

## 5 Diskussion

Anliegen der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkungen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die Funktionen der äußeren Atmung beim Kalb zu untersuchen. Weiterhin betrachteten wir die Konsequenzen von Veränderungen des Gasaustauschsystems hinsichtlich der Effizienz der äußeren Atmung.

Um eine Analyse des Einflusses einer *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die äußere Atmung vornehmen zu können war es notwendig, die Teilfunktionen der äußeren Atmung (Ventilation, Diffusion, Perfusion und Distribution) differenziert voneinander zu betrachten, sowie die Effizienz der einzelnen Funktionen zu beurteilen. Die Effizienz der Funktionen des Respirationstraktes spiegelt sich in von HÖCHEL (2004) sowie Reinhold und Höchel (2005) beschriebenen und von uns erhobenen Analysendaten des Blutes (Blutgase und Säure-Basen-Status, rotes Blutbild) wieder.

Um die Konsequenzen dieser Infektion für den gesamten Kälberorganismus darzustellen, war es ebenfalls notwendig, das Verhalten der Leukozyten, den klinischen Verlauf der Erkrankung sowie das pathomorphologische Bild, welches durch eine Infektion mit *Mannheimia haemolytica* A1 beim Kalb hervorgerufen wird, in die Betrachtung mit einzubeziehen.

Die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion des Kalbes ist eine Erkrankung, welche sich nicht nur in einer Beeinflussung auf lokaler Ebene (Respirationstrakt) sondern durch eine Beeinträchtigung des Gesamtorganismus darstellt. Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll, nachfolgend zunächst Auswirkungen auf einzelne funktionelle Systeme zu diskutieren, um im Anschluss Rückschlüsse auf Folgen für den gesamten Kälberorganismus ziehen zu können.

### 5.1 Konsequenzen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die Funktionen der äußeren Atmung

Den vier Teilfunktionen der äußeren Atmung (Ventilation, Diffusion, Perfusion, Distribution) lassen sich jeweils verschiedene anatomische Strukturen funktionell zuordnen.

Anatomische Strukturen des luftführenden Systems, angefangen von Maul- und Nasenöffnung, Pharyngs, Laryngs, Trachea, Hauptbronchien bis hin zu Segmentbronchien und Alveolen, aber auch Strukturen, welche die Expansions- und Retraktionsfähigkeit des Respirationstraktes bestimmen (z. B. Anteil elastischer Fasern im Lungengewebe, Struktur und Beschaffenheit des Thorax), üben Einflüsse auf die Ventilation aus. Die Beschaffenheit sowie die Gesamtfläche der alveolokapillären Membranen bestimmen die Diffusionskapazität. Die Perfusion wird anatomisch durch die Eigenschaften des funktionellen Blutgefäßsystems der Lunge charakterisiert. Das Verhältnis von Perfusion und Ventilation beschreibt wiederum die Distribution.

Zur Untersuchung von Auswirkungen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die jeweiligen Teilfunktionen der äußeren Atmung stehen theoretisch verschiedene moderne Untersuchungsmethoden (Impulsosziloesistometrie, Pneumotachographie, Kapnographie, Diffusionskapazitätsmessung) sowie konventionell die Analyse der Blutgase und des Säure-Basen-Status zur Verfügung. Die Validierungen von Kapnographie und Diffusionskapazitätsmessungen für das Kalb sind derzeit in Arbeit, sodass wir in unsere Untersuchungen das Verfahren der Impulsosziloesistometrie und die Analyse der Blutgase und des Säure-Basen-Status einbezogen haben.

Mit Hilfe des von SMITH et al. (2005) beschriebenen komplexen methodischen Verfahrens der IOS-Messung werden Atemwiderstände gemessen. Diese Untersuchungsmethode lässt

somit Rückschlüsse auf die Ventilation, bzw. auf den aktuellen Zustand zu belüftender Abschnitte der Lunge zu. Weiterhin geben insbesondere gewonnene Daten hinsichtlich der Dehnbarkeit (Compliance) der Lunge Hinweise auf strukturelle Veränderungen des Lungparenchyms. In Kombination mit den Daten der Blutgasanalyse sowie des Säure-Basen-Status lassen sich Rückschlüsse auf die Funktionsfähigkeit anderer Teilbereiche der äußeren Atmung ziehen. Störungen von Diffusion, Perfusion und Distribution drücken sich vorrangig in Beeinflussungen von Blutgasparametern aus und widerspiegeln somit die Beeinflussung der Effizienz der äußeren Atmung, welche im Abschnitt 5.2 diskutiert wird. Beachtet werden muss hierbei jedoch, dass Einflüsse, welche zu Störungen der Ventilation führen, sich automatisch auf die anderen Teilfunktionen auswirken, da diese als nachgeschaltete funktionelle Bereiche von der Ventilation abhängig sind.

### **5.1.1 Auswirkungen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die Ventilation**

Die Ventilation wird durch verschiedenen Parameter beschrieben. Hierzu zählen Atemzugvolumen ( $V_T$ ), Atemfrequenz (AF) und das daraus zu erreichende Atemminutenvolumen ( $V_{min}$ ). Da unterschiedliche Körpermassen auch unterschiedliche Atemzugvolumina bedingen, werden  $V_T$  und  $V_{min}$  jeweils auf die Körpermasse bezogen ( $V_T/kg$ ,  $V_{min}/kg$ ). Beeinflusst werden diese Parameter durch die Kenngrößen der Atmungsmechanik Resistance (R) und Reactance (X), wobei X die Summe der Innertance (I) und der Compliance (C) darstellt. Das von uns verwendete Verfahren der IOS-Messung ermöglichte es, alle oben genannten Daten zur Analyse von Ventilation und Atmungsmechanik zu erfassen. Neben der Darstellung von R und X in Abhängigkeit von der Frequenz wurden auf der Basis einer Modellbetrachtung der Lunge auch eine Resistance der proximalen Atemwege ( $R_z$ ), eine Resistance der distalen Atemwege ( $R_p$ ) und eine Compliance der Lunge ( $C_L$ ) ermittelt.

#### 5.1.1.1 Atemfrequenz und Atemzugvolumen (=Atmungsmuster)

Neben dem Atemzugvolumen bestimmt die Atemfrequenz die Intensität der Belüftung des Alveolargebietes. Die Belüftung wird in erster Linie durch den arteriellen Kohlendioxidpartialdruck ( $P_aCO_2$ ) reguliert. Eine Erhöhung des  $P_aCO_2$  spricht für eine verminderte Belüftung der Alveolen, was reflektorisch entweder zur Erhöhung der Atemfrequenz oder des Atemzugvolumens oder beider Parameter gemeinsam führt.

Die klinische Erfassung der Daten zur Atemfrequenz bei den von uns untersuchten Kälbern zeigte, dass bereits 3 Stunden *post infectionem* eine massive Erhöhung der AF zu verzeichnen war, welche bis zum Abschluss des Versuches nicht zu den Ausgangswerten der Ruheatemfrequenzen zurückkehrte. Die mit Hilfe der IOS-Messtechnik ermittelten Werte für diesen Parameter bestätigten die klinischen Beobachtungen.

Ursachen:

Erhöhungen der Atemfrequenz können durch vermehrten Sauerstoffbedarf im Organismus, verstärkte Kohlendioxidfreisetzung, mangelnde Sauerstofftransportkapazität des Blutes, Thermoregulation und insbesondere durch Störungen der Atmungsmechanik hervorgerufen werden. Zu beachten ist hierbei jedoch, dass eine Beeinflussung des Atemzentrums und eine daraus resultierende Atemantwort (Veränderung des Atmungsmusters,  $V_T \uparrow$ ,  $AF \uparrow$ ) durch drei Faktoren hervorgerufen werden kann. Zum einen würde ein Sauerstoffmangel im Blut zum Anderen und in erster Linie aber ein Kohlendioxid-Überschuss im arteriellen Blut

dieses veränderte Atmungsmuster bedingen. Aber auch eine Verminderung des pH-Wertes des arteriellen Blutes würde dieses veränderte Atmungsmuster hervorrufen.

Ein erhöhter Sauerstoffbedarf entsteht physiologisch z. B. durch vermehrte Muskelarbeit (Laufband) und Stress (Aufregung, Umstellung, Transport, Unruhe). Diese Faktoren allein müssen nicht zwangsläufig zur Veränderung des Atmungsmusters führen, da der vermehrte Bedarf an Sauerstoff zunächst bis zu einem gewissen Grad durch die verstärkte Ausnutzung des im Blut vorhandenen Sauerstoffs gedeckt werden kann. Erst wenn dieser Kompensationsmechanismus erschöpft ist, führt der erhöhte Sauerstoffbedarf zur Steigerung von Atmungsfrequenz und/oder Atemzugvolumen.

Da  $\text{CO}_2$  etwa 20 mal besser löslich ist als  $\text{O}_2$  kann es viel schneller diffundieren als Sauerstoff. Voraussetzung für die physiologische Elimination von möglicherweise vermehrt anfallendem Kohlendioxid sind störungsfreie Teilfunktionen der äußeren Atmung. Störungen von Diffusion und Perfusion könnten bei intakter Ventilation kaum zur Verminderung der Kohlendioxidabgabe aus dem Blut in den Alveolarraum führen. Ein Anstieg des  $\text{PCO}_2$  im arteriellen Blut kann nur drei Ursachen, eine alveoläre Minderbelüftung (obstruktive Lungenveränderungen), ventilatorische Verteilungsstörungen sowie eine Ischämie im Kreislauf, haben. Das eventuelle Vorliegen einer alveolären Minderbelüftung bei den von uns untersuchten Tieren soll im Abschnitt 5.1.1.2 näher betrachtet werden. Störungen von Diffusion und Perfusion beeinträchtigen somit vorrangig die Arterialisierung des Blutes in der Lunge. Eine Reihe unterschiedlicher Faktoren können für die Störungen von Diffusion, Perfusion und Distribution verantwortlich sein. Hierzu zählen Verdickungen der alveolokapillären Membran (Ödembildung), was zu Störungen der Diffusion führen könnte, Verschluss funktioneller Blutgefäße der Lunge durch Thromben oder hypoxische Vasokonstriktion (Perfusionsstörung) und letztlich durch Imbalancen im Verhältnis von Ventilation und Perfusion die Distributionsstörungen. Die hypoxische Vasokonstriktion stellt normalerweise eine physiologische Reaktion des Organismus dar, um eine optimale Distribution zu gewährleisten. Unter pathophysiologischen Bedingungen tritt sie jedoch durch Störungen anderer Teilfunktionen der äußeren Atmung, welche verschiedenste Ursachen haben können (infektiös, toxisch, atmosphärisch) auf und könnte somit zur Verschlechterung des ohnehin beeinträchtigten Gasaustausches in der Lunge führen. Als Konsequenz würde sich der  $\text{P}_a\text{O}_2$  vermindern, was eine reflektorische Steigerung der Belüftung (Erhöhung AF und/oder  $V_T$ ) der Alveolen zur Folge hätte.

Eine mangelnde Sauerstofftransportkapazität des Blutes würde sich bei Vorliegen von Anämien und/oder Dyshämoglobinämien darstellen, worauf in der Diskussion zur Effizienz der äußeren Atmung näher eingegangen werden soll.

Störungen von Kenngrößen der Atmungsmechanik, insbesondere bei Erhöhung der Resistance, aber auch bei einer Verminderung der Compliance, beeinflussen in hohem Maße Atmungsfrequenz und Atemzugvolumen. Ziel von Änderungen der AF und des  $V_T$  ist es, das je Zeiteinheit ventilierte Volumen ( $V_{\min}$ ) möglichst konstant zu halten, um einen optimalen Gasaustausch zu gewährleisten. Tritt ein erhöhter Sauerstoffbedarf im Organismus auf, oder liegt eine Behinderung des Sauerstoffübertritts in das Blut vor, wird durch Steigerung von  $V_T$  und der AF das  $V_{\min}$  erhöht, um den vermehrten Sauerstoffbedarf zu decken (HÖCHEL, 2004). Im Gegensatz hierzu ergaben die IOS-Messwerte *post infectionem* ein um fast die Hälfte reduziertes  $V_{\min}$  gegenüber den Werten vor der experimentellen Infizierung, trotz gesteigerter Atmungsfrequenz. Ähnliche Untersuchungsergebnisse wurden von DESMECHT (1995 a, b, c) für hochgradig pneumoniekranke Kälber beschrieben. Im Gegensatz hierzu beschrieb LINDEN (1995 a, b) einen Anstieg des  $V_{\min}$  bei an Pneumonie erkrankten Kälbern. Eine Erhöhung von  $V_{\min}$  wurde auch von DESMECHT (1995 a, b, c) für mittelgradig erkrankte Kälber

gefunden. Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Kompensation eines verminderten Atemzugvolumens durch eine gesteigerte Atemfrequenz bei den mit *Mannheimia haemolytica* A1 infizierten Tieren nicht ausreichte, um eine optimale Ventilation zu gewährleisten. Somit wird deutlich, dass  $V_T$  erheblich reduziert sein musste. Rückschlüsse auf Ursachen, welche zur Verminderung von  $V_T$  geführt haben, lassen sich möglicherweise aus den Kenngrößen der Atmungsmechanik, insbesondere aus den Werten der Compliance ziehen und sollen nachfolgend diskutiert werden.

Auch thermoregulatorisch ist die Erhöhung der Atemfrequenz von Bedeutung, weil hierbei Körperwärme über die Atemluft abgegeben wird. Effizient ist dieser Mechanismus jedoch nur, wenn hierbei eine vermehrte Totraumventilation stattfindet, da insbesondere diese Abschnitte des Respirationstraktes nicht nur der Luftleitung sondern auch der Erwärmung und Befeuchtung der Atemluft dienen. Eine Erhöhung der Atemfrequenz wird bei gleichzeitig vorliegender milder arteriellen Hyperkapnie von HARE et al. (1996) als sekundäres Ergebnis in Folge einer erhöhten Rektaltemperatur beschrieben. Die von uns untersuchten Kälber wiesen bereits 6 h *p.i.* eine erhöhte Rektaltemperatur auf, welche sich bis zum Abschluss der Untersuchungen nicht normalisierte. Es besteht unter diesem Aspekt die Wahrscheinlichkeit der erhöhten Totraumventilation im Sinne einer Thermoregulation, wie sie von ELMER und REINHOLD (2002) sowie REINHOLD und ELMER (2002) als Folge von Erhöhung der Umgebungstemperatur beschrieben wurden. In diesen Arbeiten wurde jedoch auch ein gesteigertes  $V_{min}$  bei exogen induzierter Hyperthermie ermittelt, was im Gegensatz zu den Werten der vorliegenden Arbeit steht.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass die Erhöhung der Atemfrequenz bei den von uns untersuchten Kälbern ihre Ursache in erster Linie in dem verminderten  $V_T$  und damit verbundenen Sauerstoffmangel haben dürfte. Eine thermoregulatorische Komponente, welche zur Erhöhung von AF beiträgt, dürfte sekundär mit beteiligt sein.

#### 5.1.1.2 Kenngrößen der Atmungsmechanik

Die von uns untersuchten Kenngrößen Resistance und Reactance stellen Widerstände des respiratorischen Systems dar (REINHOLD et al., 1998 a). Die Resistance repräsentiert hierbei den Strömungswiderstand der Atemluft in den Atemwegen des respiratorischen Systems. Eine Erhöhung der Resistance spricht demnach für eine Querschnittsverminderung der luftführenden Wege des Respirationstraktes, z. B. im Sinne einer konstriktiven Veränderung. Eine Verminderung von R wiederum weist auf eine Weitstellung konduktiver Atemwege hin. Die von uns mittels IOS ermittelten Werte der spektralen Resistance umfassten die Frequenzbereiche 3, 5, 10, 15 und 20 Hz, wobei niedere Frequenzen (3, 5 Hz) die peripheren und höhere Frequenzen eher die zentralen Atemwegswiderstände repräsentieren (UYSTERPRUYST et al., 2000).

Von LINDEN (1995 a) wurde eine Erhöhung der pulmonalen Resistance innerhalb der ersten zehn Stunden nach der experimentellen Infizierung mit *Mannheimia haemolytica* A1 beschrieben. Im Gegensatz dazu blieben in den Untersuchungen von REINHOLD et al. (2002) die resistiven Widerstände nach einer LPS-Infusion nahezu unverändert, was obstruktive Lungenveränderungen somit ausschloss.

Die Messwerte aus unseren Untersuchungen ergaben für die Frequenz von 3 Hz am 3. Tag *p.i.* eine signifikante Verminderung der Resistance gegenüber *ante infectionem* gemessenen Werten. Dies würde zunächst auf eine Verminderung des peripheren Atemwegswiderstandes hindeuten. Nicht auszuschließen ist hierbei jedoch, dass auf Grund einer Verminderung der bei 3 Hz messbaren Bezirke der Lunge durch vollständige Verlegung der Atemwege

auch keine Änderung der Resistance nachweisbar war. Da die Messungen erst 3 und 4 Tage nach der experimentellen Infizierung durchgeführt wurden, könnte auch dies für fehlende bzw. nicht nachweisbare Veränderungen der Resistance verantwortlich sein, da obstruktive Prozesse von LINDEN (1995 a) innerhalb der ersten zehn Stunden *p.i.* beschrieben wurden. Eine bei den von uns untersuchten Kälbern fehlende negative Frequenzabhängigkeit von R als sensibles Merkmal obstruktiver Lungenveränderungen (REINHOLD et al, 1998 a) bestätigt, dass zu den von uns gewählten Untersuchungszeitpunkten *p.i.* keine nachweisbaren Obstruktionen der Atemwege vorlagen. Eine Verlegung von Segmentbronchien mit entzündlichem Exsudat oder eine Konsolidierung des Lungenparenchyms hätten zur Folge, dass geschädigte periphere Lungenareale durch die IOS-Messung nicht mehr erfasst werden, da in diesen Bereichen keine Luftströmung mehr vorhanden ist und somit kein Strömungswiderstand entstehen kann. Betrachtet man in diesem Zusammenhang den hohen Segmentierungsgrad der Rinderlunge und das vollständige Fehlen kollateraler Belüftungsmöglichkeiten wird deutlich, dass bei Verlegung von nur dem Gastransport dienenden Abschnitten des Bronchialbaumes die nachfolgenden Gebiete nicht mehr belüftet werden und sich somit Messungen mit dem IOS entziehen. Noch funktionsfähige unveränderte Bereiche des Lungengewebes würden in dieser Situation reflektorisch weitgestellt werden, um eine maximale Ventilation intakter Lungenbezirke zu erreichen. Beachtet werden muss hierbei jedoch, dass eine Zunahme von  $V_T$  dann auch zu Überblähungen führen und folglich ein Emphysem entstehen könnte. Die Weitstellung ventilierter Alveolen könnte eine Erklärung für die verminderte Resistance bei der Frequenz von 3 Hz sein. Eine auf Grund von Ödematisierungen oder Verlegung der luftführenden Wege verminderte ventilierte Gasaustauschfläche würde sich in einer Reduktion der Dehnbarkeit der Lunge widerspiegeln. Die Werte für die spektrale Reactance waren vor und nach der experimentellen Infizierung nahezu gleich, sodass aus ihnen keine Rückschlüsse auf restriktive Veränderungen gezogen werden konnten. Die vergleichende Betrachtung der spektralen Impedanz eines Zeitpunktes vor und den zusammengefassten Zeitpunkten nach der experimentellen Infizierung (Abbildung 20), ergab eine Verminderung von Resistance und Reactance in allen gemessenen Frequenzbereichen, was als Resultat einer reflektorischen Weitstellung belüfteter Lungenbereiche zu bewerten sein dürfte. Die Untersuchung der Modellparameter der Atmungsmechanik ergaben weitere Hinweise auf die Art der Lungenveränderung. Während totale zentrale (proximale) Resistance ( $R_z$ ) und periphere (distale) Resistance ( $R_p$ ) *post infectionem* nahezu unverändert waren, verminderte sich die Compliance der Lunge ( $C_L$ ) signifikant am 3. Tag *p.i.* gegenüber den Werten vor der Infizierung. Dieses Ergebnis zeigt, dass eine verminderte Dehnungsfähigkeit der Lunge in Folge der Infektion aufgetreten war, deren Ursachen sich im pathomorphologischen Bild der Lungen widerspiegeln. Die Verminderung von  $C_L$  schlug sich jedoch nicht in der spektralen Reactance zu den einzelnen Messzeitpunkten nieder. Somit bestätigt dieses Ergebnis die Vermutung, dass veränderte periphere Areale der Lunge offenbar nicht mehr messbar sind.

Für eine Abnahme der Linearität der Genauigkeit zwischen den Einzelmessungen je Tier und Messzeitpunkt sprachen die *p. i.* signifikant verminderten Kohärenzen bei 3 und 5 Hz. Ursache hierfür dürften Ansammlungen von entzündlichem Exsudat in peripheren Lungengebieten sein. Je nach Körperhaltung des Tieres könnte es zur Umverteilung dieser Flüssigkeiten gekommen sein, sodass das Ausmaß messtechnisch nicht zu erfassender Lungenbereiche zwischen den einzelnen Messungen geschwankt haben dürfte.

Eine Zunahme der intraindividuellen Variabilität von X ( $\text{Diff}_{\max} X$ ) bei 3 und 5 Hz verdeutlichte die Variabilität in der Quantität von Lungenveränderungen bei den einzelnen Kälbern, und

ließ die Schlussfolgerung zu, dass Veränderungen durch die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion vorrangig in peripheren Lungenbereichen lokalisiert waren. Diese Ergebnisse wurden durch die Untersuchungen zur Effizienz der äußeren Atmung bestätigt und sollen unter Punkt 5.2 diskutiert werden.

#### Zusammenfassung

Die Auswertung von Daten zu Parametern von Ventilation und Atmungsmechanik zeigt, dass die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion des Kalbes vorrangig zu restriktiven Lungenveränderungen führte. Obstruktive Lungenveränderungen konnten nicht nachgewiesen werden, da die verengten Abschnitte des Bronchialbaumes wahrscheinlich vollständig mit entzündlichem Exsudat verlegt waren und somit kein Luftstrom in ihnen stattfand. Die verminderte Dehnbarkeit führte zu einem vermindertem  $V_T$ . Kompensatorisch versuchte der Kälberorganismus durch eine Erhöhung der Atemfrequenz die verminderte Belüftung der Lunge auszugleichen. Gleichzeitig verminderte sich der Atemwegwiderstand in der Peripherie (verminderte  $R$  bei 3 Hz), um möglichst viel funktionell intaktes Lungengewebe mit Sauerstoff zu versorgen. Da trotz erhöhter Atemfrequenz eine Verminderung der pro Zeiteinheit ventilierten Luftmenge auftrat, ist davon auszugehen, dass die Schädigungen des Lungenparenchyms durch die Infektion mit *Mannheimia haemolytica* A1 so stark ist, dass die kompensatorisch erhöhte Atemfrequenz nicht ausreicht, um die Lunge optimal zu belüften. Ursache für die Erhöhung der Atemfrequenz ist aber nicht allein das verminderte Atemzugvolumen. Es ist anzunehmen, dass die erhöhte Atemfrequenz auch dazu dient, die erhöhte Rektaltemperatur zu reduzieren. Auch ein vermehrter Sauerstoffbedarf durch die erhöhte Arbeit der Atemmuskulatur auf Grund der Lungenveränderungen könnte zur Steigerung der Atemfrequenz beigetragen haben.

Das von uns verwendete Messverfahren der Impulsoszillogresistometrie lässt keine direkten Schlussfolgerungen bezüglich Störungen der anderen Teilfunktionen der äußeren Atmung (Diffusion, Perfusion, Distribution) zu. Geht man davon aus, dass der verminderten  $C_L$  restriktive Veränderungen des Lungengewebes zu Grunde liegen, ist es wahrscheinlich, dass das funktionelle Blutgefäßsystem gestört ist. Ebenso dürften alveolokapilläre Membranen zerstört oder zumindest auf Grund der Infektion mit *Mannheimia haemolytica* A1 entzündlich ödematisiert sein. Hinzu kommt zusätzlich eine Sekretion entzündlichen Exsudats in die Alveolen, welche die Diffusion von Atemgasen erschwert. Als Maß oder Anhaltspunkt hierfür kann der Anteil des Shunt-Blutes gelten. Der Shuntblutanteil erhöhte sich *post infectionem* signifikant. Es ist also anzunehmen, dass die Ursachen, welche die verminderte Compliance der Lunge hervorrufen, zu Beeinträchtigungen von Diffusion und Perfusion führen, was eine Störung der Distribution nach sich ziehen würde. Weiterreichende Hinweise auf Störungen von Diffusion, Perfusion und Distribution könnten sich aus der Betrachtung der Effizienz der äußeren Atmung ergeben, welche im nachstehenden Abschnitt diskutiert wird.

## **5.2 Auswirkungen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die Effizienz der äußeren Atmung**

Die Effizienz der äußeren Atmung ist gekennzeichnet durch eine adäquate Versorgung des Organismus mit Sauerstoff aus sowie die Abgabe von Kohlendioxid an die Umwelt. Zusätzlich nimmt die äußere Atmung an der Regulierung des Säure-Basen-Haushaltes teil. *Mannheimia haemolytica* A1 besitzt eine Vielzahl von Pathogenitätsfaktoren. Deshalb ist anzunehmen, dass Einflüsse und Schädigungen durch diesen Erreger nicht nur regional auf das

Lungengewebe begrenzt bleiben, sondern auch andere in den Gastransport integrierte Kompartimente betroffen sein können.

Neben dem Respiratorischen System, welches in erster Linie dem Austausch von Atemgasen mit der Umwelt dient, limitieren das Herz-Kreislauf-System mit dem Blutgefäßsystem (insbesondere funktionelle Blutgefäße der Lunge), das Blut (speziell seine Sauerstofftransportkapazität) sowie die Leistungsfähigkeit des Herzens selbst die Effizienz der äußeren Atmung. Nur optimale Interaktionen zwischen diesen Organen und Organsystemen gewährleisten einen adäquaten Gasaustausch zwischen Umwelt und Organismus.

Neben der Analyse von Blutgasen und der Ermittlung des Säure-Basen-Status lassen Untersuchungen zum roten Blutbild Rückschlüsse auf die Effizienz der äußeren Atmung zu. Durch die Untersuchung des roten Blutbildes wird die Sauerstofftransportkapazität des Blutes überprüft, sodass Störungen in diesem Bereich ausgeschlossen oder bestätigt, und somit beeinträchtigte Funktionen der äußeren Atmung eingegrenzt werden können. Verringerungen in der Effizienz weisen auf Störungen in Struktur und Funktion einzelner Gewebe, Organe und/oder Organsysteme hin, was eine Beurteilung des Einflusses der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die Effizienz der äußeren Atmung, insbesondere im Zusammenhang mit der Betrachtung der Funktionen der äußeren Atmung, erlaubt. Die gewonnenen Daten ermöglichen es jedoch nicht konkret in jedem Fall die Teilfunktion der äußeren Atmung zu determinieren, welche beeinträchtigt ist. Hierzu wären weiterführende Untersuchungsmethoden (Kapnographie, Diffusionsmessungen) nötig.

### **5.2.1 Einflüsse der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf untersuchte Blutgasparameter**

Die Messungen der Sauerstoffpartialdrücke ergaben bereits 3 Stunden nach der experimentellen Infizierung signifikante Verminderungen des  $PO_2$  sowohl im arteriellen als auch im venösen Blut. Ähnlich dramatisch verminderte Sauerstoffpartialdrücke des arteriellen Blutes innerhalb kürzester Zeit wurden von DESMECHT (1995 a), HARE et al. (1996) und LINDEN (1995 b) beschrieben. Während die Verminderung im arteriellen Blut bis zum Abschluss unserer Untersuchungen bestehen blieb, konnte im venösen Blut 2, 3 und 4 Tage *post infectionem* kein signifikanter Unterschied zu *ante infectionem* ermittelten Werten beobachtet werden. Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Werte für die Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz ( $AaDO_2$  *post infectionem* signifikant erhöht) wird deutlich, dass der verminderte Sauerstoffpartialdruck des arteriellen Blutes ( $P_aO_2$ ) durch eine Reduktion der Aufnahmefähigkeit des arteriellen Blutes von Sauerstoff aus der Lunge entsteht. Hierfür verantwortlich dürften zum Einen Beeinträchtigungen von Funktionen der äußeren Atmung und/oder zum Anderen Störungen bzw. Veränderungen des roten Blutbildes sein.

In Anbetracht der durch Konsolidierung von Lungengewebe verminderten Compliance der Lunge, wodurch möglicherweise Lungensegmente nicht mehr belüftet werden können, ist zunächst von einem unzureichenden Sauerstoffangebot durch eine Verringerung der belüfteten Alveolaroberfläche auszugehen. Weiterhin dürften die durch *Mannheimia haemolytica* A1 hervorgerufenen entzündlichen Reaktionen (entzündliche Exsudationen in die Alveolen, Ödematisierung der Alveolo-kapillären Membranen, Thrombosierung funktioneller Lungengefäße) zu Störungen in den Teilfunktionen der äußeren Atmung, insbesondere von Diffusion und Perfusion führen. Es ist ebenfalls davon auszugehen, dass durch Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haemolytica* A1 induzierte Reaktionen des Kälberorganismus Alterationen der funktionellen Lungengefäße hervorgerufen haben. Dies hat eine Einschränkung von Ge-

fäßreaktionen im Sinne der hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion zur Folge. Bereits die Betrachtung des  $P_aO_2$  vor und nach der experimentellen Infizierung verdeutlicht, dass *Mannheimia haemolytica* A1 die Effizienz der äußeren Atmung hinsichtlich der Sauerstoffbeladung des arteriellen Blutes stark beeinträchtigt.

Zehn Stunden nach der experimentellen Infizierung mit *Mannheimia haemolytica* A1 wurde von DESMECHT (1995 a) eine Reduktion der arterielle Sauerstoffsättigung ( $S_aO_2$ ) auf ca. 30 % beobachtet. Die  $S_aO_2$  bei den von uns untersuchten Tieren war ebenfalls *post infectionem* reduziert, wobei signifikante Verminderungen 3 und 24 Stunden, 2 und 4 Tage nach der experimentellen Infizierung nachzuweisen waren. Zu diesen Untersuchungszeitpunkten lagen die Mittelwerte der  $S_aO_2$  zwischen  $89,57 \pm 7,75$  und  $91,58 \pm 6,29$  % und waren somit deutlich weniger vermindert als die von DESMECHT (1995 a) beschriebenen Werte. Für die geringere Verminderung der  $S_aO_2$  bei den von uns untersuchten Kälbern dürfte neben ihrem höheren Alter auch der Umstand verantwortlich sein, dass DESMECHT (1995 a) die Tiere nach der Intensität (Schweregrad) unterteilte und die von ihm dargestellte Verminderung auf die Kälber mit der am stärksten ausgeprägten Symptomatik bezogen sind. Die Verminderungen der  $S_aO_2$  3 und 24 Stunden sowie 2 Tage *post infectionem* erklären sich aus den zu diesen Zeitpunkten am stärksten reduzierten arteriellen Sauerstoffpartialdrücken.

Der Kohlendioxidpartialdruck war sowohl im arteriellen als auch im venösen Blut 24 Stunden und 2 Tage *post infectionem* signifikant vermindert. Die Mittelwerte des  $P_aCO_2$  zu diesen beiden Messzeitpunkten (Tabelle 53) liegen unter denen von LEKEUX et al. (1984 a, b) beschriebenen Werten für 4 Monate alte Kälber sowie unter den von HARTMANN und MEYER (1994) dokumentierten Werten, sodass zu diesen Zeitpunkten die Verminderung des  $P_aCO_2$  den Grad einer Hypokapnie erreichte. Die Mittelwerte des venösen  $PCO_2$  lagen zu jedem Untersuchungszeitpunkt über dem von BERCHTOLD et al. (2000) als Referenzwert angegebenen Partialdrucks, möglicherweise auf Grund eines anderen von diesen Autoren verwendeten Analysensystems.

Hervorgerufen wurde die Verminderung des  $PCO_2$  durch die kompensatorische Hyperventilation der Kälber, um das  $O_2$ -Defizit (verminderte  $P_aO_2$ ) auszugleichen. Da offenbar eine vermehrte Eliminierung von  $CO_2$  vorlag, welche zu zwei Untersuchungszeitpunkten eine Hypokapnie verursachte, konnte keine Beeinträchtigung der  $CO_2$ -Elimination vorgelegen haben. In Konsequenz des reduzierten  $PCO_2$  könnte sich die Atemfrequenz und bei verringertem  $V_T$  das Atemminutenvolumen vermindert haben, was einen bereits vorhandenen Sauerstoffmangel im Blut (verminderter  $P_aO_2$ , und nachfolgend verminderte  $S_aO_2$ ) durch weitere Reduktion der Belüftung noch verstärkte. Paradoxe Weise verstärkt somit also ein physiologischer Regulationsmechanismus einen bereits vorhandenen Sauerstoffmangel.

Eine Erhöhung des Kohlendioxidpartialdruckes konnte 3 und 6 Stunden *post infectionem* im venösen Blut nachgewiesen werden. Diese venöse Hyperkapnie ist wahrscheinlich das Resultat der vermehrten Arbeit der Atemmuskulatur (erhöhte Atemfrequenz) wie sie von DESMECHT (1995 a) beschrieben wurde. Die Erhöhung des Kohlendioxidpartialdruckes des venösen Blutes ließ sich arteriell nicht nachweisen. Es kann davon ausgegangen werden, dass Kohlendioxid auf Grund seiner günstigeren Diffusionseigenschaften im Vergleich zum Sauerstoff, trotz bestehender Funktionsstörungen der äußeren Atmung, ausreichend eliminiert werden konnte, sodass bis zum Ende unserer Untersuchungen trotz erhöhter Totraumventilation keine respiratorische Globalinsuffizienz nachgewiesen werden konnte.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Effizienz der äußeren Atmung durch die Infektion hinsichtlich der Sauerstoffaufnahme des arteriellen Blutes nachhaltig beeinträchtigt war. Die Ursachen hierfür liegen in den Störungen der Funktionen der äußeren Atmung. Es



entstand eine respiratorisch bedingte Partialinsuffizienz (verminderter  $PO_2$ ), jedoch verhinderten die günstigen Diffusionseigenschaften und der Umstand, dass keine obstruktiven Ventilationsstörungen vorlagen, eine respiratorische Globalinsuffizienz.

### **5.2.2 Auswirkungen der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf Parameter des Blutes und die Hämoxymetrie und damit verbundene Konsequenzen für die Effizienz der äußeren Atmung**

Als Parameter des Blutes, welche sich auf die Effizienz der äußeren Atmung auswirken könnten, untersuchten wir den Hämatokrit (Hct) und die Hämoglobinkonzentration des Blutes (Hb). Sowohl Hct als auch Hb waren nach erfolgter experimenteller Infizierung vermindert, was sich statistisch jedoch nicht sichern ließ. Die Verminderung der Werte für diese Parameter dürften ihre Ursache in Endotoxin bedingten Hämorrhagien im Lungengewebe haben. Weiterhin könnte durch Thrombenbildung in den funktionellen Blutgefäßen der Lunge eine Reduktion von zirkulierenden Erythrozyten entstanden sein. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich die Blutprobenentnahmen ebenfalls auf diese Parameter ausgewirkt haben. Letztendlich deutet die Verminderung der Werte dieser Parameter auf eine reduzierte Kapazität des Blutes, Sauerstoff zu transportieren, hin. Dies zeigt, dass die Effizienz der äußeren Atmung bei der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion nicht nur durch die Schädigung von pulmonalem Gewebe sondern auch durch eine Beeinträchtigung der Sauerstofftransportkapazität des Blutes verringert wird.

Die Untersuchung von Parametern der Hämoxymetrie ergab ebenfalls Hinweise auf eine Reduktion der Fähigkeit des Blutes, Sauerstoff zu transportieren. So war die Gesamthämoglobinkonzentration des arteriellen Blutes ab dem 3. Tag *p. i.* signifikant gegenüber *ante infectionem* ermittelten Werten vermindert. Wie bereits diskutiert, könnte dies das Resultat von Blutverlusten durch Hämorrhagien in der Lunge und/oder Thrombenbildung in den Blutgefäßen dieses Organs sein. Eine Reduktion dieses Wertes durch vermehrte Flüssigkeitszufuhr ist auszuschließen, da zu diesen Zeitpunkten eine verminderte Tränkeaufnahme der Kälber vorlag und Infusionen nicht verabreicht wurden. Die Erhöhung der Gesamthämoglobinkonzentration 6, 12 und 24 Stunden *p.i.* ist wahrscheinlich das Ergebnis von Flüssigkeitsverlusten durch Austritt von entzündlichem Exsudat in die Alveolen und/oder Ödembildungen im Lungengewebe (kapilläre Permeabilitätserhöhung (ADUSU et al., 1994)). Der damit verbundene Flüssigkeitsverlust führte somit zur Erhöhung dieses Wertes.

Die Untersuchungen der Hämoglobinfractionen ergab *post infectionem*, außer zum Zeitpunkt 6 Stunden *p.i.*, eine signifikante Verminderung des oxygenierten Hämoglobins. Dieses Ergebnis spricht für eine Behinderung des Übertritts von Sauerstoff aus den Alveolen ins Blut und/oder für eine verminderte Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff (Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve). Der Anteil des reduzierten Hämoglobins war *post infectionem* bis auf den Wert 12 Stunden *p.i.* signifikant erhöht. Die Erhöhung dieses Wertes resultiert zum einen aus einer verminderten Oxygenierung des Hämoglobins und zum anderen aus einer verstärkten Ausnutzung des vorhandenen Sauerstoffs, wie die Untersuchung der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz bereits gezeigt hatte. Der Karboxyhämoglobinanteil veränderte sich im Verlauf unserer Untersuchungen nicht. Die Methämoglobinkonzentration war am 5. Tag *p.i.* signifikant erhöht, was eine Verminderung der Sauerstofftransportkapazität verursacht. Gleichzeitig wird durch die Bildung von Methämoglobin die Sauerstoffaffinität der verbleibenden Bindungsstellen erhöht, somit wird die  $O_2$ -Aufnahme in der Lunge erleichtert.

Weiterhin untersuchten wir Eigenschaften der Erythrozyten. Hierzu wurde venöses Blut verwendet. Dabei traten in den Messwerten Unterschiede im Hb-Wert zwischen den Messungen zur Blutgas- und der Blutbilduntersuchung auf. Die Diskrepanz bezüglich dieses Wertes erklärt sich wahrscheinlich durch die unterschiedlichen Untersuchungszeiträume. Des Weiteren traten Unterschiede in der Gesamtzahl der Erythrozyten, dem Hämatokrit, dem mittleren korpuskulären Volumen und dem mittleren Hämoglobingehalt des Einzelerythrozyten zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren auf. Da dieses Phänomen bereits vor der experimentellen Infizierung der Kälber beobachtet wurde, ist ein Einfluss durch die Infektion auszuschließen. In wie weit die Immunisierung einen Einfluss ausübte wurde nicht überprüft. Einflüsse der experimentellen Infizierung konnten in der Zusammenfassung aller Tiere für die Gesamtzahl der Erythrozyten (5 d *p.i.*), den Hb-Wert (4, 5 d *p.i.*) und den Hct (5 d *p.i.*) nachgewiesen werden. Zu den Messzeitpunkten lag für die jeweiligen Parameter eine signifikante Verminderung gegenüber *ante infectionem* ermittelten Werten vor. Im Gegensatz zu den von uns ermittelten Werten konnte LINDEN (1995 b) bereits 3 Stunden *p.i.* eine signifikante Verminderung des Hb-Wertes und der Erythrozytenzahl nachweisen. Jedoch war diese Verminderung methodisch bedingt. Ursächlich für die von uns erhobenen Werte verantwortlich dürften Hämorrhagien im Lungengewebe und/oder Thrombosierungen funktioneller Lungengefäße, welche die Anzahl der Erythrozyten reduzieren, sein. Somit wird deutlich, dass die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion bei den Kälbern nicht nur zur Beeinträchtigung der Sauerstoffaufnahme aus der Lunge und somit zur Reduktion der Effizienz der äußeren Atmung führt. Die Infektion vermindert zusätzlich die Sauerstofftransportkapazität des Blutes.

### **5.2.3 Kompensationsmechanismen zur Reduzierung von Auswirkungen der verminderten Effizienz der äußeren Atmung**

Die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion führt zur Verminderung der Effizienz der äußeren Atmung durch Störungen, vorwiegend von Diffusion, Perfusion und vermutlich der Distribution. Die Sauerstoffaufnahme war hierdurch beeinträchtigt, was sich in der Analyse der arteriellen Blutgase widerspiegelte. Um unter den Bedingungen einer Hypoxämie die Versorgung der Gewebe und Zellen (innere Atmung) dennoch aufrecht zu erhalten, sind eine Reihe regulatorischer Mechanismen nötig, welche sich in Blutgasparametern des venösen Blutes sowie in berechneten Werten darstellen lassen. Diese Untersuchungsparameter verdeutlichen somit die regulatorische Kapazität des Organismus bei insuffizienter äußerer Atmung.

Der venöse Sauerstoffpartialdruck war zu den Zeitpunkten 3, 6, 12 und 24 Stunden sowie 5 Tage *post infectionem* signifikant vermindert. Obwohl kein gemischt-venöses Blut zur Untersuchung verwendet wurde ist anzunehmen, dass zu den vier Zeitpunkten (3, 6, 12, 24 h *p. i.*) eine erhöhte Ausnutzung des im Blut vorhandenen Sauerstoffs vorlag, was sich in einer signifikanten Erhöhung der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz bei gleichzeitig gegenüber *ante infectionem* nahezu unverändertem Sauerstoffpartialdruck bei Halbsättigung ( $P_{50}$ ) zeigte. Zur selben Zeit war in diesem Untersuchungsabschnitt die venöse Sauerstoffsättigung signifikant vermindert. Die Werte für die  $P_{50}$  waren ab dem 2. Tag nach der experimentellen Infizierung signifikant erhöht, was eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve bedeutet. Es ist wahrscheinlich, dass am 5. Tag nach der Infizierung die Verminderung der  $S_vO_2$  durch die zu diesem Zeitpunkt vorliegende Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve hervorgerufen wurde. Die verminderte Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff erleichtert seine Abgabe an die Zellen (innere Atmung). Somit kann den Zellen trotz verminderter Effektivität der äußeren Atmung noch ausreichend Sauerstoff zur Verfügung gestellt werden.

Es werden hier zwei Reaktionsmechanismen des Organismus auf eine verminderte O<sub>2</sub>-Aufnahme aus der Umwelt deutlich: zum einen die verstärkte Ausnutzung des vorhandenen Sauerstoffs (a-vDO<sub>2</sub> steigt) und zum anderen eine leichtere Abgabe (P<sub>50</sub> steigt, Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve).

Einen weiteren Hinweis auf ein unzureichendes Sauerstoffangebot im Blut lieferten die Untersuchungen von pH-Wert, des Standardbasenüberschusses (SBE), des aktuellen Basenüberschusses (ABE) sowie der aktuellen und der Standardbikarbonatkonzentrationen unter Einbeziehung des Kohlendioxidpartialdruckes im arteriellen und venösen Blut.

Der pH-Wert des arteriellen Blutes war 24 Stunden sowie 3, 4 und 5 Tage *post infectionem* verringert, wobei eine signifikante Verminderung am 4. Tag nach der Infizierung zu verzeichnen gewesen ist. Der venöse pH-Wert blieb nahezu unverändert. Die sich im arteriellen Blut tendenziell entwickelnde und am 4. Tag *p.i.* signifikant nachweisbare Azidose könnte prinzipiell respiratorische und/oder metabolische Ursachen haben. Welche Form der Azidose bei den von uns untersuchten Kälbern vorlag, konnte durch die Betrachtung weiterer zum Säure-Basen-Haushalt gehörender Parameter des Blutes bestimmt werden. Die Untersuchungen ergaben, dass zusätzlich zum pH-Wert sowohl der Standard- als auch der aktuelle Basenüberschuss im arteriellen Blut 24 Stunden, 2 und 3 Tage *p.i.* signifikant vermindert waren. Im venösen Blut konnten signifikante Verminderungen des SBE 24 Stunden, 2 und 3 Tage *p.i.* und des ABE 24 Stunden und 2 Tage *p.i.* nachgewiesen werden. Der PCO<sub>2</sub> wies 24 Stunden und 2 Tage *p.i.* signifikant verminderte Werte im arteriellen und venösen Blut auf. Ebenso konnten wir 24 Stunden und 2 Tage *p.i.* signifikante Verminderungen von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> und SBC im arteriellen und venösen Blut nachweisen.

Aus der Betrachtung des PCO<sub>2</sub> (Hypokapnie) wird deutlich, dass CO<sub>2</sub>, hervorgerufen durch eine reflektorische Hyperventilation, vermehrt abgeatmet wurde.

Die respiratorisch bedingte Azidose wäre an eine Hyperkapnie gebunden. Dies wiederum würde Störungen der Ventilation der Lunge (obstruktive Lungenveränderungen) voraussetzen. Sowohl Obstruktionen als auch eine Hyperkapnie waren zu diesen Untersuchungszeitpunkten jedoch nicht nachzuweisen, sodass das Vorliegen einer respiratorischen Azidose auszuschließen war.

Metabolische Azidosen können im wesentlichen auf drei Wegen verursacht werden:

- 1) vermehrte Zufuhr von Säuren durch orale Aufnahme oder Infusionen oder ihre vermehrte Entstehung im Organismus bei Hypoxämie oder starker Muskelarbeit (Summationsazidose);
- 2) vermehrter Verlust von Basen oder Puffern, z. B. bei Diarrhoe, (Subtraktionsazidose) und
- 3) unzureichende Elimination von H<sup>+</sup>-Ionen bei Niereninsuffizienz (Retentionsazidose). Das Vorliegen einer metabolischen Azidose konnte durch die signifikante Verminderung der SBC, deren Veränderungen allein durch metabolische Einflüsse hervorgerufen wird, nachgewiesen werden.

Die klinischen und pathomorphologischen Untersuchungen der Kälber ergaben keinerlei Hinweise auf das Vorliegen einer Subtraktions- und/oder Retentionsazidose.

Für die metabolische Genese der Verminderung des pH-Wertes in Form einer Summationsazidose sprachen mehrere Faktoren. Kreislaufstörungen, bedingt durch Fieber (durch LPS von *Mannheimia haemolytica* A1 verursacht) und Endotoxinschock (Zentralisation des Blutkreislaufes) führen zur Hypoxie in der Körperperipherie. Resultierend aus dem Sauerstoffmangel im Gewebe entsteht möglicherweise eine anaerobe Stoffwechselsituation mit einer erhöhten Laktat-Produktion. Die Laktat-Konzentration im Blut wurde von uns nicht untersucht. Jedoch ist aus der Literatur bekannt, dass Störungen der Funktionen der äußeren Atmung, welche zur Verminderung des PO<sub>2</sub> im Blut führen, einen Anstieg des Laktatgehaltes

im Blut verursachen (COGHE et al., 2000). Weiterhin kann davon ausgegangen werden, dass die vermehrte Arbeit der Atmungsmuskulatur bei gleichzeitig vermindertem PO<sub>2</sub> ebenfalls zum Anstieg der Laktatkonzentration beigetragen hat. Der pH-Wert des venösen Blutes war nahezu unverändert. Die Betrachtung der Werte des SBE und des ABE ließen den Schluss zu, dass eine erhöhte Laktatkonzentration im venösen Blut durch die Pufferbasen kompensiert werden konnte.

### **5.3 Pathogenese der Funktionsstörungen und klinisches sowie pathomorphologisches Erscheinungsbild der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion beim Kalb**

#### **5.3.1 Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haemolytica* A1 und ihre Wirkung auf den Kälberorganismus**

Die bedeutsamsten Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haemolytica* A1 sind das Lipopolysaccharid (Endotoxin, LPS) und das Leukotoxin (Lkt). Im Verlauf der Entstehung einer durch diesen Erreger verursachten Erkrankung des Respirationstraktes sind der Wirkung dieser beiden Toxine jedoch andere Pathogenitätsfaktoren vorangestellt. Zu ihnen zählen Fimbrien, das Kapselpolysaccharid (CPS) und die Proteine der äußeren Membran (OMP), dabei insbesondere die eisenregulierten Proteine der äußeren Membran (IROMP). Die in der zuletzt genannten Gruppe der von *Mannheimia haemolytica* A1 gebildeten Produkte führen nicht auf direktem Wege zu Schädigungen des Respirationstraktes. Ihre Bedeutung liegt in den Eigenschaften, den Erreger zu maskieren (CPS) und somit der zellulären Abwehr zu entziehen (BROGDEN et al., 1989; JEYASEELAN et al., 2002; KUMAR et al., 1991; WHITELEY et al., 1990), die Anheftung durch Fimbrien an das Alveolarepithel zu realisieren (CONLON et SHEWEN, 1993; MORCK et al., 1988; WHITELEY et al., 1992) und dem Erreger mittels IROMPs ein logarithmisches Wachstum durch Bindung eisenhaltiger wirtseigener Proteine zu ermöglichen (EWERS et al., 2004; GATEWOOD et al., 1994; JEYASEELAN et al., 2002; POTTER et al., 1999; SRINAND et al., 1996 a). Die eisenbindenden Proteine hatten für uns eine untergeordnete Bedeutung, da die Kälber mit voll virulenten Erregern, welche sich in ihrer logarithmischen Wachstumsphase befanden, infiziert wurden. Somit war das Leukotoxin (Bildung nur in der logarithmischen Wachstumsphase) bereits vorhanden. Da IROMPs von *Mannheimia haemolytica* A1 unter eisenreduzierten Wachstumsbedingungen ausgebildet werden, besitzen diese Proteine vor allem bei Feldinfektionen eine Bedeutung. Unter diesen Bedingungen deckt der Erreger seinen Eisenbedarf aus wirtseigenen eisenträgenden Proteinen. Aus diesem Grund ist es durchaus denkbar, dass eine bestehende Eisenmangelanämie der Kälber, die aus der Infektion mit *Mannheimia haemolytica* A1 resultierenden Konsequenzen hinsichtlich der Sauerstofftransportkapazität des Blutes verstärken würde und sich eine Hypoxämie schneller und heftiger ausbilden könnte.

Bei den von uns in das Versuchsvorhaben einbezogenen Tieren waren vermutlich an der Entstehung von Lungenveränderungen in erster Linie das LPS und das Lkt neben dem CPS und den Fimbrien beteiligt.

Das CPS hat zusätzlich zur Aufgabe, der Erleichterung der Anheftung durch die Verbindung mit Surfactant die Eigenschaft, die Phagozytoserate der neutrophilen Granulozyten zu verschlechtern, was als aktiver Schutz des Erregers gegen seine Eliminierung zu bewerten ist (BROGDEN et al., 1989; JEYASEELAN et al., 2002; WHITELEY et al., 1990). Somit ermöglicht das CPS neben Fimbrien, Neuraminidasen und sauren Proteasen die Anheftung und Koloni-

sierung des Erregers in der Lunge. Hinsichtlich direkter Schädigungen des Gewebes durch das CPS liegen im Schrifttum keine Hinweise vor.

Im Gegensatz dazu führen LPS und Lkt dieses Erregers zu direkten Schädigungen von Zellen des pulmonalen Gewebes aber auch der Gefäße und Leukozyten (insbesondere neutrophile Granulozyten).

#### 5.3.1.1 Einfluss des Endotoxins von *Mannheimia haemolytica* A1 auf die Funktionen der äußeren Atmung

Das Endotoxin (LPS) von *Mannheimia haemolytica* A1 ist in der Lage, über seine Lipid A Komponente in Zellen unterschiedlicher Gewebe einzudringen. In den Zellen kann LPS verschieden lokalisiert sein, z. B. auf der Zelloberfläche, im Zytosol, an den Mitochondrien, an Lysosomen, im endoplasmatischen Retikulum und/oder im Zellkern (WHITELEY et al., 1992). Die verschiedenen Lokalisationsmöglichkeiten führen zu unterschiedlichen Reaktionen der Zellen auf das LPS. Da das Endotoxin in unterschiedlichsten Zellen lokalisiert sein kann, werden eine Reihe verschiedener Substanzen freigesetzt, die eine zentrale Rolle im Entzündungsprozess spielen. Aus der Freisetzung von LPS durch den Erreger in das Entzündungsexsudat mit nachfolgender Akkumulation in neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Endothelzellen kann geschlussfolgert werden, dass freies LPS, wenn überhaupt, nur sehr kurzzeitig nachgewiesen werden kann. Neuere Untersuchungen belegen, dass LPS nicht in freier Form sondern an ein Protein, dem LPS bindenden Protein, gekoppelt vorliegt (SCHROEDL et al., 2001). Die Bindung von Endotoxin an Zellen und/oder das LPS bindende Protein erklären das lediglich sporadisch nachgewiesene freie LPS bei den von uns untersuchten Kälbern nach der experimentellen Infizierung. Dennoch wird die LPS bedingte Wirkung deutlich. So zeigten sich bei der pathomorphologischen Untersuchung der Kälber Lungenveränderungen, welche der Wirkung des LPS zuzuschreiben sind. Es waren fibrinopurulente Entzündungen, Ödeme, Hyperämien, Hämorrhagien und herdförmige Nekrosen an den Kälberlungen nachweisbar. Dieses Ergebnis stimmt mit den von BROGDEN et al. (1995 a, b) und SLOCOMBE et al. (1990 a, b) beschriebenen Schädigungen überein. Die Veränderungen führen zu Beeinträchtigungen der Diffusion (Verminderung des zur Verfügung stehenden Alveolarepithels durch Nekrosen, Erhöhung der Diffusionsstrecke im Bereich der alveolokapillären Membran durch Ödembildung). Weiterhin war vermutlich die Perfusion durch Thrombenbildung und Hämorrhagien im Lungengewebe gestört. Beeinträchtigungen von Ventilation (restriktive Ventilationsstörungen) und Perfusion führten somit zur Störung der Distribution. Es kann also geschlussfolgert werden, dass allein die Wirkung des Endotoxins von *Mannheimia haemolytica* A1 die Funktionen der äußeren Atmung beim Kalb nachhaltig negativ beeinflusste.

Die bereits 6 Stunden *post infectionem* eintretende Erhöhung der Rektaltemperatur war gleichfalls als Folge der Endotoxinwirkung zu bewerten. Hierbei wird durch die Wirkung des LPS auf Endothelzellen und Alveolarmakrophagen Interleukin 1 (IL 1) freigesetzt, was zur Bildung von Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) führt (LEITE et al., 2003; PAULSON et al., 1990; WHITELEY et al., 1991 b, 1992). Das PGE<sub>2</sub> wiederum ist in der Lage, auf Grund seiner geringen Molmasse die Blut-Hirn-Schranke zu passieren und dort die Sensitivität der temperaturempfindlichen Neurone zu verändern, sodass es zur Fieberreaktion kommt.

Eine weitere Wirkung des Endotoxins von *Mannheimia haemolytica* A1 in Bezug zur Pathogenese der Störung von Funktionen der äußeren Atmung besteht darin, dass es in hohen Konzentrationen zum Absterben von Endothelzellen, Makrophagen und Monozyten führt. Mittlere Dosen hingegen aktivieren diese Zellen und induzieren die Freisetzung einer Viel-

zahl von Entzündungsmediatoren. Weiterhin erfolgt unter Einfluss von LPS eine Erhöhung der Mitoserate von Lymphozyten und eine Verstärkung der Phagozytoseaktivität neutrophiler Granulozyten. Durch die LPS-induzierte Aktivierung von Endothelzellen erfolgt eine Freisetzung von Arachidonsäure, was zur vermehrten Anheftung neutrophiler Granulozyten an die Endothelzellen führt. Somit ist LPS mit verantwortlich für die Infiltration der Luftwege durch neutrophile Granulozyten. Der Einstrom neutrophiler Granulozyten in den Respirationstrakt gilt in der Pathogenese der durch *Mannheimia haemolytica* A1 induzierten Pneumonie als Hauptvoraussetzung für die Entstehung von Läsionen des Lungengewebes, welche zur Störungen der Lungenfunktion führen (BREIDER et al., 1990; PAULSON et al., 1990; WHITELEY et al., 1991 b).

Die von uns durchgeführten Untersuchungen zum Differenzialblutbild spiegeln diese Aussagen wider. So war 12 und 24 Stunden *post infectionem* eine signifikante Erhöhung der Leukozytenzahl nachweisbar. Zu den gleichen Messzeitpunkten waren die Anzahlen der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten signifikant erhöht. Zusätzlich konnten wir 6, 12 und 24 Stunden *post infectionem* signifikant vermehrt stabkernige neutrophile Granulozyten nachweisen, was einer Kernlinksverschiebung entspricht und für eine vermehrte Neubildungsrate neutrophiler Granulozyten spricht, feststellen. Die Monozytenzahl war zwischen 12 und 24 Stunden *post infectionem* signifikant erhöht. Ursächlich hierfür ist die LPS-bedingte Erhöhung der Aktivität der Zellen verantwortlich. Die sich anschließende Verminderung dieser Zellen spricht für eine Konzentrationserhöhung von LPS im Blut, welche zur Lysis der Monozyten führte. Die Konzentrationserhöhung von LPS ist möglicherweise die Folge des Absterbens von LPS tragenden Zellen, da mit dem Zelltod LPS freigesetzt werden könnte. Wahrscheinlich ist jedoch auch, dass es durch die Vermehrung von *Mannheimia haemolytica* A1 im Respirationstrakt zur weiteren Produktion und Freisetzung von Endotoxin gekommen war. Im Gegensatz zu den Monozyten verringerte sich die Anzahl der Lymphozyten zunächst zu den Untersuchungszeitpunkten 3, 6 und 12 Stunden *post infectionem*. Die Verminderung konnte statistisch nicht gesichert werden. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass eine höhere Empfindlichkeit der Lymphozyten im Vergleich zu Monozyten gegenüber dem Endotoxin von *Mannheimia haemolytica* A1 vorliegen könnte. Die zeitlich frühere und offenbar sensiblere Reaktion könnte eine „pufferähnliche“ Wirkung gehabt haben (Bindung von LPS an Lymphozyten), sodass eine Reduktion der Konzentration von LPS vorlag, welche zur Aktivierung der Monozyten führte. Hinsichtlich dieser These konnten jedoch im Schrifttum keine Aussagen gefunden werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Endotoxin von *Mannheimia haemolytica* A1 als freie Substanz im Blut der Kälber nicht bzw. nur punktuell bei einzelnen Tieren nach der experimentellen Infektion jedoch die aus seiner Wirkung entstehenden Folgen nachzuweisen waren. Es ist davon auszugehen, dass die Empfindlichkeit einer Vielzahl verschiedener Zellen des Kälberorganismus gegenüber dem *Mannheimia-haemolytica*-A1-LPS zu einer großen Anzahl pathomorphologischer Reaktionen führt, welche in der Endkonsequenz Störungen der Funktionen und somit eine Verminderung der Effizienz der äußeren Atmung verursachen.

### 5.3.1.2 Pathophysiologische Reaktionen des Kälberorganismus auf das Leukotoxin von *Mannheimia haemolytica* A1 und deren Konsequenzen

Die Speziespezifität des *Mannheimia-haemolytica*-A1-Leukotoxins beruht auf seiner Eigenschaft, an das bovine  $\beta_2$ -Integrin, welches sich auf der Zelloberfläche neutrophiler Granulozyten befindet, zu binden. Das  $\beta_2$ -Integrin besteht aus einer  $\alpha$  (CD 11) und einer  $\beta$  (CD 18) Un-

tereinheit. Im Schrifttum gibt es unterschiedliche Angaben darüber, welche der Untereinheiten für die Spezisspezifität verantwortlich ist (DESPANDE et al., 2002; JEYASEELAN et al., 2002; WESSLY-SZPONDER et al., 2005) Unabhängig davon wird die Bindung des Lkt an das  $\beta_2$ -Integrin neutrophiler Granulozyten als initialer Schritt hinsichtlich pathomorphologischer Veränderungen des Lungengewebes bei der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion der Kälber bewertet. Hierbei löst die Anheftung eine Zerstörung von neutrophilen Granulozyten aus. Die dadurch freigesetzten lytischen Enzyme führen zu teilweise massiven Lungengewebveränderung, wie sie die von uns untersuchten Kälber zeigten und von VAN DEN INGH et al. (1990), WEISS et al. (1991), WHITELEY et al. (1992) und YOO et al. (1995) beschrieben wurden. Die so hervorgerufenen Gewebsläsionen beeinträchtigen die Funktionen der äußeren Atmung in Abhängigkeit ihrer Ausprägung. Je umfangreicher das pulmonale Gewebe geschädigt ist, um so stärker werden die Funktionen beeinträchtigt. Zusätzlich zu den bereits diskutierten Schädigungen durch Substrate neutrophiler Granulozyten reagieren auch andere Zellen auf den Kontakt mit dem Leukotoxin. Mastzellen erhöhen die Produktion und Freisetzung von Histamin. Dies ruft die Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur, pulmonale Vasokonstriktion und die Erhöhung der mikrovaskulären Permeabilität hervor (ADUSU et al., 1994). Diese Reaktionen beeinflussen Ventilation (restriktive Ventilationsstörungen), Perfusion und bei Austritt entzündlichen serösen Exsudats in den perivaskulären Raum auch die Diffusion. Zusätzlich bilden diese Reaktionen einen chemotaktischen Reiz auf neutrophile Granulozyten. Der Einstrom von neutrophilen Granulozyten ins Blut konnte bei der Untersuchung des Differenzialblutbildes nachgewiesen werden. Die pathomorphologischen Untersuchungen des Lungengewebes zeigten zum Teil ausgedehnte Ödematisierungen des Lungengewebes, was die Aussage zur Störung der Diffusion unterstützt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Leukotoxin durch die Zerstörung von neutrophilen Granulozyten und die somit frei werdenden lytischen Enzyme dieser Zellen eine massive Schädigung des Lungengewebes hervorruft, was zur Störung der Funktionen der äußeren Atmung führt.

#### 5.3.1.3 Klinische Reaktionen des Kälberorganismus, Verhalten von Markern einer akuten Entzündung und pathomorphologische Veränderungen in Folge einer experimentellen Infizierung mit *Mannheimia haemolytica* A1

Klinisch war bereits 6 Stunden *post infectionem* eine Erhöhung der Rektaltemperatur nachweisbar. Der Anstieg ist als eine Folge der LPS-bedingten Erhöhung der Konzentration von Prostaglandin E<sub>2</sub> zu interpretieren. Die von DESMECHT (1995 a) und LINDEN (1995 b) beschriebene Verminderung der Rektaltemperaturen dürften Ausdruck eines Endotoxin bedingten Schocks sein. Eine bereits 3 Stunden *post infectionem* einsetzende Erhöhung der Atemfrequenzen der Kälber auf bis zu 300 % der *ante infectionem* gemessenen Werte war Ausdruck eines akut verminderten P<sub>a</sub>O<sub>2</sub>. In Betracht gezogen werden muss jedoch gleichfalls, dass die erhöhte Atemfrequenz Ausdruck temperaturregulatorischer Reaktionen (vermehrte Totraumventilation) des Kälberorganismus sein könnte. Hiefür sprechen die Untersuchungsergebnisse von REEVE-JOHNS (2001). Der akute Sauerstoffmangel im Blut spiegelt sich in den Werten der Blutgasanalyse wider. Verantwortlich dafür sind Schädigungen des Lungenparenchyms durch *Mannheimia haemolytica* A1, welche die bereits diskutierten Beeinflussungen von Funktionen der äußeren Atmung hervorrufen. Die Ausmaße der Lungenschädigungen wurden einerseits durch die pathomorphologischen Untersuchungen deutlich. Andererseits belegt die Mortalitätsrate von 30 % innerhalb von 48 Stunden *post infectionem* den aggressiven Verlauf dieser Erkrankung. Die Tiere sind vermutlich auf Grund eines

Endtoxinschocks verwendet. Weitere Hinweise für die akut bis perakut verlaufende Pneumonie lieferten die Ergebnisse der Untersuchungen des Blutes in Bezug auf Akute-Phase-Proteine (Haptoglobin, Fibrinogen). Obwohl Haptoglobin und Fibrinogen als sensitive Marker akuter Entzündungen gelten, sind im Schrifttum sehr unterschiedliche Angaben über Grenzwerte zu finden (ECKERSALL, 2004; HUMBLET et al., 2004; KATHO et al., 1999; YOSHIOKA et al., 2002; YOUNG et al., 1995). Die Begründung hierfür liegt u. a. in den unterschiedlichen Analysemethoden der jeweiligen Autoren. Da unsere Untersuchungen jedoch den Verlauf der Konzentrationen von Haptoglobin und Fibrinogen wiedergeben, sind aus den gewonnenen Werten durchaus Rückschlüsse auf das Vorliegen akuter entzündlicher Prozesse zu ziehen. Bereits 12 Stunden *post infectionem* konnten wir in unseren Untersuchungen einen Anstieg der Haptoglobinkonzentration auf etwa das Dreißigfache der *ante infectionem* ermittelten Werte beobachten. Dieser frühe und sehr dramatische Anstieg verdeutlicht den akuten Verlauf der Erkrankung. Untersuchungen von SEIDLER et al. (2002) belegen, dass insbesondere Endotoxin zur Erhöhung der Haptoglobinkonzentration führt. Diese Untersuchungsergebnisse und die von uns ermittelten Werte lassen den Schluss zu, dass eine hohe LPS-Konzentration vorgelegen haben muss, obwohl wir in unseren Untersuchungen freies Endotoxin nicht oder nur sporadisch bei einzelnen Tieren nachweisen konnten. Da LPS bindendes Protein nicht bestimmt wurde, könnte somit eine schnell und stark ansteigende Haptoglobinkonzentration als Marker auf eine hohe LPS-Konzentration hinweisen. Zusätzlich beachtet werden muss jedoch, dass auch die durch die Wirkung des Leukotoxins hervorgerufenen entzündlichen Reaktionen im weiteren Verlauf der Erkrankung zum erhöhten Haptoglobinspiegel beigetragen haben könnten. Hierzu konnten im Schrifttum keine dementsprechenden Angaben gefunden werden.

Im Gegensatz zum Haptoglobin reagiert das Fibrinogen mit einem weitaus geringeren Anstieg der Serumkonzentration nach der experimentellen Infizierung mit *Mannheimia haemolytica* A1. Eine signifikante Erhöhung konnte auch erst zu einem späteren Zeitpunkt (2 d *p. i.*) festgestellt werden. Bei der Beurteilung der Signifikanz des Anstieges gegenüber *ante infectionem* ermittelten Werten, legten wir die 1 Woche *a. i.* und direkt *ante infectionem* ermittelten Messwerte zugrunde. Die vor diesen Messzeitpunkten ermittelten Fibrinogenkonzentrationen schienen durch die zuvor stattgefundene Immunisierung beeinflusst zu sein, was jedoch nicht näher untersucht wurde. Interessanterweise war die Haptoglobinkonzentration zu diesen Zeitpunkten nicht erhöht. Dies kann als Hinweis darauf gelten, dass insbesondere das Endotoxin zur Erhöhung der Haptoglobinkonzentration geführt hatte.

Die durchgeführten Sektionen aller in das Versuchsvorhaben einbezogenen Tiere ergab sowohl qualitativ als auch quantitativ ein sehr heterogenes pathomorphologisches Untersuchungsergebnis der Lungen. Eine Heterogenität der Lungenveränderung bei einer *Mannheimia-haemolytica-A1*-Infektion wurde vielfach in der Literatur beschrieben. Überraschend war jedoch für uns die große Spannweite hinsichtlich des Ausmaßes der Veränderungen. Sie deutet auf eine variable Empfindlichkeit der Kälber gegenüber dem Erreger hin. Welche Ursachen hierfür verantwortlich sind lässt sich nur schwer ermitteln. Ausgeschlossen werden konnte ein Zusammenhang mit der Höhe des Antikörpertiters gegen das Kapselpolysaccharid und das Leukotoxin von *Mannheimia haemolytica* A1. Auch eine Beeinflussung durch das Prozedere der Infizierung selbst war nicht gegeben, da alle Kälber die gleiche Infektionsdosis mit gleichem Applikationsmodus aus derselben Kultur erhielten. Ebenso war der Einfluss äußerer Bedingungen (Umweltfaktoren, Stress) für alle Tiere annähernd gleich. Da die Tiere aus dem gleichen Bestand stammten, kann davon ausgegangen werden, dass der Immunstatus der Kälber ähnlich war. Auch rassebedingte Unterschiede in der Empfindlichkeit ge-



genüber prädisponierenden Faktoren innerhalb der von uns untersuchten Kälberpopulation waren auszuschließen. Nicht überprüft wurde, wie stark die körperlichen Reaktionen der Kälber auf gleiche äußere Einflüsse war. Aus dem Schrifttum ist bekannt, dass „Stress“-Situationen zur erhöhten Ausschüttung von Glucocorticoiden, insbesondere Kortisol, führen (WERNICKI et al., 2003), was zur verminderten Anzahl von Leukozyten und Verringerung der Phagozytoseaktivität neutrophiler Granulozyten führen kann. Somit wird die Kolonisierung von Pneumonieerregern wie *Mannheimia haemolytica* A1 erleichtert. Die Steigerung der Kortisolkonzentration im Organismus dürfte bei gleichem Stressor individuell verschieden sein, sodass sich dadurch die unterschiedliche Ausprägung von Lungenveränderungen erklären ließe. In der Literatur wird beschrieben, dass andere Pneumonieerreger prädisponierend für eine *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion wirken. Ein prädisponierender Einfluss anderer Pneumonieerreger konnte jedoch durch die bakteriologischen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden.

#### Fazit:

Die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion verursacht klinisch (Erhöhung von Atemfrequenz und Rektaltemperatur) und serologisch (Anstieg der Konzentrationen von Haptoglobin und Fibrinogen) nachweisbare Veränderungen sowie pathomorphologisch sichtbare Alterationen der Lunge. Diese Veränderungen führen zu Störungen der Funktionen der äußeren Atmung und dadurch zur Minderung ihrer Effizienz.

#### **5.4 Betrachtungen zu möglichen Einflussnahmen differenzialdiagnostisch bedeutsamer Erreger auf die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion**

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden die Kälber bezüglich prädisponierend auf die *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion wirkende Erreger überprüft. Zum einen führten wir serologische Untersuchungen der Tiere auf Antikörper gegen virale Infektionen, welche Pneumonien hervorrufen können, durch. Hierbei konnten keine Antikörper gegen PIV-3, BHV-1, BRSV und BVD-Viren nachgewiesen werden. Die Schlussfolgerung hieraus ist, dass virale Infektionen sowohl als prädisponierende als auch als synergistische Faktoren nicht in Betracht zu ziehen sind.

Ebenfalls negativ verliefen die Untersuchungen auf Antikörper gegen *Salmonella* ssp.. Diese Untersuchung galt dem Ausschluss einer Immunsuppression durch diese Erreger.

Der prozentuale Nachweis von Antikörpern gegen *M. bovis* hingegen ergab bei einzelnen Tieren *ante* aber auch *post infectionem* positive Werte. Interessanterweise wies jedoch keines der Kälber zu mehr als einem Untersuchungszeitpunkt ein positives Ergebnis auf. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass es sich hierbei um zufällige Befunde handelt, und eine *M. bovis* Infektion als Prädisposition wenig wahrscheinlich war.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen von Nasentupferproben wiesen lediglich bei zwei Kälbern zu jeweils einem Untersuchungszeitpunkt *ante infectionem* einen positiven Nachweis auf *Acholeplasma laidlawii* auf. Diese Positivergebnisse sind wie die serologischen Untersuchungen auf Antikörper gegen *M. bovis* zu bewerten. Es handelt sich hierbei also um einen zufälligen Befund, welcher keine Bedeutung im Sinne einer Prädisposition hat.

Die Untersuchungsergebnisse von Nasentupferproben auf *Pasteurella* ssp. einschließlich *Mannheimia haemolytica* A1 wiesen eine deutliche zeitliche Trennung auf. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes vor der experimentellen Infizierung konnte kein positiver Nachweis auf *Mannheimia haemolytica* A1 geführt werden. Im Gegensatz dazu

wurde bei jedem Kalb zumindest zu einem Zeitpunkt *ante infectionem* *P. multocida* nachgewiesen. Da zu diesen Untersuchungszeitpunkten keinerlei Anzeichen für Atemwegserkrankungen bei den Tieren vorlagen und der Erreger ebenso wie *Mannheimia haemolytica* A1 zur normalen Keimflora des Nasen-Rachen-Raumes beim Rind zählt, sind diese Ergebnisse als unbedenklich einzustufen und dürften nicht mit dem späteren Erkrankungsgeschehen im Zusammenhang stehen.

*Post infectionem* war der aus Nasentupferproben vorrangig nachzuweisende Erreger *Mannheimia haemolytica* A1. Auch Mischinfektionen mit *P. multocida* wurden gefunden. Diese Ergebnisse belegen den Erfolg der durchgeführten experimentellen Infizierung.

### **5.5 Zusammenhang zwischen dem Ausmaß bakteriologischer Kolonisation, pathomorphologischen Veränderungen der Lunge und dem Schweregrad der Erkrankung**

Im Rahmen der pathomorphologischen Untersuchung der Kälber wurden neben der Bestimmung von Quantität und Qualität der Lungenveränderungen Pobenentnahmen für die bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Hierbei wurden die Proben (verändertes Lungengewebe, Hauptbronchien, Trachea, Tonsillen, Mediastinallymphknoten) auf *Mannheimia haemolytica* A1, *P. multocida* und *M. bovis* untersucht. Bei 7 von den der Sektion zugeführten Kälbern konnte in jeder der 5 Proben ein positiver Erregernachweis geführt werden. Bei den anderen 13 Tieren war in mindestens einer untersuchten Probe der bakteriologische Nachweis negativ. Sechs der 7 bakteriologisch komplett positiven Tiere verendeten 1 bzw. 2 Tage nach der experimentellen Infizierung. Bei diesen sechs Kälbern konnten im veränderten Lungengewebe, den Hauptbronchien, der Trachea und den Mediastinallymphknoten ausschließlich *Mannheimia haemolytica* A1 nachgewiesen werden. Die Untersuchung der Tonsillen dieser Kälber ergab für 3 Tiere Mischinfektionen (2 mal *Mannheimia haem.* A1, *P. mult.*, und 1 mal *Mannheimia haem.* A1 und *M. bovis*) und bei drei Kälbern Monoinfektionen (2 mal *Mannheimia haem.* A1, 1 mal *P. mult.*). Das siebente Kalb verendete unmittelbar vor Sektionsbeginn. Im untersuchten Probenmaterial dieses Tieres konnte in jeder Probe *Mannheimia haemolytica* A1 nachgewiesen werden. Weiterhin wurde festgestellt, dass die Quantität der Lungenveränderungen der sieben Kälber sehr ausgeprägt war, wobei bei vier vorzeitig verendeten Kälbern und dem Tier, welches direkt vor der Sektion verendete, die stärksten Lungenveränderungen aller untersuchten Tiere vorlagen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass die individuelle Empfindlichkeit der Kälber gegenüber *Mannheimia haemolytica* A1 stark variierte. Die Variabilität dürfte in hohem Maße von der Sensibilität des Einzeltieres gegenüber prädisponierenden Faktoren abhängig sein. Hierbei wiederum stehen wahrscheinlich individuelle Faktoren im Vordergrund, da ein Einfluss biotischer Faktoren serologisch nicht nachweisbar war und mikrobiologisch differenzialdiagnostisch bedeutsame Erreger nur in den Tonsillen gefunden wurden. Hinzu kommt, dass es bei den anderen 13 untersuchten Kälbern nicht gelang, aus jeder Probe Erreger nachzuweisen und die Quantität der Lungenveränderungen zum Teil deutlich niedriger war. Auch abiotische Faktoren konnten als Ursache für die Variabilität ausgeschlossen werden, da die Kälber unter gleichen Haltungsbedingungen untergebracht waren. Diese Untersuchungsergebnisse unterstreichen den Charakter der *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion als Faktorenkrankheit. Neben biotischen und abiotischen prädisponierenden Faktoren dürfte auch die interindividuelle Sensibilität des Kalbes die Morbidität und die Intensität der Erkrankung beeinflussen.