoch nicht. Es wäre denkbar, dass CPE bei der HGE sekundär durch eine Clostridienüberwucherung im Darm gebildet wird. Auch in einer vorangegangenen Studie zur Bedeutung von CPE als Durchfallerreger, wurde diskutiert, dass CPE möglicherweise sekundär durch Veränderungen in der Darmflora entsteht (MARKS et al., 2002). In einer experimentellen Studie konnte zwar gezeigt werden, dass bei Hunden durch die Gabe von CPE Durchfall auslösbar war (BARTLETT et al., 1972), es gibt aber bisher keine Studien zur Bedeutung von CPE bei der HGE. In der vorliegenden Studie bestand kein

Hinweis, dass der Verlauf der HGE durch CPE beeinflusst wird. Im HGE-Index bestand kein Unterschied im Verlauf zwischen den Tieren mit und ohne Nachweis von CPE. In der Teilgruppe der Therapiestudienpatienten, bei denen CPE nachweisbar war, war lediglich an Tag 5 der Index der Hunde aus der Verumgruppe niedriger im Vergleich zu dem der Hunde aus der Placebogruppe. Dieser Unterschied erscheint jedoch hinsichtlich des gesamten Krankheitsverlaufes klinisch nicht relevant zu sein.

In der vorliegenden Studie bestand kein signifikanter Unterschied in der Nachweishäufigkeit potentiell enteropathogener Keime zwischen Patienten und der gesunden Kontrollgruppe. Bis auf zwei Hunde aus der Patientengruppe, bei denen Klebsiellen angezüchtet werden konnten, wurden ausschließlich *E. coli* nachgewiesen. In einer vorangegangenen Studie zum Nachweis potentiell enteropathogener Keime bei Hunden mit HGE wurden bei allen untersuchten HGE-Patienten und auch bei allen Kontrolltieren *E. coli* nachgewiesen (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Dies spiegelt wieder, dass *E. coli* zur normalen Flora im Hundedarm gehört und, dass eine Kultur von *E. coli* ohne Differenzierung von spezifischen Stämmen und deren Toxinen keinen diagnostischen Nutzen bringt. In der Humanmedizin wurden verschiedene Pathogenitätsfaktoren von bestimmten *E. coli* sp. indentifiziert. Einige Studien sind auch über die Bedeutung von *E. coli* als Durchfallerreger beim Hund zu finden. Jedoch ist noch nicht völlig klar, ob und welche *E.-coli*-Toxine und -Stämme bei Hunden zu gastrointestinalen Problemen führen. (HAMMERMUELLER et al., 1995; BEUTIN, 1999; HOLLAND et al., 1999; STAATS et al., 2003; BENTANCOR et al., 2007). Was die Bedeutung von Klebsiellen als potentielle Durchfallerreger angeht, so werden sie v. a. als nosokomiale Infektionserreger angesehen. Sie sind in der Humanmedizin neben *Cl. difficile* als Auslöser von Antibiotika-assoziierten hämorrhagischen Durchfällen bekannt (HOGENAUER et al., 2006). In der Tiermedizin existieren Fallberichte, die einen Nachweis von Klebsiellen bei Hunden mit Durchfall beschreiben (OLSON et al., 1985; ROBERTS et al., 2000). Allerdings gibt es keine kontrollierten Studien, die die Bedeutung von Klebsiellen als Durchfallerreger belegen. Die Angaben in der Literatur und die Tatsache, dass auch hier kein Unterschied in der Nachweishäufigkeit potentiell enteropathogener Keime bestand, deuten darauf hin, dass die nachgewiesenen Bakterien bei der

HGE ätiologisch keine Rolle spielen. Eventuell könnten durch andere Methoden, wie die fluorescence in situ hybridization (FISH), neue Erkenntnisse gewonnen werden. Durch diese Untersuchungsmethode könnte geklärt werden, ob, wie in der Literatur diskutiert, sehr stark an der Darmwand anhaftende oder Schleimhaut invadierende Bakterien, die schwer in einer Kotkultur nachweisbar sind, eine Rolle spielen (LLOYD-EVANS, 1978). Auch bei der Histiocyten Ulzerativen Kolitis des Boxers wurden erst mittels der FISH die krankheitsauslösenden Bakterien dokumentiert (MANSFIELD et al., 2009). Möglicherweise sind (v. a. bei den nachgewiesenen *E. coli*) auch neue molekularbiologische Untersuchungsmethoden notwendig, um eine genauere Differenzierung der Keime nach Virulenzfaktoren oder Toxinen durchführen zu können und so pathogene Stämme zu erkennen.

Tiere mit elektronenmikroskopisch nachgewiesener Coronavirenausscheidung wurden in der vorliegenden Studie nicht ausgeschlossen, da die Bedeutung von Coronaviren als Durchfallerreger in vorangegangenen Studien nicht gezeigt werden konnte (TENNANT et al., 1993; MÖSTL et al., 1994; SCHULZ et al., 2008). In der Studie von Schulz und Mitarbeitern lag die Prävalenz mit 82,0 % unter gesunden Hunden sogar höher als unter Hunden mit akutem blutigen Durchfall. Unter den symptomatischen Tieren waren 55,8 % Corona-positiv. Als mögliche Ursache wurde eine unterschiedliche Pathogenität verschiedener Stämme diskutiert (SCHULZ et al., 2008). Auch in der vorliegenden Studie ist der Anteil der Corona-positiven Hunde zwischen Patienten und Kontrollgruppe nicht unterschiedlich. Dies spricht ebenfalls gegen eine Rolle von Coronaviren als Auslöser der HGE.

Die Ätiologie der Erkrankung ist weiterhin unklar. Eine bakterielle Genese erscheint jedoch unwahrscheinlich, da weder ein Unterschied im Verlauf der Erkrankung zwischen beiden Therapiegruppen noch in der Nachweishäufigkeit potentiell enteropathogener Keime zwischen Hunden mit HGE und gesunden Kontrollhunden nachweisbar war. Bakterien können jedoch in Einzelfällen möglicherweise einen verkomplizierenden Faktor darstellen. Diese sind am ehesten durch eine sekundäre, bakterielle Translokation eines physiologischen Darmkeimes und weniger durch einen enteropathogenen Keim erklärbar. Ein erhöhtes Risiko der bakteriellen Translokation wird in der Literatur bei

beschädigtem, intestinalem Epithel angegeben, aber auch bei einem Schockgeschehen mit folglich Hypoperfusion des Splanchnikusgebietes (DEITCH, 1993), wozu es bei einer schweren HGE durchaus kommen kann.

Eine allergische Reaktion des Darmes auf einen nicht identifizierten Auslöser scheint aufgrund des Verlaufes möglich. Ob hier eine mögliche Futtermittelallergie oder Futterumstellung eine Rolle spielt, ist weiterhin unklar. In bisherigen Studien bestanden vorberichtlich keine oder wenige Hinweise auf diätetische Einflussfaktoren (BURROWS, 1977; SPIELMAN & GARVEY, 1993). In dieser Studie lag die Anzahl der Tiere, bei denen etwas Ungewohntes von den Hunden aufgenommen worden war bei 25,4 %. Es wäre jedoch denkbar, dass nicht immer durch den Besitzer beobachtet wurde, was der Hund aufgenommen hat, so dass die Zahl der Tiere, bei denen die Diät eine Rolle spielt, noch höher liegen könnte. Wahrscheinlicher als eine immunologisch vermittelte Futtermittelallergie ist eine Futtermittelunverträglichkeit, da die HGE nur selten wiederholt auftritt (BURROWS, 1977). Bei einer tatsächlichen Futtermittelallergie würde man erwarten, dass Patienten dem auslösenden Antigen mehrmals ausgesetzt würden und demzufolge die Rezidivrate hoch sein müsste.

Aufgrund der Unterschiede in der Schwere der Erkrankung, des Verlaufes und der unterschiedlichen Befunde, die mitunter erhoben werden (wie Auffälligkeiten in der Fütterungsanamnese, erhöhtem cPLI, Nachweis von Coronaviren, CPE oder potentiell enteropathogenem Keim im Kot), ist es denkbar, dass bei der HGE kein einheitliches auslösendes Agens zugrunde liegt, sondern, dass der Darm auf eine bestimmte, starke Schädigung immer gleich reagiert und es sich um ein Krankheitsbild handelt, dem verschiedene Ursachen zugrunde liegen können. Durch die Anwendung anderer und neuerer Untersuchungsmethoden wie Histologie inklusive FISH, Differenzierung verschiedener Bakterienstämme und -toxine mittels PCR und Immunhistochemie könnte in Zukunft möglicherweise geklärt werden, ob es sich tatsächlich um eine immunologisch vermittelte Erkrankung handelt, ob es ein auslösendes Agens gibt, ob es sich um ein Krankheitsbild unterschiedlicher Genese oder tatsächlich um eine „idiopathische“ Erkrankung handelt.

Was eine antibiotische Behandlung von Hunden mit HGE betrifft, so ist sie in der Literatur beschrieben (siehe oben), jedoch ist deren Nutzen nicht durch Studien belegt. Außerdem ist weder bewiesen worden, dass bestimmte enteropathogene Bakterien Auslöser der HGE darstellen, noch dass eine bakterielle Translokation aus dem Darm wirklich ein Risiko darstellt. Ein ungezielter Einsatz von Antibiotika kann erheblich zur Bildung von Resistenzen beitragen. So konnte gezeigt werden, dass bei Schweinen nach Behandlung mit Ampicillin über vier oder sieben Tage die Rate der ampicillinresistenten *E. coli* im Kot von 6 % auf über 90 % stieg. Nach sieben Tagen Ampicillintherapie wurden 53 % der *E.-coli*-Isolate als multiresistent eingestuft (BIBBAL et al., 2009). Die physiologische Darmflora stellt außerdem einen Schutzmechanismus gegen potentiell enteropathogene Keime dar, indem diese kompetitiv verdrängt werden. Zusätzlich wird von Bakterien der physiologischen Darmflora eine Vielzahl von Stoffen gebildet, die das Wachstum anderer Bakterien hemmen (FREDERICKSON & STEPHANOPOULOS, 1981; MACKOWIACK, 1982; SIMON & GORBACH, 1987). Eine antibiotische Therapie kann zu einer Störung der Bakterienhomöostase im Darm führen und somit diese Schutzmechanismen beeinträchtigen. Hinsichtlich des Antibiotikums Metronidazol wurde sogar vermutet, dass dessen Gabe eine bakterielle Translokation aus dem Darm begünstigen kann (WELLS et al., 1987). Darüber hinaus sind auch durch die Antibiotika selbst induzierte blutige Durchfälle sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin beschrieben (HUMPHREY et al., 1979; MROWKA et al., 1990; WILLARD et al., 1998). In dieser Studie wurde das Antibiotikum Amoxicillin/Clavulansäure aus folgenden Gründen als Studienmedikament ausgewählt: Es besitzt ein breites Wirkspektrum (auch gegen Clostridien), wird in vielen Tierarztpraxen häufig eingesetzt und hat in der Regel wenige Nebenwirkungen.

Zwischen beiden Therapiegruppen bestanden bei Studienbeginn hinsichtlich des Signalements, der Anamnese und der Ergebnisse von Blut- und Kotuntersuchungen keine klinisch relevanten Unterschiede. Der Unterschied in aPTT und Albuminspiegel erscheint klinisch nicht relevant, da die Mediane und Mittelwerte jeweils in beiden Therapiegruppen im Referenzbereich liegen. Der Unterschied in der Höhe des Mittelwertes der Lipasekonzentration ist

wahrscheinlich durch einzelne, hohe Werte in der Placebogruppe bedingt. Der Median liegt hier in beiden Gruppen im Referenzbereich. Der Unterschied zwischen beiden Therapiegruppen in der Anzahl der Hunde, bei denen ein potentiell enteropathogener Keim oder eine Dysbiose nachweisbar war, scheint ebenfalls nicht klinisch relevant zu sein, da sich der Verlauf von Tieren mit Nachweis eines potentiell enteropathogenen Keims oder einer Dysbiose mittels HGE-Index nicht signifikant von dem der Hunde ohne Nachweis eines potentiell enteropathogenen Keims oder Dysbiose unterschied. Somit ist eine Vergleichbarkeit des Therapieerfolges zwischen Placebo- und Verumgruppe gewährleistet.

Mittels HGE-Index konnte weder an einem der einzelnen Studientage noch in der Verlaufsanalyse über den gesamten Studienzeitraum ein Unterschied ermittelt werden. Auch die Differenzen der HGE-Indexe von Tag 1 bis Tag 7 und Tag 3 bis Tag 7 waren nicht signifikant unterschiedlich. In der Dauer des stationären Aufenthaltes und der Anzahl der Studienabbrecher pro Gruppe bestanden ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der signifikante Unterschied in der Differenz der HGE-Indexe von Tag 1 bis Tag 3 ist durch einen etwas höheren HGE-Index der Tiere der Verumgruppe an Tag 1, sowie einen etwas niedrigeren HGE-Index der Tiere an Tag 3 bedingt. Hinsichtlich des Gesamtverlaufes scheint dieser einzige signifikante Unterschied klinisch nicht relevant zu sein. Folglich konnte für alle Tiere (53/60), die die Studie beendet haben, gezeigt werden, dass eine Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure keinen Vorteil bringt.

Die Tatsache, dass kein klinisch relevanter Unterschied im Verlauf der Erkrankung zwischen beiden Therapiegruppen nachweisbar war, deutet darauf hin, dass der HGE keine primär bakterielle Genese zugrunde liegt. Prinzipiell wäre es auch denkbar, dass es sich um Keime handelt, die nicht durch Amoxicillin/Clavulansäure erfasst werden. Dieses Antibiotikum wirkt zwar gut gegen grampositive und gramnegative Keime sowie Anaerobier, aber einige Keime, wie Pseudomonaden und *Enterobacter*, werden nicht erfasst (GREENE et al., 2006b). Jedoch ist die klinische Verbesserung der Hunde in beiden Therapiegruppen so schnell, dass nicht zu erwarten ist, dass die Gabe eines anderen Antibiotikums eine klinisch relevante Beschleunigung der Verbesserung erzielen könnte. Andererseits könnte es sich auch trotz Beteiligung von Bakterien

oder deren Toxinen um eine selbstlimitierende Erkrankung handeln, welche keiner antibiotischen Behandlung bedarf.

Es wurde auch bei bestimmten Teilgruppen, bei denen eine bakterielle Beteiligung am Krankheitsgeschehen wahrscheinlich erschien (initial erhöhte Gesamtleukozytenzahl oder Anzahl stabkerniger, neutrophiler Granulozyten, Keimwachstum in der Blutkultur, abnorme Kotkultur und Nachweis von CPE im Kot), getestet, ob eine Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure den Krankheitsverlauf beeinflusst. Auch hier zeigten sich in keinem Vergleich statistisch signifikante Unterschiede, die klinisch relevant erscheinen. Dies zeigt, dass auch bei diesen Patienten, bei denen eine bakterielle Genese oder eine sekundäre bakterielle Translokation vermutet werden könnte, eine antibiotische Behandlung mit Amoxicillin/Clavulansäure keinen Vorteil bringt. Aufgrund der relativ kleinen Gruppengrößen, müssen diese Ergebnisse jedoch vorsichtig interpretiert werden.

Es konnten weder klinisch manifeste Nebenwirkungen der antibiotischen Behandlung beobachtet werden, noch wirkte sich die Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure, gemessen an HGE-Index, Dauer des stationären Aufenthaltes und Anzahl der Studienabbrecher, nachteilig auf den Verlauf der Erkrankung aus. Das Auftreten einer Resistenzbildung der Darmbakterien infolge der Amoxicillin/Clavulansäure-Therapie wurde in dieser Studie jedoch nicht untersucht.

Da in der Placebogruppe mehr Studienabbrecher waren als in der Verumgruppe, wurde auch hinterfragt, ob die Gruppengröße verantwortlich ist, dass kein signifikanter Unterschied bezüglich der Anzahl der Studienabbrecher nachweisbar war. Die statistische Power für den Unterschied der Anzahl der Studienabbrecher zwischen beiden Therapiegruppen lag bei 58 % für die vorliegenden Gruppengrößen. Obwohl statistisch kein Unterschied in der Anzahl der Studienabbrecher zwischen beiden Therapiegruppen festgestellt werden konnte und weil die Power der vorliegenden Gruppengrößen relativ niedrig war, wurden die Ursachen des Studienabbruchs näher untersucht. Von den sieben Studienabbrechern zeigten zwei Hunde (Fall 2, 4) klinisch und labordiagnostisch Anzeichen einer Sepsis oder in der pathologischen Untersuchung eine

nekrotisierende Enteritis, die zu einer Bakterientranslokation geführt haben könnte. Ein Hund (Fall 3) zeigte klinische und labordiagnostische Veränderungen (Fieber, Leukopenie), die mit einem septischen Geschehen vereinbar wären. Bei einem weiteren Tier (Fall 7) wurden zusätzlich zu einer Leukopenie Veränderungen im Thorax diagnostiziert, die als Neoplasien angesprochen wurden, so dass unklar ist, ob eine mögliche Immunsuppression die vermutete Bakterientranslokation aus dem Darm begünstigt haben könnte. Eine Parvovirose konnte jedoch in diesen beiden Fällen (Fall 3 und 7) nicht völlig ausgeschlossen werden, obwohl bei beiden Tieren ein Parvovirose-nachweis mittels Parvovirus-Antigentest und Elektronenmikroskopie durchgeführt worden war. Als sensitivster Test zur Erfassung einer Parvovirose gilt die PCR. Die Sensitivität des Antigennachweises mittels Schnelltest wird beim Hund im Gegensatz dazu in einer Studie mit 50,0 % im Vergleich zur Elektronenmikroskopie und mit nur 18,4 % im Vergleich zur PCR beschrieben (SCHMITZ et al., 2009). Alle vier Tiere mit Sepsisanzeichen stammten aus der Placebogruppe. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass in Einzelfällen, so wie von Spielman und Garvey vermutet, eine Translokation von Bakterien aus dem Darm möglich ist (SPIELMAN & GARVEY, 1993). Die Gabe von Antibiotika als Prophylaxe gegen bakterielle Translokation erscheint im Allgemeinen nicht notwendig, da es sich um eine seltene Komplikation handelt. Zusätzlich ist noch nicht dokumentiert worden, dass eine prophylaktische Antibiotikagabe Komplikationen aufgrund einer Translokation verhindert. Im Gegensatz dazu konnte in einer Studie sogar gezeigt werden, dass die Gabe von Metronidazol eine Bakterientranslokation begünstigt (WELLS et al., 1987). Deshalb sollten HGE-Patienten ohne Anzeichen einer Sepsis primär nicht antibiotisch behandelt werden. Jedoch sollten diese Tiere, v. a. an den ersten Tagen der Erkrankung, engmaschig kontrolliert werden, damit bei Anzeichen einer Sepsis frühzeitig und gezielt antibiotisch behandelt werden kann. Bei einem Hund (Fall 4) trat die klinische Verschlechterung so schnell ein, dass er innerhalb von acht Stunden nach Einlieferung in die Klinik verstarb. Da bei diesem Tier in der pathologischen Untersuchung eine nekrotisierende Enteritis mit *Cl. perfringens* diagnostiziert wurde, ist es wahrscheinlich, dass der Hund an einem septischen Geschehen verstarb. Es wäre denkbar, dass eine frühzeitige, antibiotische Therapie den Tod des Tieres verhindert hätte. Bei dem verstorbenen Hund aus der Verumgruppe war die pathologische Untersuchung nicht diagnostisch und es ist ungeklärt, woran er

verstarb.

Die Ursache für den Unterschied in der Höhe der Lipase- und  $\alpha$ -Amylasekonzentration zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern ist unklar. Ob die Höhe der Lipase- und  $\alpha$ -Amylasekonzentration prognostisch von Bedeutung ist, bleibt fraglich, da nicht erklärbar ist, warum niedrigere Werte mit einer erhöhten Komplikationsgefahr einhergehen sollten. Bezüglich Signalement, Anamnese und der übrigen Labordaten bestanden keine Unterschiede zwischen Studienabbrechern und Nichtabbrechern. Auch mit umfangreicher Diagnostik ist im Voraus nicht abzusehen, ob ein Patient mit HGE, der die Einschlusskriterien für die Therapiestudie erfüllt, ein erhöhtes Risiko hat, septisch zu werden.

Eine Limitation der Studie ist die kleine Gruppengröße im Bezug auf die Anzahl der Studienabbrecher pro Therapiegruppe. Die statistische Power liegt hier bei 58 %. Um eine ausreichende statistische Power (80 % und  $\alpha = 5$  %) bei der Untersuchung des Unterschiedes in der Anzahl der Studienabbrecher zwischen beiden Therapiegruppen zu erreichen, wären 49 Hunde pro Gruppe nötig. Auch für die Auswertung von Teilgruppen wie die CPE- oder Blutkultur-positiven Hunde sind die Gruppengrößen relativ klein und dadurch war eventuell kein Unterschied nachweisbar.

Problematisch ist außerdem, dass der Erkrankung eine potentiell unterschiedliche Genese zugrunde liegt und dass es sich bei der HGE um eine Ausschlussdiagnose handelt. Es wäre möglich, dass auch Fälle in die Studie mit einbezogen wurden, bei denen eine bekannte Grundursache nicht erkannt wurde.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Als „Hämorrhagische Gastroenteritis“ (HGE) wird ein Syndrom beim Hund bezeichnet, das durch akuten, blutigen Durchfall mit starkem Flüssigkeitsverlust charakterisiert ist. Die Ätiologie der Erkrankung ist nicht bekannt. Neben einer Flüssigkeitstherapie wird in der Literatur eine Antibiotikagabe empfohlen. Der Vorteil einer antibiotischen Behandlung wurde jedoch bisher nicht in kontrollierten Studien geprüft.

Die Ziele dieser prospektiven Studie waren 1. Daten von Hunden mit HGE zu sammeln und mit Referenzgruppen zu vergleichen, 2. den Krankheitsverlauf in Abhängigkeit von bestimmten anamnestischen und labordiagnostischen Parametern zu verfolgen und 3. im Rahmen einer prospektiven, geblindeten Therapiestudie über sieben Tage den Einfluss einer Antibiotikagabe bei Hunden mit HGE zu evaluieren. Für den ersten Teil wurden 70 Hunde mit akutem ( $\leq$  drei Tage), hämorrhagischen Durchfall in die Studie aufgenommen. Ausschlusskriterien waren eine Vorbehandlung mit Antibiotika, sowie der Nachweis einer bekannten Ursache für blutigen Durchfall (z. B. Medikamentenreaktionen, Gerinnungsstörungen, Endoparasiten, Parvovirose, gastrointestinale Fremdkörper, Pankreatitis). Die Daten des Signalements wurden mit den Daten der Hunde der Klinikpopulation verglichen, die labordiagnostischen Befunde wurden mit denen von gesunden Kontrollhunden verglichen ( $n = 21$ ). Hunde mit einem Körpergewicht unter 10 kg sowie weiblich kastrierte Hunde waren unter den HGE-Patienten überrepräsentiert. Hunde ab 30 kg waren in der Patientengruppe signifikant seltener vertreten. Von November bis einschließlich April, sowie im April wurden signifikant mehr Hunde mit HGE vorgestellt. Malteser, Rehpinscher, Zwergpudel, Zwergschnauzer sowie Jack Russell Terrier waren signifikant überrepräsentiert. Im Kot von Hunden mit HGE wurde signifikant häufiger CPE als bei gesunden Kontrollhunden nachgewiesen. Die erhöhte Nachweishäufigkeit von CPE bei Hunden mit HGE kann vermutlich durch eine sekundäre Überwucherung, Sporenbildung und Toxinfreisetzung erklärt werden. Unter den klinisch bedeutsamsten Unterschieden in der Blutuntersuchung waren ein höherer Hämatokrit der Patienten, sowie eine höhere Anzahl der Gesamtleukozyten sowie der stabkernigen, neutrophilen Granulozyten.

Für Teil 2 wurden darüber hinaus Hunde ausgeschlossen, die Anzeichen einer Sepsis oder starken Entzündungsreaktion (Temperatur  $> 39,5$  °C, Leukozytenzahl  $< 4,0$  oder  $> 25,0 \times 10^9/l$ , Anzahl stabkerniger, neutrophiler Granulozyten  $> 1,5 \times 10^9/l$ ) in der Eingangsuntersuchung zeigten oder deren Besitzer nicht zur Studienteilnahme einwilligten, so dass 60 Hunde an der Studie teilnahmen. Der Krankheitsverlauf wurde täglich anhand eines Krankheitsaktivitätsindex (HGE-Index), der die Parameter Allgemeinbefinden, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz und Dehydratation berücksichtigte, evaluiert. Es wurden keine klinisch relevanten Unterschiede im Verlauf abhängig von anamnestischen und labordiagnostischen Parametern festgestellt.

Für Teil 3 wurden die 60 Studienpatienten aus Teil 2 randomisiert und zu gleichen Teilen (je 30 Tiere) in eine Verumgruppe (Amoxicillin/Clavulansäure über sieben Tage) und eine Placebogruppe aufgeteilt. Neben dem HGE-Index wurden in der Therapiestudie die Dauer des stationären Aufenthaltes und die Anzahl der Studienabbrecher pro Gruppe ermittelt. Als Studienabbrecher galten Hunde, die im Verlauf der Studie verstarben, sich klinisch deutlich verschlechterten oder klinisch oder labordiagnostisch Anzeichen einer Sepsis zeigten und deshalb entblindet wurden. Dreiundfünfzig von 60 Hunden beendeten die Therapiestudie. Lediglich in der Differenz der HGE-Indexe von Tag 1 und Tag 3 konnte ein signifikanter Unterschied erhoben werden. Die Tiere der Verumgruppe zeigten hier eine signifikant deutlicheren Abfall im HGE-Index. In allen anderen Vergleichen wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe im Krankheitsverlauf, gemessen mittels HGE-Index, festgestellt. Ebenso war die Dauer des stationären Aufenthaltes und die Anzahl der Studienabbrecher nicht signifikant unterschiedlich. Es konnte gezeigt werden, dass eine antibiotische Behandlung mit Amoxicillin/Clavulansäure bei Patienten mit idiopathischer HGE ohne Anzeichen einer Sepsis keinen Vorteil bringt.

## VII. SUMMARY

“Haemorrhagic gastroenteritis“ (HGE) is a syndrome in dogs which is characterized by acute bloody diarrhoea with massive fluid loss. The etiology of this disease is unknown. The cornerstone of treatment is fluid therapy. Although the administration of antibiotics is routinely recommended, the efficacy of antibiotic therapy in the treatment of HGE has not been demonstrated in controlled studies.

Aims of this study were therefore to (1) collect data of dogs with HGE and compare them to control groups, (2) find out whether the course of disease is dependent on history or diagnostic findings, and (3) examine whether treatment with amoxicillin/clavulanic acid improves disease outcome.

In part (1) 70 dogs with acute haemorrhagic diarrhoea were examined. Dogs with underlying causes, including parvovirus, drug reactions, bleeding disorders, endoparasites, pancreatitis and gastrointestinal foreign bodies were excluded. Signalment was compared to that of the clinical population, and laboratory findings were compared to those of a healthy control group (n = 21). Dogs with a body weight below 10 kg were significantly overrepresented. Dogs with a body weight of more than 30 kg were significantly underrepresented. Female spayed dogs were significantly overrepresented. There were significantly more dogs presented to the Clinic of Small Animal Medicine with HGE in the months of November through April and in April when compared to other months of the year. Maltese dogs, Toy Pinschers, Toy Poodles, Miniature Schnauzers and Jack Russell Terriers were overrepresented. CPE was found significantly more often in dogs with HGE than in healthy dogs. The high number of dogs positive for CPE among dogs with HGE is most likely due to secondary overgrowth of *Clostridia* and release of CPE. The most important lab abnormalities were an elevated haematocrit, an elevated leukocyte count and an elevated number of band neutrophils.

In part (2) 60 dogs were included. Inclusion and exclusion criteria were identical to part one, but in addition, dogs with signs of sepsis (e.g. temperature > 39.5°C, left shift > 1.5 x 10<sup>9</sup>/l band neutrophils) were excluded from the study and participation required owner acquiescence. Course of disease was evaluated based

on clinical parameters using a specifically developed HGE index that scored general condition, appetite, vomiting, frequency of defecation, consistency of the feces, and dehydration. No clinically relevant differences in the course of disease of different groups were observed based on history and laboratory findings.

In part (3) of this study, same dogs as in part (2) were included. Part (3) was a placebo-controlled blinded study. The course of disease was compared in dogs that were randomized and equally assigned to either a placebo group or the verum group (treated with amoxicillin/clavulanic acid for seven days). In addition to the HGE-Index, the duration of hospitalization and the number of treatment failures was noted in each group. Dogs that died during the study as well as dogs that worsened or showed clinical and laboratory signs of sepsis were considered treatment failures and in these dogs, therefore, the code was broken. Fifty-three of 60 dogs finished the therapy study. The decrease in HGE index from day 1 to day 3 differed significantly in dogs of the verum group as compared to the placebo group. No other statistically significant difference between therapy groups regarding the HGE-Index was found. Neither the duration of hospitalization nor the number of treatment failures differed significantly between therapy groups. This study indicates that in dogs with HGE that do not have complications such as signs of sepsis, antibiotic treatment with amoxicillin/clavulanic acid has no advantage on the disease course.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abaas S, Franklin A, Kuhn I, Orskov F, Orskov I. Cytotoxin activity on Vero cells among *Escherichia coli* strains associated with diarrhea in cats. Am J Vet Res 1989; 50: 1294-6.

Amtsberg vG, Stock V, Treschnak E, Ringel U. Untersuchungen zur Zusammensetzung der Darmflora des Hundes unter dem Einfluß verschiedener Futterrationen und zur Dekontamination des Darmkanals mit verschiedenen antibakteriell wirksamen Substanzen. J Anim Physiol Anim Nutr 1989; 19: 120-30.

Badcoe L. Haemorrhagic enteritis in a dog associated with *Clostridium* sp. N Z Vet J 1992; 40: 34.

Bagcigil AF, Ikiz S, Dokuzeylu B, Basaran B, Or E, Ozgur NY. Fecal shedding of *Salmonella* spp. in dogs. J Vet Med Sci 2007; 69: 775-7.

Baker E. Food allergy. Vet Clin North Am 1974; 4: 79-89.

Balish E, Cleven D, Brown J, Yale CE. Nose, throat, and fecal flora of beagle dogs housed in "locked" or "open" environments. Appl Environ Microbiol 1977; 34: 207-21.

Baljer vG, Saito M, Mayr M. Nachweis von Enterotoxinbildenden *E. coli*-Stämmen (ETEC) bei Hunden mit akuter Gastroenteritis. Prakt Tierarzt 1986; 6: 472-8.

Barbut F, Lalande V, Burghoffer B, Thien HV, Grimprel E, Petit JC. Prevalence and genetic characterization of toxin A variant strains of *Clostridium difficile* among adults and children with diarrhea in France. J Clin Microbiol 2002; 40: 2079-83.

Bartlett ML, Walker HW, Ziprin R. Use of dogs as an assay for *Clostridium perfringens* enterotoxin. Appl Microbiol 1972; 23: 196-7.

Beaudry M, Zhu C, Fairbrother JM, Harel J. Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates from dogs manifesting attaching and effacing lesions. J Clin Microbiol 1996; 34: 144-8.

Bender JB, Shulman SA, Averbeck GA, Pantlin GC, Stromberg BE. Epidemiologic features of *Campylobacter* infection among cats in the upper midwestern United States. J Am Vet Med Assoc 2005; 226: 544-7.

Benno Y, Nakao H, Uchida K, Mitsuoka T. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. J Vet Med Sci 1992; 54: 703-6.

Bentancor A, Rumi MV, Gentilini MV, Sardoy C, Irino K, Agostini A, Cataldi A. Shiga toxin-producing and attaching and effacing *Escherichia coli* in cats and dogs in a high hemolytic uremic syndrome incidence region in Argentina. FEMS Microbiol Lett 2007; 267: 251-6.

Berg JN, Fales WH, Scanlan CM. Occurrence of anaerobic bacteria in diseases of the dog and cat. Am J Vet Res 1979; 40: 876-81.

Berry PR, Rodhouse JC, Hughes S, Bartholomew BA, Gilbert RJ. Evaluation of ELISA, RPLA, and Vero cell assays for detecting *Clostridium perfringens* enterotoxin in faecal specimens. J Clin Pathol 1988; 41: 458-61.

Beutin L. *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. Vet Res 1999; 30: 285-98.

Bibbal D, Dupouy V, Prere MF, Toutain PL, Bousquet-Melou A. Relatedness of *Escherichia coli* strains with different susceptibility phenotypes isolated from swine feces during ampicillin treatment. Appl Environ Microbiol 2009; 75: 2999-3006.

Bliska JB, Galan JE, Falkow S. Signal transduction in the mammalian cell during bacterial attachment and entry. *Cell* 1993; 73: 903-20.

Broes A, Drolet R, Jacques M, Fairbrother JM, Johnson WM. Natural infection with an attaching and effacing *Escherichia coli* in a diarrheic puppy. *Can J Vet Res* 1988; 52: 280-2.

Bruce D, Zochowski W, Fleming GA. *Campylobacter* infections in cats and dogs. *Vet Rec* 1980; 107: 200-1.

Buddington RK. Postnatal changes in bacterial populations in the gastrointestinal tract of dogs. *Am J Vet Res* 2003; 64: 646-51.

Burnens AP, Angeloz-Wick B, Nicolet J. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Zentralbl Veterinarmed B* 1992; 39: 175-80.

Burrows C. Canine Hemorrhagic Gastroenteritis. *J Am Anim Hosp Assoc* 1977; 13: 451-8.

Cantor GH, Nelson S, Jr., Vanek JA, Evermann JF, Eriks IS, Basaraba RJ, Besser TE. *Salmonella* shedding in racing sled dogs. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 447-8.

Cave NJ, Marks SL, Kass PH, Melli AC, Brophy MA. Evaluation of a routine diagnostic fecal panel for dogs with diarrhea. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 52-9.

Chantrey J, Chapman PS, Patterson-Kan JC. Haemolytic-uraemic syndrome in a dog. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49: 470-2.

Chengappa MM, Staats J, Oberst RD, Gabbert NH, McVey S. Prevalence of *Salmonella* in raw meat used in diets of racing greyhounds. *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 372-7.

Chien S, Dellenback RJ, Usami S, Burton DA, Gustavson PF, Magazinovic V. Blood volume, hemodynamic, and metabolic changes in hemorrhagic shock in normal and splenectomized dogs. *Am J Physiol* 1973; 225: 866-79.

Cotton R, Theran P. Hemorrhagic gastroenteritis. In: *Current Veterinary Therapy* Kirk R, ed. Philadelphia: Saunders Elsevier 1974: 746-49.

Davis CP, Cleven D, Balish E, Yale CE. Bacterial association in the gastrointestinal tract of beagle dogs. *Appl Environ Microbiol* 1977; 34: 194-206.

Deitch EA. Nutrition and the gut mucosal barrier. *Curr Opin Gen Surg* 1993: 85-91.

Dell'Orco M, Bertazzolo W, Pagliaro L, Roccabianca P, Comazzi S. Hemolytic-uremic syndrome in a dog. *Vet Clin Pathol* 2005; 34: 264-9.

Donnenberg MS, Yu J, Kaper JB. A second chromosomal gene necessary for intimate attachment of enteropathogenic *Escherichia coli* to epithelial cells. *J Bacteriol* 1993; 175: 4670-80.

Drolet R, Fairbrother JM, Harel J, Helie P. Attaching and effacing and enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with enteric colibacillosis in the dog. *Can J Vet Res* 1994; 58: 87-92.

Everest PH, Goossens H, Butzler JP, Lloyd D, Knutton S, Ketley JM, Williams PH. Differentiated Caco-2 cells as a model for enteric invasion by *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *J Med Microbiol* 1992; 37: 319-25.

Everest PH, Cole AT, Hawkey CJ, Knutton S, Goossens H, Butzler JP, Ketley JM, Williams PH. Roles of leukotriene B<sub>4</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>, and cyclic AMP in *Campylobacter jejuni*-induced intestinal fluid secretion. *Infect Immun* 1993; 61: 4885-7.

Finlay BB, Falkow S. *Salmonella* interactions with polarized human intestinal Caco-2 epithelial cells. J Infect Dis 1990; 162: 1096-106.

Foubister V, Rosenshine I, Donnenberg MS, Finlay BB. The eaeB gene of enteropathogenic *Escherichia coli* is necessary for signal transduction in epithelial cells. Infect Immun 1994; 62: 3038-40.

Frederickson AG, Stephanopoulos G. Microbial competition. Science 1981; 213: 972-9.

Gilbert R. Mechanisms of the hemodynamic effects of endotoxin. Physiol Rev 1960; 40: 245-79.

Ginocchio C, Pace J, Galan JE. Identification and molecular characterization of a *Salmonella typhimurium* gene involved in triggering the internalization of salmonellae into cultured epithelial cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1992; 89: 5976-80.

Greene CE, Hartmann K, Calpin J. Antimicrobial Drug Formulary. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, Greene CE ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006; Appendix 8: 1199.

Griner L, Bracken F. *Clostridium perfringens* (type C) in acute hemorrhagic enteritis of calves. J Am Vet Med Assoc 1953; 122: 99-102.

Griner LA, Johnson HW. *Clostridium perfringens* type C in hemorrhagic enterotoxemia of lambs. J Am Vet Med Assoc 1954; 125: 125-7.

Guerrant RL, Wanke CA, Pennie RA, Barrett LJ, Lima AA, O'Brien AD. Production of a unique cytotoxin by *Campylobacter jejuni*. Infect Immun 1987; 55: 2526-30.

Guyton AC. Textbook of Medical Physiology, 7 ed. WB Saunders, Philadelphia

1986.

Gyles CL. *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Can J Microbiol* 1992; 38: 734-46.

Gyles C. VT toxemia in animal models. In: *Recent Advances in Verocytotoxin-Producing Escherichia coli Infections*. Karmali MA, Goglio AG, eds. Amsterdam: Elsevier Science B.V. 1994: 233-40.

Hall EJ, German AJ. Diseases of The Small Intestine. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat*. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. St. Louis: Saunders Elsevier 2005; 222: 1337.

Hammermueller J, Kruth S, Prescott J, Gyles C. Detection of toxin genes in *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. *Can J Vet Res* 1995; 59: 265-70.

Haskins SC. Fluid and Electrolyte Therapy. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1984; 6: 244.

Hess RS, Saunders HM, Van Winkle TJ, Shofer FS, Washabau RJ. Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in dogs with fatal acute pancreatitis: 70 cases (1986-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 665-70.

Hickey TE, Baqar S, Bourgeois AL, Ewing CP, Guerry P. *Campylobacter jejuni*-stimulated secretion of interleukin-8 by INT407 cells. *Infect Immun* 1999; 67: 88-93.

Hill F. Acute intestinal haemorrhage syndrome in dogs. *Vet Annual* 1972: 98-101.

Ho M, Yang D, Wyle FA, Mulligan ME. Increased incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea following decreased restriction of antibiotic use. *Clin Infect Dis* 1996; 23 Suppl 1: 102-6.

Hogenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe IT, Schicho R, Gorkiewicz G, Krause R, Gerstgrasser N, Krejs GJ, Hinterleitner TA. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. N Engl J Med 2006; 355: 2418-26.

Hogh P. Necrotizing infectious enteritis in piglets, caused by *Cl. perfringens* Type C. Acta veterinaria scandinavica 1969; 10: 57-83.

Holland RE, Walker RD, Sriranganathan N, Wilson RA, Ruhl DC. Characterization of *Escherichia coli* isolated from healthy dogs. Vet Microbiol 1999; 70: 261-8.

Holloway S, Senior D, Roth L, Tisher CC. Hemolytic uremic syndrome in dogs. J Vet Intern Med 1993; 7: 220-7.

Humphrey CD, Lushbaugh WB, Condon CW, Pittman JC, Pittman FE. Light and electron microscopic studies of antibiotic associated colitis in the hamster. Gut 1979; 20: 6-15.

Janke BH, Francis DH, Collins JE, Libal MC, Zeman DH, Johnson DD. Attaching and effacing *Escherichia coli* infections in calves, pigs, lambs, and dogs. J Vet Diagn Invest 1989; 1: 6-11.

Josse M, Jacquemin E, Kaeckenbeeck A. Présence chez le chien, d'*Escherichia coli* productrices d'une enterotoxine thermostabile (Sta). Ann Méd Vét 1980; 124: 211-14.

Kandel G, Donohue-Rolfe A, Donowitz M, Keusch GT. Pathogenesis of Shigella diarrhea. XVI. Selective targeting of Shiga toxin to villus cells of rabbit jejunum explains the effect of the toxin on intestinal electrolyte transport. J Clin Invest 1989; 84: 1509-17.

Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin

Microbiol Rev 1989; 2: 15-38.

Katahira J, Inoue N, Horiguchi Y, Matsuda M, Sugimoto N. Molecular cloning and functional characterization of the receptor for *Clostridium perfringens* enterotoxin. J Cell Biol 1997; 136: 1239-47.

Keenan KP, Binn IN, Takeuchi A. Acute nonbacterial gastroenteritis. Animal model: acute enteritis in dogs infected with coronavirus. Am J Pathol 1979; 94: 439-42.

Kocabiyik AL, Cetin C, Dedicova D. Detection of *Salmonella* spp. in stray dogs in Bursa Province, Turkey: first isolation of *Salmonella* *Corvallis* from dogs. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2006; 53: 194-6.

Konkel ME, Joens LA. Adhesion to and invasion of HEp-2 cells by *Campylobacter* spp. Infect Immun 1989; 57: 2984-90.

Konkel ME, Corwin MD, Joens LA, Cieplak W. Factors that influence the interaction of *Campylobacter jejuni* with cultured mammalian cells. J Med Microbiol 1992; 37: 30-7.

Konowalchuk J, Speirs JJ, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect Immun 1977; 18: 775-9.

Kraft W. [Case study. Newfoundland hound, male, aged 15 months]. Tierarztl Prax 1996; 24: 212, 301-3.

Kruth SA, Prescott JF, Welch MK, Brodsky MH. Nosocomial diarrhea associated with enterotoxigenic *Clostridium perfringens* infection in dogs. J Am Vet Med Assoc 1989; 195: 331-4.

Kruth SA. Endotoxemia. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, Greene CE ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006; 38: 330-9.

Leveen HH, Falk G, Schatman B. Experimental ulcerative colitis produced by anticolon sera. *Ann Surg* 1961; 154: 275-80.

Levine MM, Prado V, Robins-Browne R, Lior H, Kaper JB, Moseley SL, Gicquelais K, Nataro JP, Vial P, Tall B. Use of DNA probes and HEp-2 cell adherence assay to detect diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1988; 158: 224-8.

Lillehei R, MacLean L. The intestinal factor in irreversible endotoxin shock. *Ann Surg* 1958; 148: 513.

Lloyd-Evans LP. Haemorrhagic gastroenteritis in the dog. *Vet Rec* 1978; 103: 247-8.

Lyerly DM, Lockwood DE, Richardson SH, Wilkins TD. Biological activities of toxins A and B of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1982; 35: 1147-50.

Lyerly DM, Saum K, MacDonald D, Wilkins TD. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. *Infect Immun* 1985; 47: 349-52.

Mackowiack PA. The normal microbial flora. *N Engl J Med* 1982; 307: 83-93.

MacLean I, Weil M. Hypotension (shock) in dogs produced by *Escherichia coli* endotoxin. *Circulation Res* 1956; 4: 546-56.

Mansfield CS, Jones BR. Trypsinogen activation peptide in the diagnosis of canine pancreatitis [abstract]. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 346.

Mansfield CS, James FE, Craven M, Davies DR, O'Hara AJ, Nicholls PK, Dogan B, MacDonough SP, Simpson KW. Remission of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs correlates with eradication of invasive intramucosal *Escherichia coli*. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 964-9.

Marks SL, Kather EJ, Kass PH, Melli AC. Genotypic and phenotypic characterization of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in diarrheic and healthy dogs. J Vet Intern Med 2002; 16: 533-40.

McClane BA. *Clostridium perfringens* enterotoxin and intestinal tight junctions. Trends Microbiol 2000; 8: 145-6.

McDonel JL, Duncan CL. Regional localization of activity of *Clostridium perfringens* type A enterotoxin in the rabbit ileum, jejunum, and duodenum. J Infect Dis 1977; 136: 661-6.

McDonel JL, Demers GW. In vivo effects of enterotoxin from *Clostridium perfringens* type A in the rabbit colon: binding vs. biologic activity. J Infect Dis 1982; 145: 490-4.

McDonel J. Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D and E. In: Pharmacology of Bacterial Toxins. Dorner F, Drews J, eds. Oxford: Pergamon Press 1986: 68: 477-517.

Moon HW, Whipp SC, Argenzio RA, Levine MM, Giannella RA. Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. Infect Immun 1983; 41: 1340-51.

Morris J, Sojka W. *Escherichia coli* as a pathogen in animals. In: The Virulence of *Escherichia coli*: Reviews and Methods. M S, ed. London: Academic Press Inc. 1985: 47-77.

Moser I, Riexneuhöner B, Lentzsch P, Schwerk P, Wieler LH. Genomic heterogeneity and O-antigenic diversity of *Campylobacter upsaliensis* and *Campylobacter helveticus* strains isolated from dogs and cats in Germany. J Clin Microbiol 2001; 39: 2548-57.

Möstl K, Buxbaum A, Odörfer G. Verbreitung und Bedeutung von

Coronavirusinfektionen in heimischen Hundepopulationen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift 1994; 84: 355-61.

Mrowka C, Munch R, Rezzonico M, Greminger P. [Acute segmental hemorrhagic penicillin-associated colitis]. Dtsch Med Wochenschr 1990; 115: 1750-3.

Nagase N, Sasaki A, Yamashita K, Shimizu A, Wakita Y, Kitai S, Kawano J. Isolation and species distribution of *staphylococci* from animal and human skin. J Vet Med Sci 2002; 64: 245-50.

Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 142-201.

Oelschlaeger TA, Guerry P, Kopecko DJ. Unusual microtubule-dependent endocytosis mechanisms triggered by *Campylobacter jejuni* and *Citrobacter freundii*. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90: 6884-8.

Ojo MO. Pathogenic aerobic bacteria and fungi isolated from stray dogs in Trinidad. Rev Elev Med Vet Pays Trop 1994; 47: 179-81.

Olson P, Hedhammar A, Faris A, Krovacek K, Wadstrom T. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) and *Klebsiella pneumoniae* isolated from dogs with diarrhoea. Vet Microbiol 1985; 10: 577-89.

Penner A, Bernheim A. Studies in the pathogenesis of experimental dysentery intoxication. J Exp Med 1942; 76: 271-82.

Pierce LE. Disseminated intravascular coagulation. Am Fam Physician 1973; 7: 118-25.

Post K, Feldman EC. Hemorrhagic gastroenteritis in a Toy Poodle. Mod Vet Pract 1978; 59: 422-6.

Prescott JF, Johnson JA, Patterson JM, Bulmer WS. Haemorrhagic gastroenteritis in the dog associated with *Clostridium welchii*. Vet Rec 1978; 103: 116-7.

Robert JH, Toledano AE, Toth LS, Premus G, Dreiling DA. Hypovolemic shock, pancreatic blood flow, and pancreatitis. Int J Pancreatol 1988; 3: 283-92.

Roberts DE, McClain HM, Hansen DS, Currin P, Howerth EW. An outbreak of *Klebsiella pneumoniae* infection in dogs with severe enteritis and septicemia. J Vet Diagn Invest 2000; 12: 168-73.

Rodriguez-Erdmann F. The syndrome of intravascular coagulation. Postgrad Med 1974; 55: 91-8.

Rosenshine I, Finlay BB. Exploitation of host signal transduction pathways and cytoskeletal functions by invasive bacteria. Bioessays 1993; 15: 17-24.

Rush B, Sparcs A. Extracellular fluid shifts in endotoxin shock. J Trauma 1967; 7: 884-88.

Sandstedt K, Wierup M. Concomitant occurrence of *Campylobacter* and parvoviruses in dogs with gastroenteritis. Vet Res Commun 1981; 4: 271-3.

Sarker MR, Carman RJ, McClane BA. Inactivation of the gene (cpe) encoding *Clostridium perfringens* enterotoxin eliminates the ability of two cpe-positive *C. perfringens* type A human gastrointestinal disease isolates to affect rabbit ileal loops. Mol Microbiol 1999; 33: 946-58.

Sasaki J, Goryo M, Asahina M, Makara M, Shishido S, Okada K. Hemorrhagic enteritis associated with *Clostridium perfringens* type A in a dog. J Vet Med Sci 1999; 61: 175-7.

Sato Y, Kuwamoto R. A case of canine salmonellosis due to *Salmonella infantis*. J Vet Med Sci 1999; 61: 71-2.

Scaletsky IC, Silva ML, Trabulsi LR. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect Immun* 1984; 45: 534-6.

Schaer M. General principles of fluid therapy in small animal medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1989; 19: 203-13.

Schmitz S, Coenen C, König M, Thiel HJ, Neiger R. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 344-5.

Schulz BS, Strauch C, Mueller RS, Eichhorn W, Hartmann K. Comparison of the prevalence of enteric viruses in healthy dogs and those with acute haemorrhagic diarrhoea by electron microscopy. *J Small Anim Pract* 2008; 49: 84-8.

Selbitz H. Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Rolle M, Mayr A eds. Stuttgart: Enke 2002a; 5: 452-53.

Selbitz H. Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Rolle M, Mayr A eds. Stuttgart: Enke 2002b; 5: 466.

Shean FC, Barker WF, Fonkalsrud EW. Studies on Active and Passive Antibody Induced Colitis in the Dog. *Am J Surg* 1964; 107: 337-9.

Shen Z, Feng Y, Dewhirst FE, Fox JG. Coinfection of enteric *Helicobacter* spp. and *Campylobacter* spp. in cats. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2166-72.

Sherman S, Klein E, McClane BA. *Clostridium perfringens* type A enterotoxin induces tissue damage and fluid accumulation in rabbit ileum. *J Diarrhoeal Dis Res* 1994; 12: 200-7.

Simon GL, Gorbach SL. Intestinal flora and gastrointestinal function. In:

Physiology of the Gastrointestinal Tract. Johnson LR, ed. New York: Raven Press 1987: 1729-47.

Slee A. Haemorrhagic gastroenteritis in a dog. Vet Rec 1979; 104: 14-5.

Songer JG. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 216-34.

Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, Yonemura S, Katahira J, Horiguchi Y, Tsukita S. *Clostridium perfringens* enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: Evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. J Cell Biol 1999; 147: 195-204.

Spielman B, Garvey M. Hemorrhagic Gastroenteritis in 15 Dogs. J Am Anim Hosp Assoc 1993; 29: 341-4.

Staats JJ, Chengappa MM, DeBey MC, Fickbohm B, Oberst RD. Detection of *Escherichia coli* Shiga toxin (stx) and enterotoxin (estA and elt) genes in fecal samples from non-diarrheic and diarrheic greyhounds. Vet Microbiol 2003; 94: 303-12.

Steiner JM, Broussard JD, Mansfield CS, R. GS, Williams DA. Serum canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) concentrations in dogs with spontaneous pancreatitis [abstract]. J Vet Intern Med 2001a; 15: 274.

Steiner JM, Finco DR, Gumminger SR, Williams DA. Serum canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) in dogs with experimentally induced chronic renal failure [abstract]. J Vet Intern Med 2001b; 15: 311.

Steiner JM, Gumminger SR, Rutz GM, Williams DA. Serum canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency [abstract]. J Vet Intern Med 2001c; 15: 274.

Steiner JM. Diagnosis of pancreatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 1181-95.

Stone GG, Chengappa MM, Oberst RD, Gabbert NH, McVey S, Hennessy KJ, Muenzenberger M, Staats J. Application of polymerase chain reaction for the correlation of *Salmonella* serovars recovered from greyhound feces with their diet. *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 378-85.

Strauch C. Die hämorrhagische Gastroenteritis des Hundes - eine retrospektive Auswertung. Diss med vet, München, 2004.

Strombeck D, Guilford W. *Small animal gastroenterology*, 2 ed. Davis: Stonegate Publishing 1990: 338-43

Struble AL, Tang YJ, Kass PH, Gumerlock PH, Madewell BR, Silva J, Jr. Fecal shedding of *Clostridium difficile* in dogs: a period prevalence survey in a veterinary medical teaching hospital. *J Vet Diagn Invest* 1994; 6: 342-7.

Takeuchi A. Electron microscope studies of experimental *Salmonella* infection. I. Penetration into the intestinal epithelium by *Salmonella typhimurium*. *Am J Pathol* 1967; 50: 109-36.

Tennant BJ, Gaskell RM, Jones RC, Gaskell CJ. Studies on the epizootiology of canine coronavirus. *Vet Rec* 1993; 132: 7-11.

Thiede S, Goethe R, Amtsberg G. Prevalence of beta2 toxin gene of *Clostridium perfringens* type A from diarrhoeic dogs. *Vet Rec* 2001; 149: 273-4.

Torre E, Tello M. Factors influencing fecal shedding of *Campylobacter jejuni* in dogs without diarrhea. *Am J Vet Res* 1993; 54: 260-2.

Tsai HJ, Huang HC, Lin CM, Lien YY, Chou CH. Salmonellae and campylobacters in household and stray dogs in northern Taiwan. *Vet Res*

Commun 2007; 31: 931-9.

Wassenaar TM, Blaser MJ. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes Infect* 1999; 1: 1023-33.

Wasteson Y, Olsvik O, Skancke E, Bopp CA, Fossum K. Heat-stable-enterotoxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dogs. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2564-6.

Weese JS, Staempfli HR, Prescott JF, Kruth SA, Greenwood SJ, Weese HE. The roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 374-8.

Wells CL, Maddaus MA, Reynolds CM, Jechorek RP, Simmons RL. Role of anaerobic flora in the translocation of aerobic and facultatively anaerobic intestinal bacteria. *Infect Immun* 1987; 55: 2689-94.

Willard MD, Berridge B, Braniecki A, Bouley D. Possible antibiotic-associated colitis in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1775-9, 53-4.

Willard MD. *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*, 1st ed. München: Elsevier 2006.

Wise R, Parmer D. Treating acute hemorrhagic diarrhea as a shock. *Vet Med Small Anim Clin* 1977; 72: 1853.

## IX. ANHANG

### 1 ANAMNESEBOGEN

Anamnese erhoben von: \_\_\_\_\_, Datum: \_\_\_\_\_  
(Tierarzt)

Patient (Label):

#### 1. Vorbericht:

---

---

---

Aufnahme fremden Materials:  möglich  unwahrscheinlich  
was? \_\_\_\_\_

Liegt Schnee?  ja  nein

#### 2. Haltung

Fütterung: was? vom Tisch? \_\_\_\_\_

---

Futterwechsel: \_\_\_\_\_

Fütterungsanamnese der letzten 24 Stunden:

---

---

Hat Hund Schnee gefressen?  ja  nein

#### 3. Allgemeine Gesundheitsvorsorge

**Impfung :**

Vollständige Grundimmunisierung? (min. 3 x)  ja  nein

Letzte Impfung \_\_\_\_\_(Datum)

Welche Impfung \_\_\_\_\_

**Entwurmung :**

Letzte Entwurmung: \_\_\_\_\_(Datum);

mit \_\_\_\_\_(Präparat)

**Auslandsaufenthalt** oder stammt Tier aus Ausland:  ja  nein,

Land: \_\_\_\_\_

**Erkrankung :**

Medikamente (innerhalb der letzten Woche): \_\_\_\_\_

regelmäßige Medikamentengabe:  ja  nein

Medikament/Dosierung: \_\_\_\_\_

**4. aktueller Gesundheitszustand**

Appetit:  normal  vermindert  vermehrt  siehe Vorbericht

Kotabsatzfrequenz: \_\_\_\_\_(pro Tag) \_\_\_\_\_(letzte 24 Stunden)

Durchfall seit wann: \_\_\_\_\_(Stunden) \_\_\_\_\_(Tage)

Kotqualität:  wässrig  breiig  mit Schleim  Meläna

mit frischem Blut  siehe Vorbericht

Erbrechen:  nein  ja  Regurgitieren

siehe Vorbericht

Erbrechen seit wann: \_\_\_\_\_(Stunden) \_\_\_\_\_(Tage)

Erbrechen wie häufig/Tag: \_\_\_\_\_

Erbrechen Beschaffenheit:  Blutbeimengung  gallig/schaumig

Futter  siehe Vorbericht

Gewichtsverlust in letzten 3 Monaten: \_\_\_\_\_(kg)

**2      UNTERSUCHUNGSPROTOKOLL**

Untersuchung durchgeführt von: \_\_\_\_\_, Datum: \_\_\_\_\_  
 (Tierarzt)

Patient (Label):

**Untersuchung**

Ernährungszustand:  physiologisch       adipös       mager

Allgemeinbefinden:  gut                       ggr.               mgr.  
 hgr. reduziert

Verhalten:               normal               apathisch       stuporös  
 hyperaktiv

Körpertemperatur: \_\_\_\_\_ °C

Schleimhäute:        rosa                       blaß               ikterisch  
 zyanotisch            gerötet            feucht  
 pappig                    trocken

KFZ:                    prompt (< 2 s)       verzögert (ca. \_\_\_\_\_ s)

Hautturgor:            physiologisch       Patient \_\_\_\_\_% dehydriert

Herzfrequenz: \_\_\_\_\_ /min Atemfrequenz: \_\_\_\_\_ /min

Abdomenpalpation:  weich                       angespannt

schmerzhaft: \_\_\_\_\_

Rektale Untersuchung:                       normal               schmerzhaft  
 Hernie                    Masse

### 3 BEFUNDE DER SEKTION VON FALL 4

#### Pathologisch-anatomische Befunde:

Ernährungszustand: sehr gut; Lunge: Hyperämie, Emphysem, geringgradiges Ödem; Herz: 40 g, mittelgradige knotige Verdickung der Bikuspidalklappe und geringgradige Verdickung der Trikuspidalklappe; Magen: roter flüssiger Inhalt; Darm: gesamte Darmschlingen dunkelrot, keine Kotformung im Enddarm; Leber: deutliche Läppchenzeichnung; Nieren: zahlreiche narbige Einziehungen in der Rinde

#### Histologische Befunde:

Lunge: geringgradige Hyperämie, Randemphysem, Anthrakose, gering- bis mittelgradige Gerüstfibrose, Herzfehlerzellen in den Bronchiolarwänden; Herz: kleinherdige Myokardnarben; Leber: perivaskulär/periportal einzelne Lymphozyten und Plasmazellen, Lipophagengranulome, geringgradige interstitielle zentrolobuläre Fibrose; Milz: mittelgradige Hämosiderose; Pankreas: ohne besonderen Befund; Dünndarm: Zottenspitzennekrose mit Nachweis von massenhaften stäbchenförmigen Bakterien auf der Oberfläche; Niere: mittelgradige interstitielle Herdnephritis mit Verödung von Glomerula und interstitieller Fibrose.

#### Sonstige Befunde:

Bakteriologisch: Dünndarm: u. a. ++ *Clostridium sp.* und Clostridien vom Typ *perfringens*; virologisch: Darm: negativ.

#### Gutachten:

Nekrotisierende Enteritis mit Nachweis von *Clostridium perfringens*; Endokardiose, Myokardnarben; chronische Nephritis, kein Hinweis auf Pankreatitis.

#### 4. BEFUNDE DER SEKTION VON FALL 5

Pathologisch-anatomische Befunde:

Ernährungszustand: gut; in der Unterhaut gelegene, dünnwandig-kapselartige Umfangsvermehrung auf Höhe des Kieferwinkels rechts, ca. 2 cm im Durchmesser, gefüllt mit fadenziehender, gelblich-trüber Flüssigkeit; hochgradiger Zahnstein, Fehlen einzelner Incisivi im Unterkiefer; Lunge: hochgradige Stauungshyperämie, Ödem; Herz: hochgradige Mitral- und mittelgradige Trikuspidalfibrose, hochgradige Linksherzhypertrophie; Magen: futterleer; Dünndarm: abschnittsweise hochgradige Hyperämie der Darmwand mit blutiger Schleimhautinfiltration und Blutansammlung im Lumen; Hoden: rechts ektopisch (lateral des Penisschaftes).

Histologische Befunde:

Herz: ohne besonderen Befund; Lunge: akute Stauungshyperämie, Ödem, Anthrakose; Umfangsvermehrung Hals: im Bindegewebe in der Nachbarschaft von Speicheldrüse ausgedehnte Infiltration mit voluminösen Zellen mit schaumigem Zytoplasma (Makrophagen) sowie vereinzelt Plasmazellen; Dünndarm: wegen hochgradiger Autolyse nicht mehr beurteilbar; Leber, Milz, Niere: akute Stauungshyperämie.

Sonstige Befunde:

Virologisch: Darm: elektronenmikroskopischer Nachweis von Coronaviren; bakteriologisch: Darm: ++ *E. coli* (mucoid wachsend), Salmonellenanreicherung: negativ; parasitologisch: Darm: Magen-/Darmparasiten nicht nachgewiesen.

Gutachten:

Mitralfibrose, Sialozele, Enteritis

## **X. LEBENSLAUF**

### **Persönliche Angaben**

Name: Strohmeyer  
Vorname: Katrin Hedwig  
Adresse: Schellingstr. 75  
80799 München  
E-mail: [katrinstrohmeyer@gmx.de](mailto:katrinstrohmeyer@gmx.de)  
geboren am: 17.05.1982 in Nürnberg  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Ausbildung, Weiterbildung und berufliche Tätigkeit**

Sep. 1992 – Jun. 2001	Adam-Kraft Gymnasium Schwabach
Okt. 2001 – März 2007	Studium der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
März 2007 – Dez. 2008	Klinische Mitarbeit in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München als Doktorandin
Jan. 2009 – Dez. 2009	Internship in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München
Jan. 2010 – März 2010	schriftliche Abfassung der Dissertation
Seit April 2010	Assistentztierärztin in der Tierklinik Hüttig in Reutlingen

## **XI. DANKSAGUNG**

Bei Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann möchte ich mich herzlich für die Aufnahme in die Klinik und den freundlichen Beistand bedanken.

Ein herzliches Dankeschön geht an Herrn Dr. Stefan Unterer für die Bereitstellung des Themas, die Hilfe bei der Planung, Organisation und Durchführung der Studie, sowie die freundschaftliche Zusammenarbeit.

Für die geduldige und freundliche Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten möchte ich mich bei Frau Dr. Carola Sauter-Louis bedanken.

Meiner Familie, die mich jederzeit unterstützt hat, gilt mein besonderer Dank.

Vielen Dank an meinen Freund Mitch, der immer ein offenes Ohr für mich hatte und mir immer eine sehr große Hilfe war.

Bei den Kollegen und „Mitdoktoranden“ der Medizinischen Kleintierklinik möchte ich mich für die praktische und moralische Unterstützung in allen Phasen der Studie bedanken.

Ich möchte mich auch bei meinen Freundinnen Julia Simak und Kirsten Kühner und bei meinem Cousin Florian Schäfer für die Unterstützung bedanken. Mein herzlicher Dank gilt auch Walter Meixner.

Vielen Dank an das Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der LMU München für die elektronenmikroskopische Untersuchung der Kotproben, sowie die Bearbeitung und Auswertung der Blutkulturen.

Auch der Firma PFIZER GmbH möchte ich für die finanzielle Unterstützung der Studie danken.

Nicht vergessen möchte ich die Hundebesitzer und deren Hunde, die sich freundlicherweise für die Teilnahme an der Studie bereiterklärt haben. Vielen Dank dafür.