

4. Ergebnisse

4.1 Klinisch gesunde Kälber (UA 1)

Erstes Ziel dieses Untersuchungsabschnittes war es, die Spannweiten sowie die intra- und inter-individuellen Streuungen der Mediatoren in den verschiedenen Untersuchungsmedien AKO [je ml AKO, je 100 l Exhalat], broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit und Serum für Kälber ohne klinische Hinweise auf respiratorische Erkrankungen zu bestimmen. Anschließend wurden statistische Abhängigkeiten zwischen den Mediatoren des AKO (8-Isoprostan, Ammonium, Harnstoff, Nitrit, Gesamtprotein, pH-Wert) und den Kenngrößen der Kondensatgewinnung untersucht. Des Weiteren war zu testen, ob im Atemkondensat eine Abhängigkeit vom Alter der Tiere, von der Fütterung oder von den Kenngrößen der Ventilation vorlag. Ein möglicher Einfluss der Fütterung wurde auch auf die im Serum ermittelten Konzentrationen einzelner Substanzen geprüft. Zusätzlich wurden die nachgewiesenen Inhaltsstoffe auf statistische Abhängigkeiten zwischen den Konzentrationen im AKO, im Serum und in der BALF hin untersucht.

4.1.1 Kenngrößen der AKO-Gewinnung

Als Kenngrößen zur Standardisierung der AKO-Gewinnung wurden für den ersten Untersuchungsabschnitt die aufgewendete Sammelzeit und die Rektaltemperatur der 12 Kälber, die je Zeiteinheit und auch je 100 Liter Exhalat gewonnene Kondensatmenge sowie deren Abhängigkeit von folgenden expiratorischen Kenngrößen untersucht: maximale expiratorische Atmungsstromstärke [V'_{maxex}], expiratorisches Atemzugvolumen [V_{tex}], expiratorisches Atemzugvolumen/kg KM [$V_{tex}/kg\ KM$], expiratorisch ermitteltes Atemminutenvolumen [EMV], Atmungsfrequenz [AF]. Zusätzlich wurde der Einfluss der ventilatorischen Parameter auf das gewonnene AKO-Volumen [ml/min, ml/100 l] statistisch ausgewertet. Messungen, bei denen ein unregelmäßiges Atmungsmuster der Tiere zu beobachten war, wurden nicht berücksichtigt. Tab. A 14 und A 15 fassen die numerischen Daten der nachfolgend beschriebenen Kenngrößen zusammen.

Rektaltemperatur: Über den gesamten Untersuchungszeitraum wurde eine morgendliche Bestimmung der Rektaltemperatur durchgeführt. Diese schwankte bei den Kälbern zwischen 37,5 und 39,4 °C (Median: 38,5 °C). Zwischen dem 2. und 7. Lebensmonat konnte eine signifikante Verminderung der Rektaltemperatur beobachtet werden.

Ventilatorische Kenngrößen: Unter physiologischen Bedingungen konnte bei Kälbern ohne klinische Hinweise auf Veränderungen innerhalb des Respirationstraktes ein Anstieg der maximalen expiratorischen Atmungsstromstärke, des expiratorischen Atemzugvolumens und auch des expiratorischen Atemminutenvolumens zwischen dem 2. und 7. Lebensmonat nachgewiesen werden. Das in Bezug auf die Körpermasse der Kälber berechnete Atemzugvolumen änderte sich zwischen dem 2. und 5. Lebensmonat nicht, erhöhte sich dann bis zum Ende der Untersuchungen ebenfalls signifikant. Die Atmungsfrequenz sank mit dem Älterwerden der Tiere.

Sammelzeit: Die zur AKO-Gewinnung benötigte Sammelzeit der Kälber lag im Mittel bei 16 Minuten je Tier (Spannweite: 9,0 - 29,0 min). Zusätzlich war ein altersbedingter signifikanter Abfall zwischen dem 2. und 6. Lebensmonat zu beobachten.

AKO/min: Das je Minute kondensierte AKO-Volumen stieg zwischen dem 4. und 7. Lebensmonat der Kälber signifikant an. Im Mittel konnten bei der Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes zwischen 0,1 - 0,5 ml/min (Median: 0,3 ml/min) aufgefangen werden.

AKO/100 l Exhalat: Die je 100 l Exhalat abgeschiedene AKO-Menge verminderte sich mit dem zunehmenden Alter und der Körpergröße der Tiere nur zwischen dem 2. und 4. Lebensmonat signifikant. Innerhalb des gesamten Versuchszeitraumes konnten bei den Tieren zwischen 0,4 bis 2,6 ml/100 l (Median: 1,1 ml/100 l) als Kondensat gewonnen werden (Tab. A 14).

Abhängigkeit der AKO-Menge (je Minute, je 100 l Exhalat) von ventilatorischen Parametern: Der Einfluss der Atmungsstromstärke, des Atemzugvolumens, des Atemzugvolumens je kg/KM, des expiratorischen Atemminutenvolumens und der Atemfrequenz der Tiere auf die zu gewinnende AKO-Menge [ml/min, ml/100 l] wurde mittels linearer Regressionsanalyse und der Rangkorrelation nach Spearman untersucht. Wie die Tab. A 16 zusammenfassend widerspiegelt, konnte mit steigender maximaler Expirationsgeschwindigkeit, grösseren expiratorischen Atemzug- sowie Atemminutenvolumina auch mehr Exhalat je Minute gewonnen werden. Im Gegensatz korrelierte das je 100 Liter Exhalat kondensierte AKO-Volumen negativ mit folgenden expiratorischen Kenngrößen der Ventilation: maximale Atmungsstromstärke, Atemzugvolumen (auch je kg KM), Atemminutenvolumen.

4.1.2 Physiologische Konzentrationen der untersuchten AKO-Inhaltsstoffe

Gesamtprotein

a) Atemkondensat: Der Median der Eiweiß-Konzentration lag bei 2,8 µg/ml AKO (Schwankungsbreite: 0,5 – 34,3 µg/ml AKO) bzw. 2,6 µg/100 l Exhalat (Schwankungsbreite: 0,9 – 24,0 µg/100 l Exhalat). Dabei war die Protein-Konzentration einer AKO-Probe, auf Grund der methodischen Nachweisgrenze von 0,5 µg/ml AKO, nicht zu bestimmen. Die intra- und inter-individuellen Verteilungen der Ergebnisse sind in den Abb. 7 und 8 zu erkennen.

Einfluss von Alter oder Fütterung auf die Gesamtprotein-Konzentration im Atemkondensat:

Bei Betrachtung des gesamten Probenahmezeitraumes war keine statistisch gesicherte Abhängigkeit des Alters der untersuchten Kälber auf die Gesamtprotein-Konzentration je ml AKO und auch je 100 l Exhalat feststellbar (Abb. 7). Ein möglicher Einfluss der Fütterung wurde geprüft, indem die an gefütterten Tieren (7. Lebensmonat) ermittelten Protein-Konzentrationen den an ungefütteten Tieren (Sektionstag) ermittelten Protein-Konzentrationen gegenübergestellt wurden. Eine fütterungsbedingte Änderung der Gesamtprotein-Konzentration konnte in Bezug auf das AKO- und das Exhalat-Volumen nicht beobachtet werden (Abb. 7).

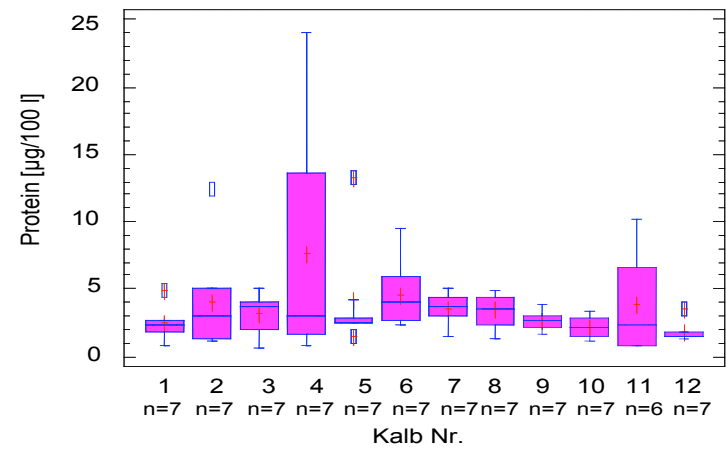
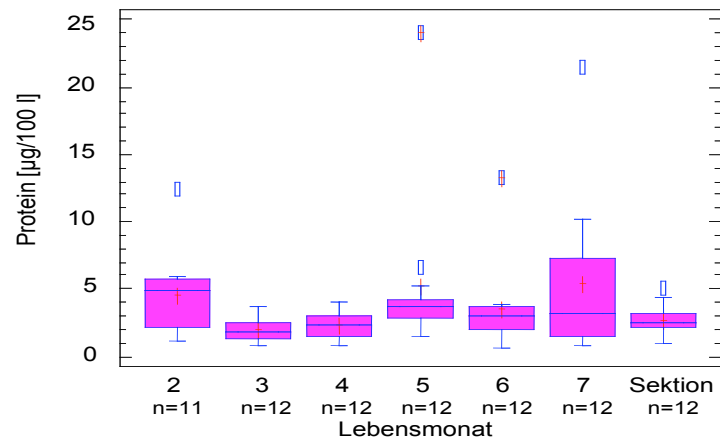
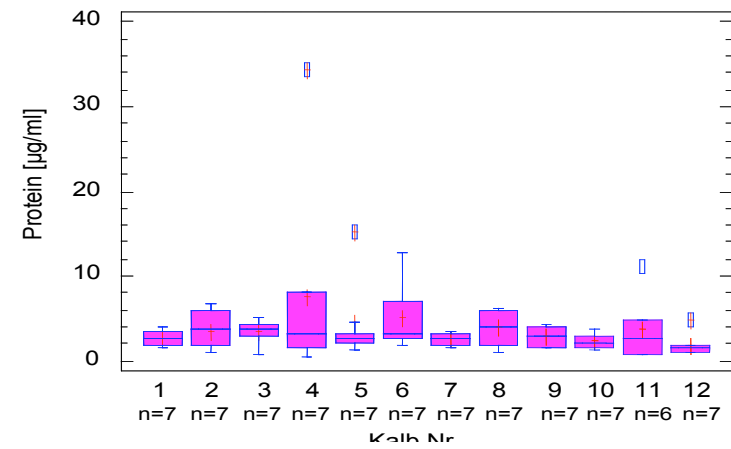
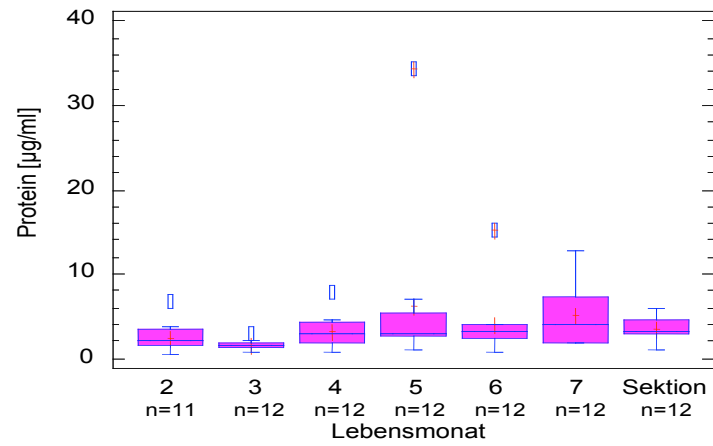


Abb. 7: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Gesamtprotein-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abb. 8: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Gesamtprotein-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abhängigkeit der Protein-Konzentration im AKO von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Die Konzentration an Gesamteiweiß im AKO [$\mu\text{g/ml}$] war mit folgenden expiratorische Kenngrößen der Ventilation positiv korreliert: Atmungsstromstärke, Atemzugvolumen, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz (Tab. A 17). Eine Abhängigkeit zur Atemtiefe konnte hingegen mit keinem der statistischen Verfahren nachgewiesen werden. Zwischen der Protein-Konzentration und der AKO-Sammelzeit war dagegen eine negative Korrelationen, ebenso wie zur je 100 Liter Exhalationsvolumen gewonnenen AKO-Menge [$\text{ml}/100 \text{ l}$] zu sichern (Tab. A 17).

Für die Protein-Konzentration je 100 l Exhalat konnte eine Unabhängigkeit zu den beschriebenen ventilatorischen Parameter gesichert werden (Tab. A 17). Mit steigendem AKO-Volumen [je 100 l Exhalat; je Minute] konnte ein Anstieg der Eiweiß-Konzentration je 100 l Exhalat im Atemkondensat beobachtet werden.

b) broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit: Die Gesamtprotein-Konzentrationen in den 12 untersuchten BALF-Proben klinisch gesunder Tiere variierten zwischen 148,0 $\mu\text{g/ml}$ (Minimum) und 705,1 $\mu\text{g/ml}$ (Maximum) bei einem Medianwert von 340,0 $\mu\text{g/ml}$.

c) Serum: Im Serum der 12 Kälber wurde der Parameter Gesamtprotein nicht bestimmt.

d) Korrelation des Gesamtproteingehaltes zwischen Atemkondensat und broncho-alveolärer Lavageflüssigkeit: Zwischen den zum Sektionszeitpunkt ermittelten Protein-Konzentrationen in den AKO-Proben und den Protein-Konzentrationen in den BALF-Proben waren keine statistisch signifikanten Korrelationen nachweisbar.

8-Isoprostan

a) Atemkondensat: Die 8-Isoprostan im Atemkondensat der 12 klinisch gesunder Kälber lag zwischen 4,1 und 22,0 pg/ml AKO (Median: 8,2 pg/ml AKO, $n = 72$). Je 100 l exhalierendes Volumen wurden zwischen 2,7 und 50,7 $\text{pg}/100 \text{ l}$ (Median: 8,3 $\text{pg}/100 \text{ l}$, $n = 72$) abgeschieden. In 12 Proben konnte 8-Isoprostan, dessen methodische Bestimmungsgrenze bei 3,9 pg/ml lag, nicht nachgewiesen werden. Die Abbildungen 9 und 10 widerspiegeln die intra- und die inter-individuellen Verteilungen der Messwerte über den gesamten Untersuchungszeitraum.

Einfluss von Alter oder Fütterung auf die 8-Isoprostan-Konzentration im Atemkondensat:

Unter Einbeziehung aller Untersuchungszeitpunkte war kein statistisch gesicherter Einfluss des Alters der untersuchten Kälber auf die Konzentration von 8-Isoprostan je ml AKO sowie je 100 l Exhalat feststellbar (Abb. 9). Die Abhängigkeit von der Fütterung wurde geprüft, indem die an gefütterten Tieren (7. Lebensmonat) ermittelten 8-Isoprostan-Konzentrationen des AKO den an nüchternen Tieren (Sektionstag) ermittelten Konzentrationen gegenübergestellt wurden. 8-Isoprostan im AKO erwies sich als vom Einfluss der Fütterung unabhängig.

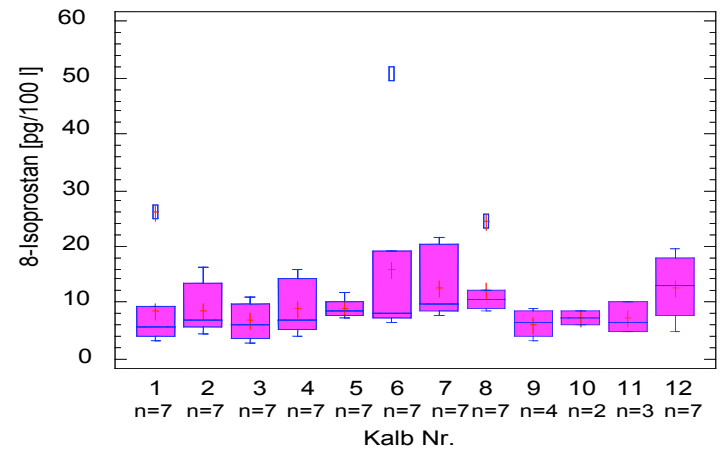
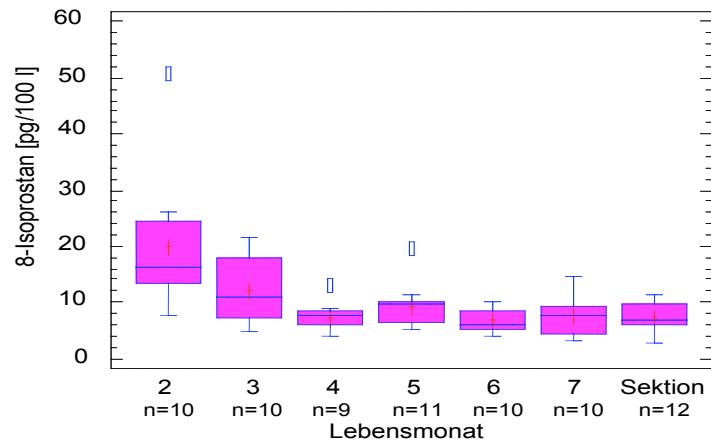
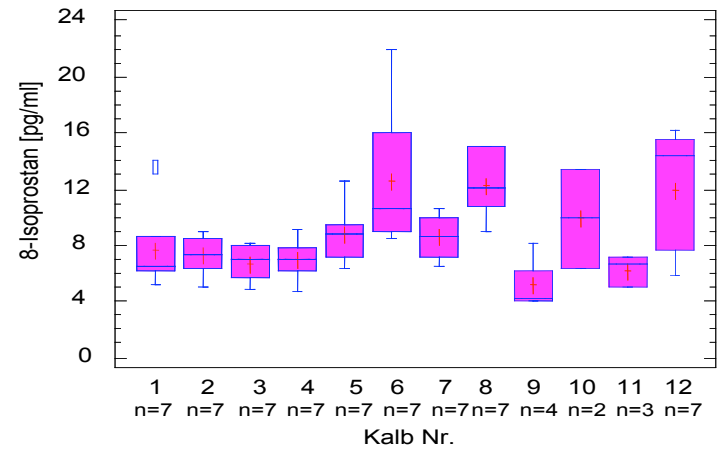
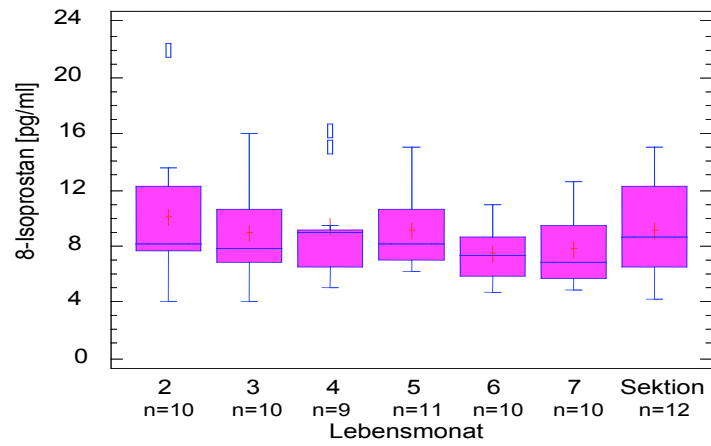


Abb. 9: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die 8-Isoprostan-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abb. 10: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die 8-Isoprostan-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abhängigkeit der 8-Isoprostan-Konzentration im AKO von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Wie in Tab. A 18 zusammengefasst dargestellt, konnte keine Abhängigkeit der 8-Isoprostan-Konzentrationen je ml AKO zu den untersuchten expiratorischen Kenngrößen der Lungenbelüftung nachgewiesen werden. Auch die Korrelation der 8-Isoprostan-Konzentration zur benötigten Sammelzeit, der gewonnenen Kondensatmenge [ml/min, ml/100 l] oder zur Rektaltemperatur der Kälber war statistisch nicht signifikant.

Durch die Berechnung der 8-Isoprostan-Konzentration pro 100 l Exhalat im AKO konnte dagegen eine negative Korrelation zu folgenden ventilatorischen Parametern nachgewiesen werden: maximale expiratorische Atmungsstromstärke, expiratorisches Atemzugvolumen, Atemtiefe je kg/KM, expiratorisches Minutenvolumen. Auch zwischen der im AKO nachgewiesenen 8-Isoprostan-Konzentration je 100 l und der gewonnenen Kondensatmenge [ml/100 l], sowie der Sammelzeit konnte eine direkte Abhängigkeit gesichert werden (Tab. A 18).

b) broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit: In der gewonnenen BALF war bei jedem der untersuchten Kälber eine 8-Isoprostan-Konzentration oberhalb der Nachweisgrenze von 3,9 pg/ml messbar. Der Medianwert für 8-Isoprostan betrug dabei 104,2 pg/ml BALF bei einer Spannweite von 620,9 pg/ml BALF (Minimum: 26,1 pg/ml, Maximum: 647,0 pg/ml).

c) Serum: In den an nüchternen Tieren gewonnenen Serumproben wurden folgende Konzentrationen für 8-Isoprostan ermittelt: Median: 35,0 pg/ml Serum, Spannweite: 134,5 pg/ml Serum (Minimum: 17,6 pg/ml, Maximum: 152,1 pg/ml). In allen Serumproben lagen die messbaren Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze für 8-Isoprostan von 3,9 pg/ml.

d) Korrelationen der 8-Isoprostan-Konzentration zwischen Atemkondensat, broncho-alveolärer Lavageflüssigkeit und Serum: Durch die Bestimmung der 8-Isoprostan-Konzentrationen der am Sektionstag unmittelbar nacheinander gewonnen Medien AKO, BALF und Serum, konnte eine Prüfung auf mögliche Korrelationen zwischen den Untersuchungsmedien durchgeführt werden. Statistisch konnte zwischen den verschiedenen Medien keine signifikante Abhängigkeit der 8-Isoprostan-Konzentrationen nachgewiesen werden.

Nitrit

a) Atemkondensat: In allen 84 AKO-Proben waren Nitrit-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze von 0,2 µM/l messbar. Im Kondensat der klinisch gesunden Kälber wurden zwischen 0,83 µM/l und 4,10 µM/l Nitrit (Median: 1,57 µM/l) bestimmt. Je 100 l Exhalat wurden zwischen 0,5 µM und 5,43 µM (Median: 1,44 µM) abgeschieden. Die Abbildungen 11 und 12 veranschaulichen die intra- und die inter-individuellen Verteilungen der über den gesamten Untersuchungszeitraum bestimmten Nitrit-Konzentration je ml AKO und je 100 l Exhalat.

Einfluss von Alter oder Fütterung auf die Nitrit-Konzentration im Atemkondensat: Ein statistisch gesicherter Einfluss des Alters der untersuchten Kälber auf die Nitrit-Konzentration, in Bezug auf das AKO und auch das Exhalat-Volumen, konnte zwischen dem 2. und 7. Lebensmonat nicht festgestellt werden (Abb. 11). Auch die Abhängigkeit von der Fütterung auf die Nitrit-Konzentration im AKO konnte nicht beobachtet werden. Dazu wurden

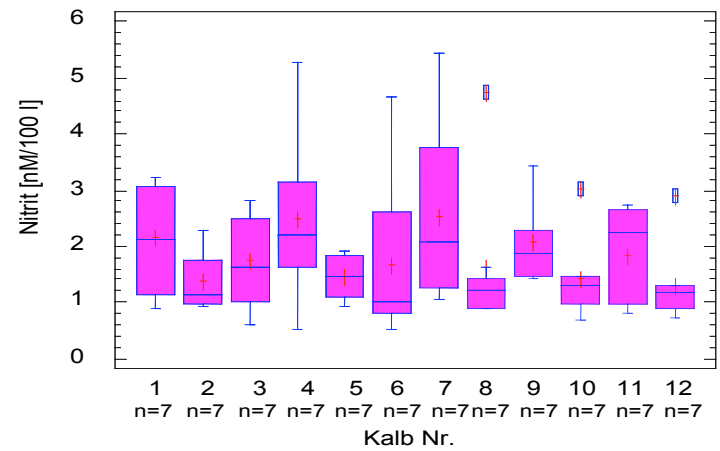
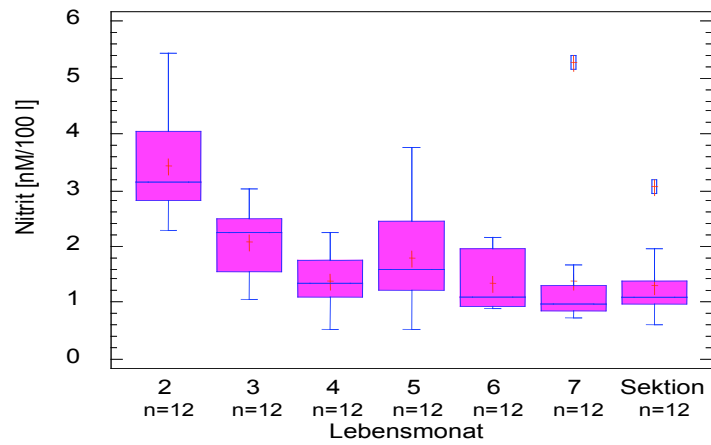
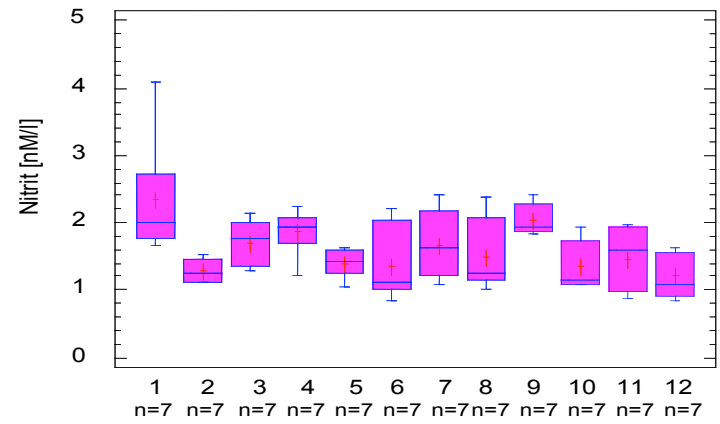
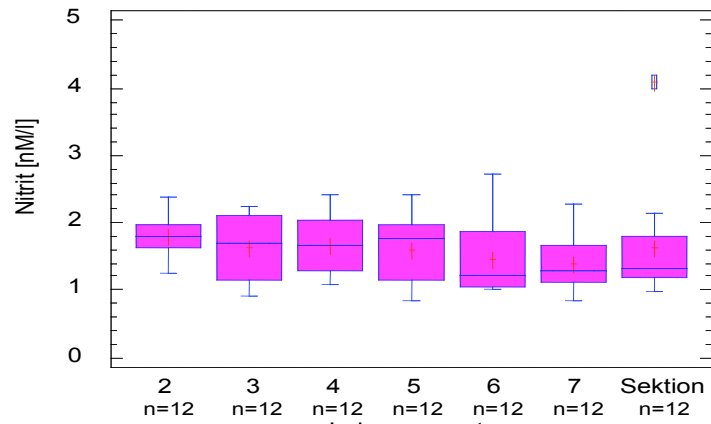


Abb. 11: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Nitrit-Konzentrationen, bezogen auf l AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abb. 12: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Nitrit-Konzentrationen, bezogen auf l AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

die an gefütterten Tieren ermittelten Nitrit-Konzentrationen des AKO (7. Lebensmonat) den an ungefütterten Tieren (Sektion) ermittelten Konzentrationen gegenübergestellt (Abb. 11).

Abhängigkeit der Nitrit-Konzentration im AKO von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Statistisch konnte eine Abnahme der Nitrit-Konzentration je ml AKO und auch je 100 l Exhalat gezeigt werden, wenn folgende expiratorische Kenngrößen der Lungenbelüftung zunahmen: maximale Atemstromstärke, Atemzugvolumen, Atemzugvolumen je kg/KM, Atemminutenvolumen (Tab. A 19). Keine signifikante Beziehung war dagegen zwischen der Nitrit-Konzentration im AKO und der Rektaltemperatur nachzuweisen. Auch ein Zusammenhang zwischen der Nitrit-Konzentration je ml AKO und der gewonnenen AKO-Menge pro Zeiteinheit und pro 100 Liter Exhalat konnte nicht beobachtet werden.

Zwischen der AKO-Sammelzeit und der Nitrit-Konzentration im AKO war dagegen eine direkte Abhängigkeit zu sichern (Tab. A 19).

Wie bereits für die Nitrit-Konzentration je ml AKO beschrieben, war auch die Nitrit-Konzentration je 100 l Gasmischung von der Sammlungszeit abhängig. Zusätzlich war eine direkte Abhängigkeit zum AKO-Volumen [ml/100 l] statistisch signifikant (Tab. A 19).

b) broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit: Für alle 12 Tiere wurden in der BALF Nitrit-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze von 0,2 µM/l festgestellt. Innerhalb der Gruppe lag der Medianwert bei 1,38 µM/l BALF, während der Messbereich zwischen dem Minimalwert von 1,02 µM/l BALF und dem Maximalwert von 4,21 µM/l BALF eine Spannweite von 3,19 µM/l BALF umfasste.

c) Serum: Die Nachweisgrenze für Nitrit im Serum war mit 0,35 µM/l höher als die Nitrit-Nachweisgrenzen in AKO- und BALF-Proben. Tab. 10 stellt die ermittelten Mediane, Minima und Maxima der Nitrit-Konzentrationen in Serumproben dar, die parallel zur AKO-Gewinnung im 7. Lebensmonat (gefüttert) sowie zum Sektionstermin (nüchtern) bestimmt wurden. Ein signifikanter Einfluss der Fütterung auf die Nitrit-Konzentration im Serum konnte nicht nachgewiesen werden.

Tab. 10: Medianwerte, Minima und Maxima der Nitrit-Konzentrationen [µM/l] im Blutserum von 12 klinisch gesunden Kälbern

Lebensmonat	n ₁ n ₂		Serum – Nitrit [µM/l]		
			Median	Minimum	Maximum
7	12	0	2,14	1,46	4,44
Sektion	12	0	1,94	0,60	3,00
gesamt (n = 24)	24	0	1,99	0,6	4,44

Erläuterungen zu Tab. 10:

7. Lebensmonat: Gewinnung von AKO erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung
n₁ = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 0,35 µM/l Serum
n₂ = Stichprobenumfang für Proben unterhalb der Nachweisgrenze von 0,35 µM/l Serum
Sektion = Gewinnung von AKO erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

d) Korrelationen der Nitrit-Konzentrationen zwischen Atemkondensat, broncho-alveolärer Lavageflüssigkeit und Serum: Zwischen den am Sektionstag nüchtern gewonnenen diagnostischen Medien AKO, BALF, Blutserum konnten keine statistisch gesicherten Zusammenhänge für die Nitrit-Konzentration beobachtet werden.

Harnstoff

a) Atemkondensat: Nur in 43 von insgesamt 84 untersuchten AKO-Proben (51,2 %) waren Harnstoff-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze von 7,0 nM/ml messbar. Der Median der Harnstoff-Konzentration lag bei 21,0 nM/ml AKO (Spannweite: 7,0 – 78,9 nM/ml) bzw. 21,0 nM/100 l Exhalat (Spannweite: 3,9 nM – 121,6 nM). Die Abb. 13 und 14 widerspiegeln die intra- und die inter-individuellen Verteilungen der Messwerte für Harnstoff-Konzentrationen je ml AKO und je 100 l Exhalat über den gesamten Untersuchungszeitraum.

Einfluss von Alter oder Fütterung auf die Harnstoff-Konzentration im Atemkondensat: Unter Einbeziehung aller zwischen dem 2. und 7. Lebensmonat gewonnen AKO-Proben war keine statistisch gesicherte Abhängigkeit vom Alter der untersuchten Kälber auf die Harnstoff-Konzentration (je ml AKO, je 100 l Exhalat) feststellbar. Ein signifikanter Einfluss der Fütterung auf dessen Anreicherung im AKO konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

Abhängigkeit der Harnstoff-Konzentration im AKO von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Eine Abhängigkeit der detektierten Harnstoff-Konzentrationen je ml AKO oder je 100 l Exhalat, von den nachweisbaren Kenngrößen der Lungenbelüftung, war nicht zu sichern. Auch die Rektaltemperatur des Tieres hatte keinen Einfluss auf die Harnstoff-Konzentration im AKO. Des Weiteren konnte keine Abhängigkeit von der gewonnenen Kondensatmenge [ml/min, ml/100 l] oder von der AKO Sammelzeit beobachtet werden.

b) broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit: In der BALF aller 12 Tiere wurden Harnstoff-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze von 7,0 nM/ml nachgewiesen. Hierbei betrug der Medianwert 54,3 nM/ml. Die Einzelwerte innerhalb der Tiergruppe schwankten zwischen 13,7 nM/ml (Minimum) und 137,9 nM/ml (Maximum) (Spannweite: 124,2 nM/ml).

c) Serum: Die Harnstoff-Konzentration im Serum wurde zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten analysiert (im 7. Lebensmonat nach der Morgenfütterung, am Sektionstag: an ungefütterten Tieren). Die Ergebnisse sind in Tab. 11 zusammengefasst. Der an nüchternen Tieren berechnete Medianwert für die Harnstoff-Konzentration im Serum war signifikant höher als der für zuvor gefütterte Tiere.

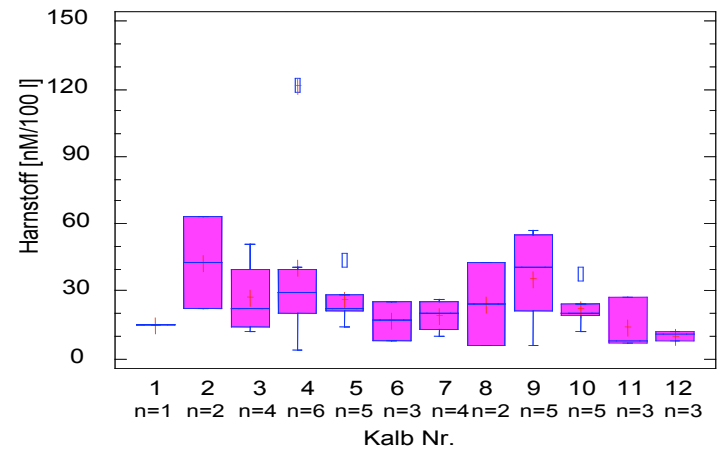
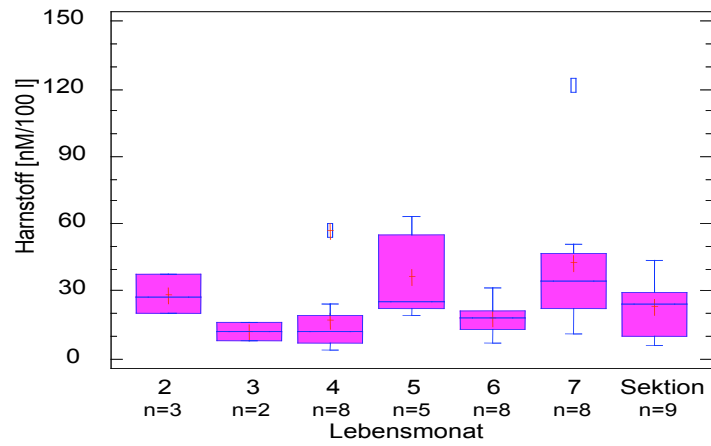
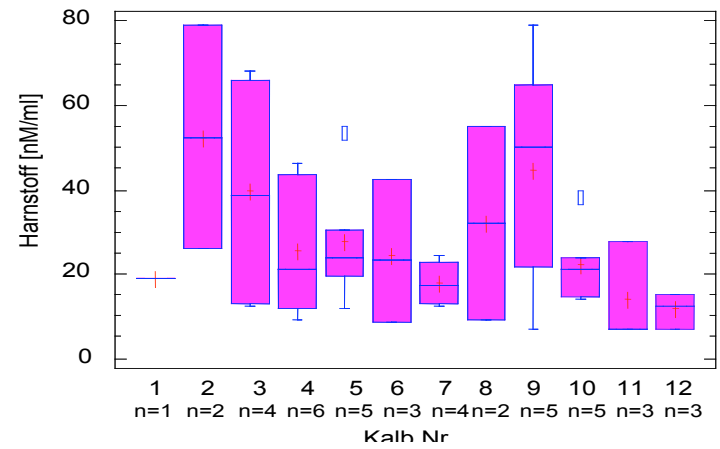
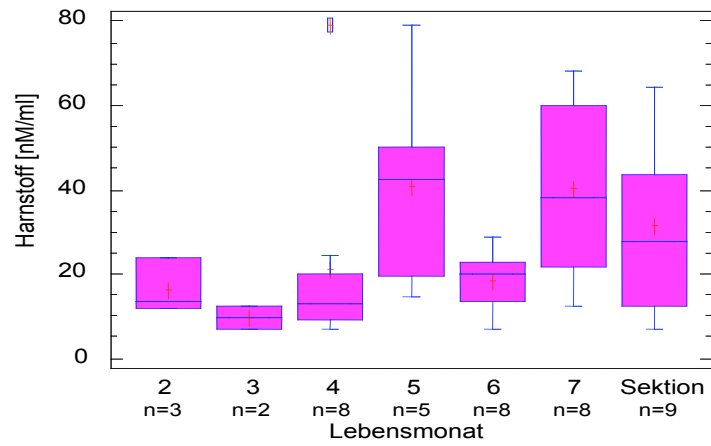


Abb. 13: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Harnstoff-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abb. 14: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Harnstoff-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Tab. 11: Medianwerte, Minima und Maxima der Harnstoff-Konzentrationen [nM/ml] im Blutserum von 12 klinisch gesunden Kälbern

Lebensmonat	n ₁	n ₂	Harnstoff- Serum [nM/ml]			
			Median	Minimum	Maximum	VR-Test
7	12	0	2654,5	926,0	4820,0	p ≤ 0,01
Sektion	12	0	2916,5	1826,0	5658,0	

Erläuterungen zu Tab. 11:

7. Lebensmonat: Gewinnung von AKO erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

n₁ = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 7,0 nM/ml Serum

n₂ = Stichprobenumfang für Proben unterhalb der Nachweisgrenze von 7,0 nM/ml Serum

Sektion: Gewinnung von AKO erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

VR-Test = Vorzeichen-Rang-Test für gepaarte Stichproben

d) Korrelation der Harnstoff-Konzentrationen zwischen Atemkondensat, broncho-alveolärer Lavageflüssigkeit und Serum: Zwischen den diagnostischen Medien AKO und Blutserum konnten weder bei gefütterten Tieren (7. Lebensmonat) noch an ungefütterten Tieren (Sektionstag) statistisch gesicherte Zusammenhänge für die Harnstoff-Konzentration beobachtet werden. Des Weiteren waren keine signifikanten Korrelationskoeffizienten zwischen der Harnstoff-Konzentration im AKO und jener in der BALF zu sichern. Zwischen der Harnstoff-Konzentration in der BALF und der im Serum wurde mittels Regressionanalyse ein statistisch gesicherter linearer Zusammenhang ermittelt (Abb. 15) der aussagt, dass mit der Harnstoff-Konzentration im Blutserum auch die Harnstoff-Konzentrationen in der broncho-alveolären Lavageflüssigkeit ansteigt.

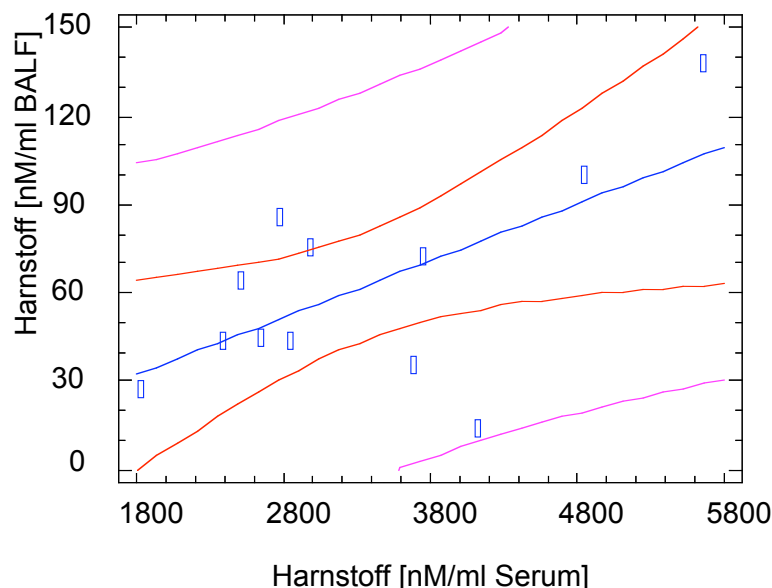


Abb. 15: Lineare Korrelation zwischen der Harnstoff-Konzentration in der BALF und der Harnstoff-Konzentration im Blutserum bei klinisch gesunden Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 15:

Harnstoff-Konzentration BALF [nM/ml] = $-2,69 + 0,0194$ Harnstoff-Konzentration Serum [nM/ml] ($r = 0,62$; $R^2 = 38,2 \%$, $n = 12$; $p \leq 0,05$)

Ammonium

a) Atemkondensat: In allen untersuchten Proben lag die messbare Ammonium-Konzentration oberhalb der Nachweisgrenze von 2,0 nM/ml. Die Spannweite der Messwerte lag zwischen 121,0 nM und 712,0 nM je ml AKO (Median: 237,5 nM/ml) bzw. 88,6 nM und 1304,5 nM je 100 l Exhalat (Median: 252,3 nM/100 l). Einen Überblick über die inter- und intra-individuelle Verteilung der Ammonium-Konzentrationen je ml AKO und je 100 l Exhalat sind in den Abb. 16 und 17 dargestellt.

Einfluss von Alter oder Fütterung auf die Ammonium-Konzentration im Atemkondensat: Wie in der Abb. 16 graphisch dargestellt, war bei der Auswertung aller Untersuchungszeitpunkte mit dem Älterwerden der Kälber (2. – 7. Lebensmonat) ein statistisch gesicherter Abfall der Ammonium-Konzentration pro ml Atemkondensat und auch je 100 l Exhalat nachweisbar. Ein möglicher Einfluss der Fütterung wurde geprüft, indem die an gefütterten Tieren ermittelten Ammonium-Konzentrationen (7. Lebensmonat) den an nüchternen Tieren ermittelten Ammonium-Konzentrationen (Sektionstag) gegenübergestellt wurden. Die Konzentrationen je ml AKO der ungefütterten Tiere erwiesen sich hierbei als signifikant höher im Vergleich zu denen in Atemkondensaten, die 2 bis 4 Stunden nach der morgendlichen Fütterung gewonnenen wurden (Abb. 16). Nach der Berechnung der Konzentration in Bezug auf 100 l exhaliertes Volumen konnte keine signifikante Fütterungsabhängigkeit nachgewiesen werden (Abb. 16)

Abhängigkeit der Ammonium-Konzentration im AKO von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Die Ammonium-Konzentration je ml AKO und auch je 100 l Exhalat korrelierte negativ mit folgenden Kenngrößen der Lungenbelüftung: maximale expiratorische Atmungsstromstärke, expiratorisches Atemzugvolumen, Atemtiefe, expiratorisches Atemminutenvolumen. Zur Atmungsfrequenz der Kälber konnte dagegen keine Abhängigkeit gesichert werden. Ebenso bestand für beide Bezugsgrößen der Ammonium-Konzentration eine schwache positive Korrelation zur Rektaltemperatur der Kälber, zur Sammelzeit, sowie zu dem je 100 l Exhalat kondensierten AKO-Volumen. Zusätzlich konnte eine indirekte Abhängigkeit zwischen der je Zeiteinheit gewonnenen AKO-Menge und der Ammonium-Konzentration je ml AKO nachgewiesen werden. Tab. A 20 fasst die Ergebnisse der statistischen Auswertung zusammen.

b) broncho-alveoläre Lavageflüssigkeit: In der BALF war bei jedem der untersuchten Kälber eine Ammonium-Konzentration oberhalb der Nachweisgrenze von 8 nM/ml messbar. Der Medianwert für Ammonium lag bei 82,5 nM je Milliliter broncho-alveolärer Spülflüssigkeit bei einer Spannweite von 167,0 nM/ml BALF (Minimum: 45,0 nM/ml BALF, Maximum: 212,0 nM/ml BALF).

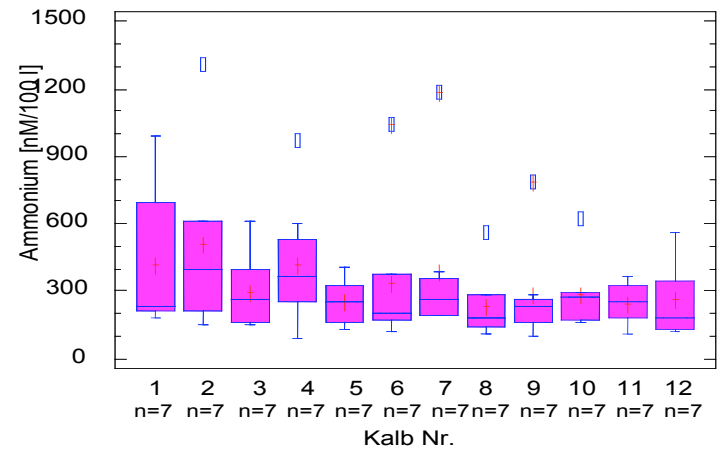
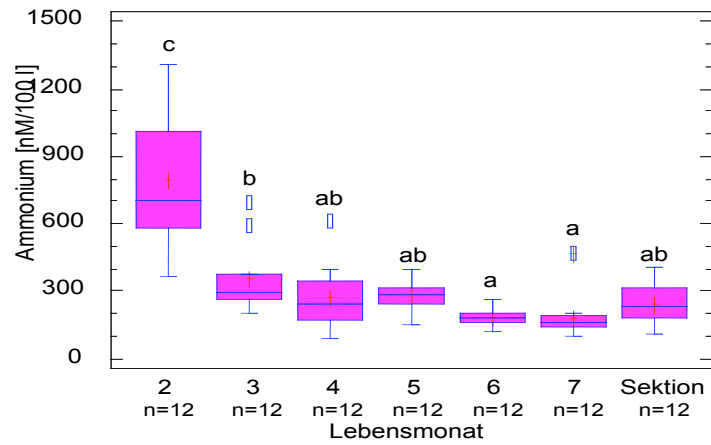
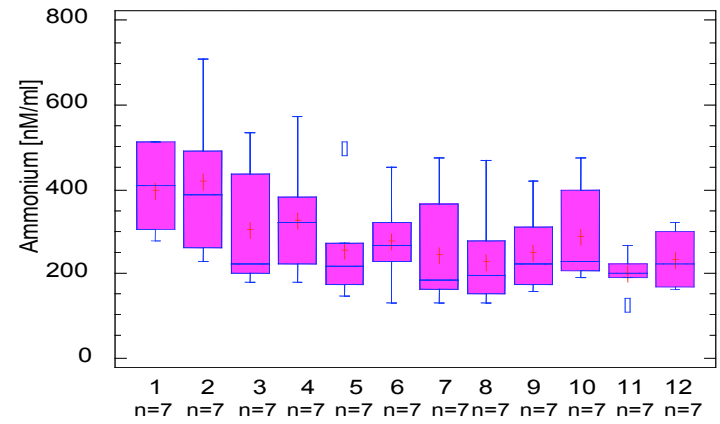
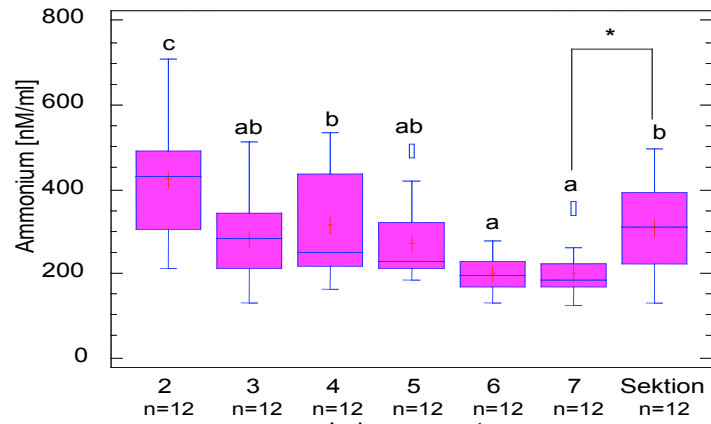


Abb. 16: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Ammonium-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Abb. 17: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Ammonium-Konzentrationen, bezogen auf ml AKO (oben) und 100 l Exhalat (unten), klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Erläuterungen zu Abb. 16:

* = statistisch signifikanter Unterschied (Vorzeichen-Rang-Test für gepaarte Stichproben, $p < 0,05$)

a, b, c = unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede (ANOVA, LSD, $p < 0,05$)

c) Serum: Die Ammonium-Konzentration im Serum wurde zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten analysiert (im 7. Lebensmonat nach der Morgenfütterung, am Sektionstag: an ungefütterten Tieren). Die Ergebnisse beider Zeitpunkte fasst Tab. 12 zusammen. Ein Einfluss der morgendlichen Futteraufnahme auf die Konzentration von Ammonium im Blutserum konnte nicht nachgewiesen werden.

Tab. 12: Medianwerte, Minima und Maxima der Ammonium-Konzentrationen [nM/ml] im Blutserum von 12 klinisch gesunden Kälbern

Lebensmonat			Serum – Ammonium [nM/ml]		
	n ₁	n ₂	Median	Minimum	Maximum
7	12	0	561,0	527,0	594,0
Sektion	12	0	547,0	517,0	583,0
gesamt (n = 24)	24	0	557,5	517,0	594,0

Erläuterungen zu Tab. 12:

7. Lebensmonat: Gewinnung von AKO erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

n₁ = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 10 nM/ml Serum

n₂ = Stichprobenumfang für Proben unterhalb der Nachweisgrenze von 10 nM/ml Serum

Sektion: Gewinnung von AKO erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

d) Korrelationen der Ammonium-Konzentration zwischen Atemkondensat, broncho-alveolärer Lavageflüssigkeit und Serum: Zwischen den diagnostischen Medien AKO und Blutserum konnten weder bei gefütterten Tieren (7. Lebensmonat) noch bei ungefütterten Tieren (Sektionstag) statistisch gesicherte Zusammenhänge für die Ammonium-Konzentration beobachtet werden. Des Weiteren waren keine signifikanten Korrelationskoeffizienten zwischen der Ammonium-Konzentration je ml AKO und jener in der BALF zu sichern. Zwischen der Ammonium-Konzentration in der BALF und der im Serum bestand hingegen ein statistischer Zusammenhang (Abb. 18). Demnach waren mit höheren Ammonium-Konzentrationen im Blutserum auch höhere Ammonium-Konzentrationen in der broncho-alveolären Spülflüssigkeit zu messen.

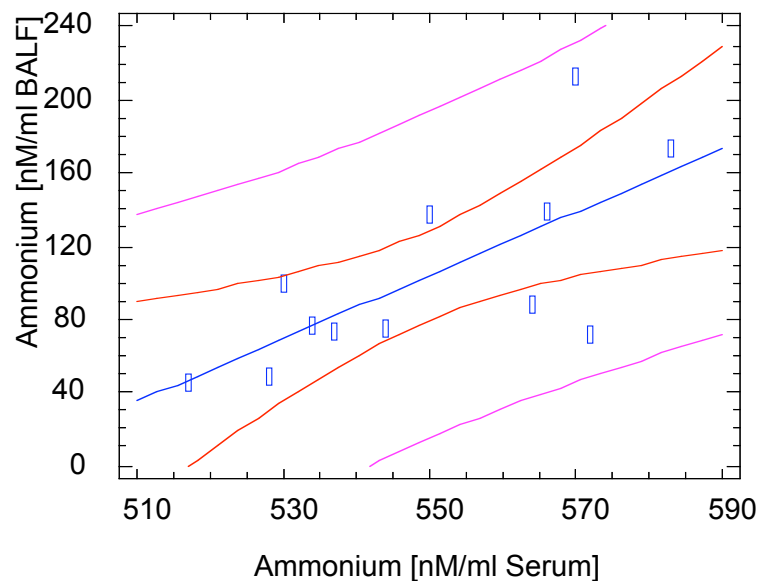


Abb. 18: Lineare Korrelation zwischen der Ammonium-Konzentration in der BALF und der Ammonium-Konzentration im Blutserum bei klinisch gesunden Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 18:

Ammonium-Konzentration BALF [nM/ml] = $-845,7 + 1,73$ Ammonium-Konzentration Serum [nM/ml] ($r = 0,70$; $R^2 = 49,4 \%$, $n = 12$; $p \leq 0,01$)

pH-Wert

a) Atemkondensat: Die Untersuchungsergebnisse, des auf die Rektaltemperatur der Tiere korrigierten pH-Wertes im nativen AKO lagen zwischen 5,43 und 6,25 (Median: 5,74, $n = 80$). Die intra- und inter-individuelle Verteilung der pH-Werte im Kondensat der 12 klinisch gesunden Kälber sind in Abb. 20 und 21 dargestellt.

Einfluss von Alter und Fütterung auf den pH-Wert im Atemkondensat: Wie Abb. 20 zeigt, konnte ein signifikant niedriger AKO-pH der 12 klinisch gesunden Kälber nur für die Proben des 2. Lebensmonat gegenüber denen des 3. – 7. Lebensmonats nachgewiesen werden. Eine Altersabhängigkeit kann damit nicht bestätigt werden. Im Kondensat der ungefütterten Kälber konnte dagegen ein signifikant höherer pH-Wert statistisch gesichert werden.

Abhängigkeit des pH-Wertes im Atemkondensat von Kenngrößen der Ventilation, der Rektaltemperatur, der AKO-Menge oder der Sammelzeit: Eine schwach negative Korrelation konnte zwischen der maximalen expiratorischen Atmungsstromstärke zum pH-Wert des Kondensates nachgewiesen werden. Mit ansteigender Stömungsgeschwindigkeit war eine höhere Azidität des AKO messbar. Zusätzlich wurde mittels beider Tests auch die Unabhängigkeit von der Rektaltemperatur, des je Zeiteinheit gewonnenen AKO-Volumens sowie von der Sammelzeit dargestellt. Mit ansteigender Kondensatmenge je 100 Liter Exhalat war dagegen ein signifikanter Anstieg des pH-Wertes nachweisbar (Tab. A 21).

Abhängigkeiten zwischen dem pH-Wert, dem Kohlendioxid-Partialdruck im Atemkondensat und der benötigten Sammelzeit: Der auf die Rektaltemperatur der Kälber korrigierte PCO_2 des AKO korrelierte negativ mit dessen Protonen-Konzentration (Abb. 19). Dagegen erwies sich der pH-Wertes sowie der PCO_2 unabhängig von der benötigten AKO-Sammelzeit.

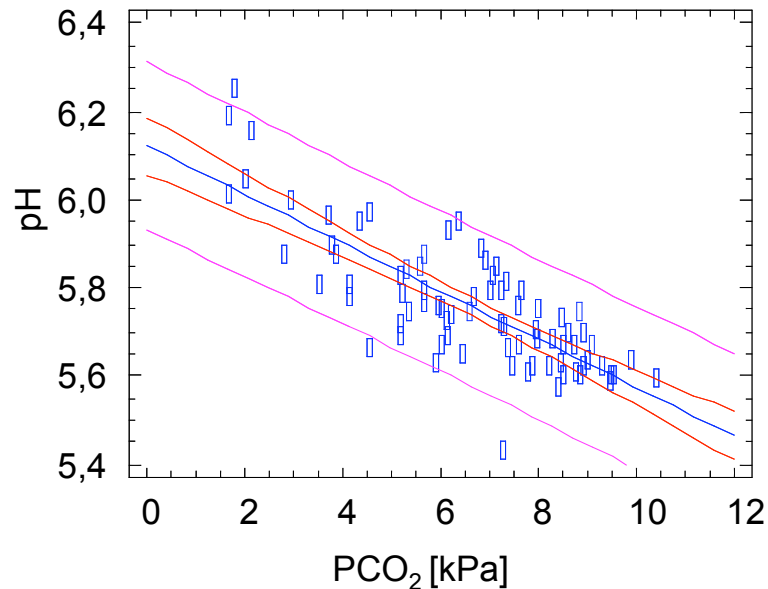


Abb. 19: Lineare Korrelation zwischen dem Kohlendioxid-Partialdruck (PCO_2) und der Protonen-Konzentration (pH-Wert) bei 12 klinisch gesunden Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 19:

$\text{pH} = 6,12166 - 0,0548995 \text{ PCO}_2$ ($r = -0,79$; $p < 0,001$; $R^2 = 62,82 \%$; $n = 80$)

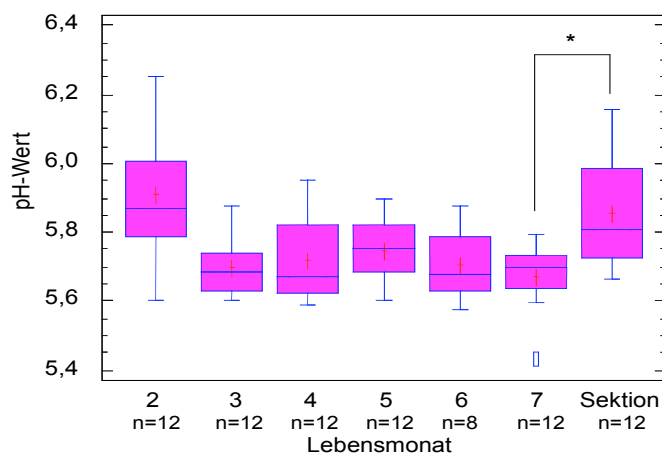


Abb. 20: Inter-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Protonen-Konzentrationen klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

Erläuterungen zu Abb. 20:

* = statistisch signifikanter Unterschied (Vorzeichen-Rang-Test für gepaarte Stichproben, $p < 0,05$)

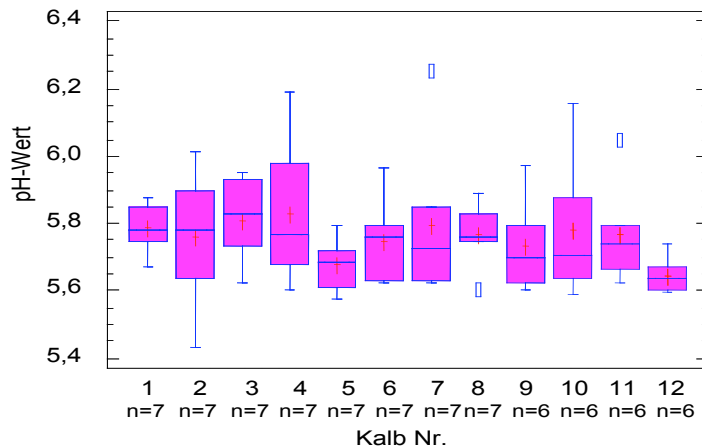


Abb. 21: Intra-individuelle Verteilungen der Messwerte für die Protonen-Konzentrationen klinisch gesunder Kälber (2. – 7. Lebensmonat)

4.2 Natürlich erworbene klinisch inapparente Infektion mit *Chlamydia psittaci* (UA 2)

Ziel des UA 2 war es, den Einfluss einer natürlich erworbenen Chlamydien-Infektion auf die Kenngrößen der Kondensatgewinnung und die Konzentrationen der Entzündungsmarker des AKO, des Serums und der BALF mittels Mann-Whitney-Wilcoxon-Test zu vergleichen. Hierzu wurden aus dem Untersuchungsabschnitt 1 *Chlamydia-psittaci*-freie Kälber ausgewählt und *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren gegenübergestellt (Kap. 3.3.2).

4.2.1 Vergleich der Kenngrößen der Kondensatgewinnung

Rektaltemperatur: Wie in der Tab. A 22 zusammengefasst dargestellt, konnte bei der gemeinsamen Betrachtung aller Untersuchungszeitpunkte eine signifikant höhere Rektaltemperatur bei den *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälbern ermittelt werden.

Ventilatorische Kenngrößen: Um den Einfluss einer *Chlamydia-psittaci*-Infektion auf die expiratorischen Parameter der Ventilation (maximale expiratorische Atemstromstärke, expiratorisches Atemzugvolumen, expiratorisches Atemzugvolumen/kg KM, expiratorisch ermitteltes Atemminutenvolumen, Atemfrequenz) zu untersuchen wurden die Messergebnisse der *Chlamydia-psittaci*-freien und -tragenden Kälber getrennt zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten (2. – 7. Lebensmonat), als auch insgesamt statistisch ausgewertet.

Maximale expiratorische Atemstromstärke [l/s]: Eine signifikante Änderung der maximalen expiratorischen Atemstromstärke war bei den *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälbern nicht zu verzeichnen. Bei der Auswertung einzelner Versuchszeitpunkte konnten

dagegen im 2. und 6. Lebensmonat eine niedrigere Expirationssgeschwindigkeit der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Gruppe gezeigt werden (Tab. A 26)

Expiratorisches Atemzugvolumen [l]: Wie die Tab. A 23 widerspiegelt, konnte ein signifikant niedrigeres expiratorisches Atemzugvolumen in der *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälbergruppe statistisch gesichert werden.

Atemzugvolumen je kg/KM [ml/kg KM]: Für das je Kilogramm Körpermasse berechnete Atemzugvolumen waren zwischen dem 5. und 6. Lebensmonat als auch bei Betrachtung aller Messergebnisse signifikant niedrigere Atemtiefen bei den *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälbern nachzuweisen (Tab. A 24).

Expiratorisches Atemminutenvolumen [l]: Eine signifikante Änderung des je Minute exhalierten Volumens konnte für die *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tiere zu keinem Untersuchungszeitpunkt nachgewiesen werden (Tab. A 26).

Atmungsfrequenz [je min]: Wie in der Tab. A 25 zusammengefasst dargestellt, konnten nicht zu jedem Untersuchungszeitpunkt signifikante Unterschiede der Atmungsfrequenz gezeigt werden. Bei der Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes waren jedoch signifikant höhere Atemfrequenzen der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälber messbar.

Unterschiede bezüglich der AKO-Sammelzeit sowie der zu gewinnenden AKO-Menge [ml/min, ml/100 l] konnten zwischen der *Chlamydia-psittaci*-freien und -tragenden Kälbergruppe, bei der gemeinsamen Betrachtung aller Untersuchungszeitpunkte, statistisch nicht gesichert werden (Tab. A 26).

4.2.2 Vergleich der Mediator-Konzentrationen (AKO, Serum, BALF)

Gesamtprotein

Um den Einfluss der *Chlamydia-psittaci*-Infektion auf den Gesamteiweiß-Gehalt des AKO zu beschreiben wurde für beide Kälbergruppen jeweils die Protein-Konzentration mit Bezug auf ml AKO und auf 100 l Exhalat vergleichend untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tab. A 29 und A 30 zusammengefasst. Auffällig waren niedrigere Medianwerte der Protein-Konzentrationen im AKO der *Chlamydia-psittaci*-belasteten Kälber, wobei die Unterschiede zwischen den Gruppen jedoch mit Bezug auf den gesamten Untersuchungszeitraum statistisch nicht zu sichern waren.

Die Protein-Konzentration der BALF beider Kälbergruppen war signifikant verschieden. Wie in der Abb. 22 graphisch dargestellt, lag der Median der *Chlamydia-psittaci*-positiven Gruppe mit 737,0 µg/ml BALF höher als der Median der -negativen Kälber, der 336,0 µg/ml BALF betrug.

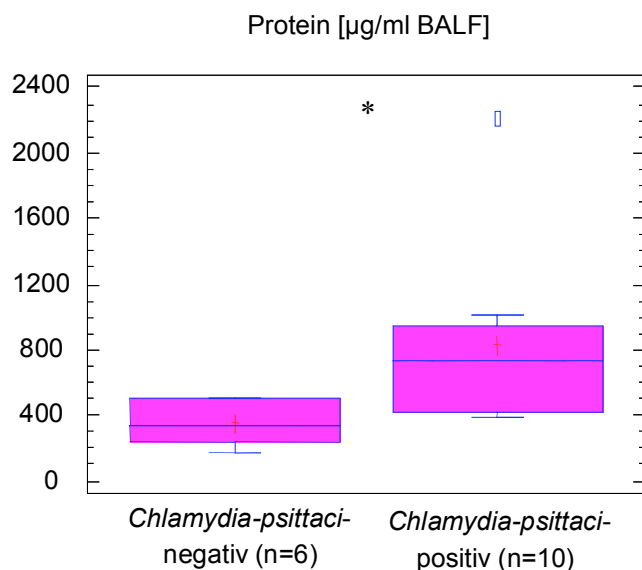


Abb. 22: Vergleichende Darstellung der Protein-Konzentrationen in der BALF von *Chlamydia-psittaci*-negativen und -positiven Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 22:

* kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Tiergruppen (Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, $p = 0,01$)

8-Isoprostan

Unter Einbeziehung aller Untersuchungszeitpunkte konnte in der Gruppe der *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälber eine niedrigere 8-Isoprostan-Konzentration je ml AKO ermittelt werden. Dagegen unterschied sich die Konzentration je 100 Liter Exhalat nicht (Tab. A 27). Bei den Kälbern der *Chlamydia-psittaci*-freien und -tragenden Gruppe wurde nur zum Sektionszeitpunkt 8-Isoprostan im Serum untersucht (Tab. 13), da die Konzentrationen aller Proben der gefütterten *Chlamydia-psittaci*-freien Tiere unterhalb der methodischen Nachweisgrenze lagen. Statistische Unterschiede waren nicht zu sichern.

Auch die 8-Isoprostan-Konzentration in der BALF wurde zwischen beiden Kälbergruppen verglichen. Neben einer höheren Spannweite (Minimum-Maximum) in der *Chlamydia-psittaci*-tragenden im Vergleich zur -negativen Gruppe unterschieden sich auch die Mediane (83,1 pg/ml vs. 309,0 pg/ml) signifikant (Abb. 23).

Tab. 13: Vergleich der 8-Isoprostan-Konzentration im Serum [pg/ml] zwischen den *Chlamydia-psittaci*-freien Tieren und *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren

Lebensmonat	Serum - 8-Isoprostan [pg/ml]								
	<i>Chlamydia-psittaci</i> -freie Tiere				<i>Chlamydia-psittaci</i> -tragende Tiere				W-Test
	n	Median	Min.	Max.	n	Median	Min.	Max.	
7	0	-	-	-	10	49,1	22,6	198,7	k.A.
Sektion	5	36,4	20,6	152,1	10	41,3	19,6	123,2	n.s.
gesamt	5	36,4	20,6	152,1	20	46,35	19,6	198,7	n.s.

Erläuterungen zu Tab. 13:

7. Lebensmonat = Gewinnung von Serum erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

k.A. = keine statistische Auswertung

Min., Max. = Minimum, Maximum

n = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 3,9 pg/ml Serum

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$)

Sektion = Serumgewinnung erfolgte am ungefügerten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

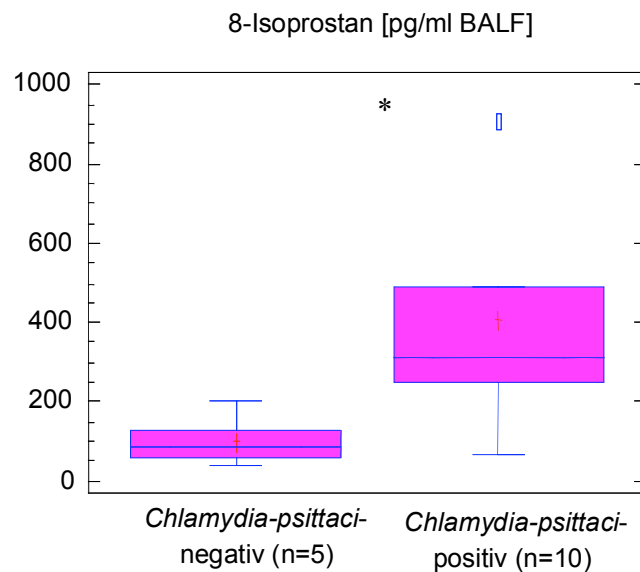


Abb. 23: Vergleichende Darstellung der 8-Isoprostan-Konzentrationen in der BALF von *Chlamydia-psittaci*-negativen und -positiven Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 23:

* kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Tiergruppen (Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, $p < 0,01$)

Nitrit

Bei der vergleichenden Untersuchung der Nitrit-Konzentration je l AKO sowie je 100 l Exhalat konnten zwischen den *Chlamydia-psittaci*-positiven und -negativen Kälbern keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (Tab. A 29 und A 30).

Die Nitrit-Konzentration in der BALF unterschied sich zwischen den beiden Gruppen signifikant (Abb. 24). Bei den *Chlamydia-psittaci*-positiven Kälbern lag der Median mit $0,81 \mu\text{M/l}$ BALF niedriger als der Median der -negativen Tiere. In der Gruppe der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälber konnte, wie die Tab. 14 zeigt, eine signifikant niedrigere Nitrit-Konzentrationen im Serum nachgewiesen werden.

Tab. 14: Vergleich der Nitrit-Konzentration im Serum [$\mu\text{M/l}$] zwischen den *Chlamydia-psittaci*-freien Tieren und *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren

Lebensmonat	Serum -Nitrit [$\mu\text{M/l}$]								
	<i>Chlamydia-psittaci</i> -freie Tiere				<i>Chlamydia-psittaci</i> -tragende Tiere				W-Test
	n	Median	Min.	Max.	n	Median	Min.	Max.	
7	6	2,19	1,85	3,29	10	1,48	1,06	2,44	p = 0,01
Sektion	6	1,9	0,6	3,0	10	1,34	0,87	1,98	n.s.
gesamt	12	1,99	0,6	3,29	20	1,43	0,87	2,44	p < 0,005

Erläuterungen zu Tab. 14:

7. Lebensmonat = Gewinnung von Serum erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

Min., Max. = Minimum, Maximum

n = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von $0,35 \mu\text{M/l}$ Serum

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$)

p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Sektion = Serumgewinnung erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

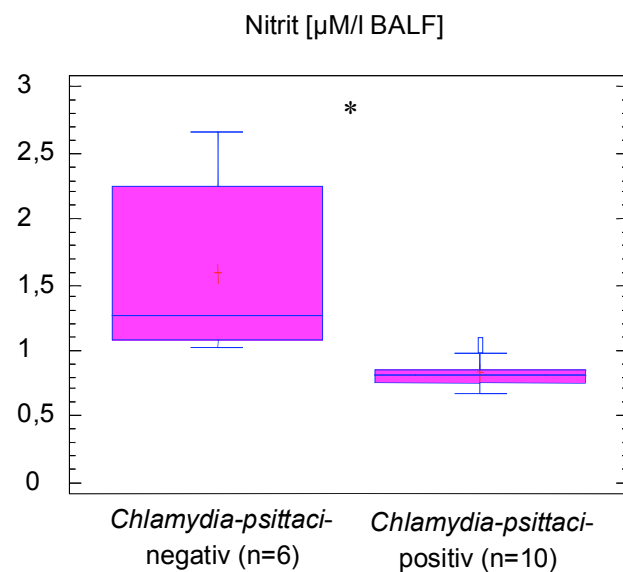


Abb. 24: Vergleichende Darstellung der Nitrit-Konzentrationen in der BALF von *Chlamydia-psittaci*-negativen und -positiven Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 24:

* kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Tiergruppen (Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, $p < 0,005$)

Harnstoff

Wie in der Tab. A 29 und A 30 dargestellt, konnte zwischen der *Chlamydia-psittaci*-positiven und -negativen Tiergruppe bei der Betrachtung aller Untersuchungsergebnisse kein Unter-

schied der Harnstoff-Konzentration je ml AKO sowie je 100 l Exhalat nachgewiesen werden. Eine statistische Auswertung war auf Grund der geringen Probenanzahl oberhalb der Nachweisgrenze nicht zu allen untersuchten Zeitpunkten möglich.

Wie in der Abb. 25 graphisch dargestellt, unterschied sich die Harnstoff-Konzentration der BALF zwischen den Tiergruppen signifikant. Dabei lag der Median bei den *Chlamydia-psittaci*-freien mit 58,35 nM/ml BALF höher gegenüber dem der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälber (17,0 nM/ml BALF).

Im Serum der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälber konnten bei dem Vergleich der Konzentrationen der gefütterten als auch der nüchternen Tiere (sowie bei der Gesamtbetrachtung) signifikant niedrigere Harnstoff-Konzentrationen nachgewiesen werden (Tab. 15).

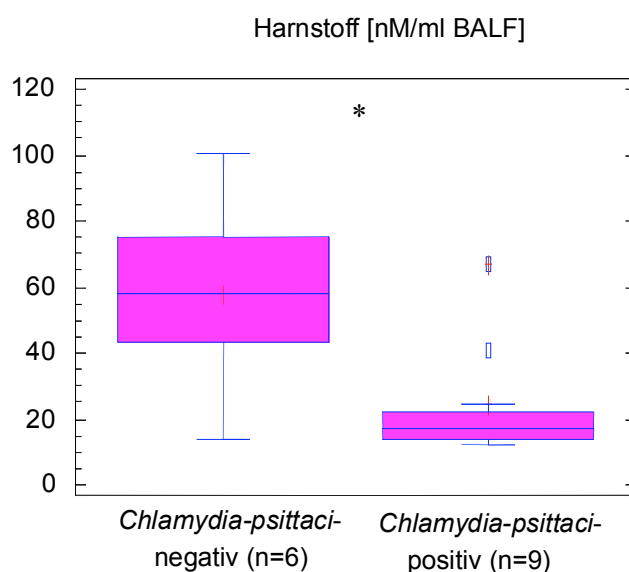


Abb. 25: Vergleichende Darstellung der Harnstoff-Konzentrationen in der BALF von *Chlamydia-psittaci*-negativen und -positiven Kälbern

Erläuterungen zu Abb. 25:

* kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Tiergruppen (Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, $p < 0,05$)

Tab. 15: Vergleich der Harnstoff-Konzentration im Serum [nM/ml] zwischen den *Chlamydia-psittaci*-freien Tieren und *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren

Lebensmonat	Serum - Harnstoff [nM/ml]								
	<i>Chlamydia-psittaci</i> -freie Tiere				<i>Chlamydia-psittaci</i> -tragende Tiere				W-Test
	n	Median	Min.	Max.	n	Median	Min.	Max.	
7	6	2645,5	2176,0	4820,0	10	838,5	165,0	1679,0	$p < 0,005$
Sektion	6	3365,0	2649,0	4847,0	10	667,0	31,0	2252,0	$p = 0,001$
gesamt	12	2828,5	2176,0	4847,0	20	667,0	31,0	2252,0	$p < 0,001$

Erläuterungen zu Tab. 15:

7. Lebensmonat = Gewinnung von Serum erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

Min., Max. = Minimum, Maximum

n = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 7,0 nM/ml Serum

p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Sektion = Serumgewinnung erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

Ammonium

Wie Tab. A 28 zeigt, wurden widersprüchliche Ergebnisse bei der Gegenüberstellung der Kälbergruppen nachgewiesen. Während der Median der Ammonium-Konzentrationen je Milliliter AKO bei den *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren signifikant niedriger lag, konnte für die Konzentration in Bezug auf 100 l Exhalat kein Unterschied zwischen den Tiergruppen statistisch gesichert werden.

Die Ammonium-Konzentration in der BALF der Gruppen unterschied sich nicht signifikant. Dennoch waren bei den *Chlamydia-psittaci*-freien Kälbern tendenziell höhere Medianwerte (87,0 nM/ml, Spannweite: 48,0 - 174,0 nM/ml, n = 6) im Vergleich zur -positiven Gruppe (Median: 63,5 nM/ml, Spannweite: 31,0 - 222,0 nM/ml, n = 10) nachweisbar.

Der Einfluss der Chlamydien-Infektion auf die Ammonium-Konzentration des Serums wurde untersucht. Bei dem Vergleich der Blutproben waren bei den *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälbern statistisch höhere Ammonium-Konzentrationen nachweisbar als bei den -negativen Tieren (Tab. 16).

Tab. 16: Vergleich der Ammonium-Konzentration im Serum [nM/ml] zwischen den *Chlamydia-psittaci*-freien Tieren und *Chlamydia-psittaci*-tragenden Tieren

Lebensmonat	Serum - Ammonium [nM/ml]								
	<i>Chlamydia-psittaci</i> -freie Tiere				<i>Chlamydia-psittaci</i> -tragende Tiere				W-Test
	n	Median	Min.	Max.	n	Median	Min.	Max.	
7	6	561,0	527,0	587,0	10	684,5	602,0	797,0	p = 0,001
Sektion	6	540,5	528,0	583,0	10	690,0	627,0	796,0	p = 0,001
gesamt	12	555,5	527,0	587,0	20	690,0	602,0	797,0	p < 0,001

Erläuterungen zu Tab. 16:

7. Lebensmonat = Gewinnung von Serum erfolgte 2 - 4 Stunden nach der Morgenfütterung

Min, Max. = Minimum, Maximum

n = Stichprobenumfang für Proben oberhalb der Nachweisgrenze von 8,0 nM/ml Serum

p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Sektion = Serumgewinnung erfolgte am ungefütterten Tier unmittelbar vor der Euthanasie

pH-Wert

Wie in Tab. A 29 dargestellt, konnte zwischen den Tiergruppen kein statistisch gesicherter Unterschied innerhalb des pH-Wertes im Atemkondensat nachgewiesen werden.

4.3 Experimentell induzierte Infektion mit *Mycoplasma bovis* (UA 3)

Den Untersuchungen zur AKO-Diagnostik sei vorangestellt, dass durch die experimentelle Infizierung mit *M. bovis* keine klinischen Symptome einer respiratorischen Erkrankung induziert wurden. Dennoch sollten AKO-Proben, BALF und Serumproben bezüglich der potenziellen Entzündungsmarker untersucht werden, um herauszufinden, ob subklinische Atemwegserkrankungen nachweisbar sind.

4.3.1 Vergleich der Kenngrößen der Kondensatgewinnung

Rektaltemperatur: Bei der Betrachtung aller Untersuchungszeitpunkte *post infectionem* konnten keine signifikant höheren Rektaltemperaturen bei den *Mycoplasma-bovis*-tragenden Kälbern ermittelt werden (Tab. A 31).

Ventilatorische Parameter: Zwischen den Tiergruppen des Untersuchungsabschnittes 3 war für keinen der expiratorischen Ventilationsparameter (Atmungsstromstärke, Atemzugvolumen, Atemzugvolumen/kg KM, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz) ein signifikanter Unterschied nachweisbar. Auf Grund des geringen Stichprobenumfangs wurden dazu nur die Ergebnisse bis einschließlich dem 14. Versuchstag einbezogen (Tab. A 31).

Wie Tab. A 31 zusammenfasst, konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der benötigten Sammelzeit zwischen den *Mycoplasma-bovis*-freien und –tragenden Kälbern, nachgewiesen werden. Bei der Bestimmung der je Zeiteinheit gewonnenen AKO-Menge *post infectionem*, wurde jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen der *Mycoplasma-bovis*-freien und –tragenden Kälbergruppe beobachtet (Tab. A 32). Der Median und auch die zu bestimmende Spannweite des AKO-Volumen [je Minute] der experimentell infizierten Kälber lag dabei signifikant höher als bei den *Mycoplasma-bovis*-freien Tieren. Für das je 100 Liter Exhalat berechnete AKO-Volumen konnte dagegen kein gesicherter Unterschied zwischen den Gruppen gezeigt werden.

4.3.2 Vergleich der Mediator-Konzentrationen (AKO, Serum, BALF)

Um den Einfluss der *Mycoplasma-bovis*-Infizierung zu untersuchen, wurden die ermittelten Mediator-Konzentrationen im AKO (Gesamtprotein, 8-Isoprostan, Leukotrien B₄, Nitrit, Harnstoff, Ammonium, Protonen), im Serum (8-Isoprostan, Harnstoff, Ammonium) und in der BALF (Gesamtprotein, 8-Isoprostan, Leukotrien B₄, Nitrit, Harnstoff, Ammonium, Protonen) bestimmt (Kap. 3.2.3). Zusätzlich fand im Atemkondensat beider Kälbergruppen eine Berechnung der Konzentrationen je 100 Liter Exhalat statt (Gesamtprotein, 8-Isoprostan, Leukotrien B₄, Nitrit, Harnstoff, Ammonium). In die statistische Auswertung wurden auf Grund des zu geringen Probenumfangs, nur die Daten bis einschließlich 14. Untersuchungstag *post infectionem* einbezogen.

Gesamtprotein

Wie in Tab. A 34 dargestellt, war bei den *Mycoplasma-bovis*-tragenden Kälbern sowohl die Protein-Konzentration je Milliliter AKO als auch die pro 100 l Exhalat ermittelte Konzentration an Gesamteiweiß gegenüber den –freien Tieren signifikant erniedrigt.

Bezüglich der Gesamteiweiß-Konzentration in der BALF konnte kein statistisch gesicherter Unterschied zwischen beiden Tiergruppen beobachtet werden (Tab. A 33).

8-Isoprostan

Wie Tab. A 38 und A 39 aussagt, konnte bezüglich der 8-Isoprostan-Konzentration je ml AKO sowie je 100 l Exhalat kein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den beiden Tiergruppen gesichert werden.

In der BALF konnte für alle *Mycoplasma-bovis*-freien und –tragenden Kälber eine 8-Isoprostan-Konzentration oberhalb der Nachweisgrenze von 3,0 pg/ml bestimmt werden. Ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen beiden Tiergruppen bestand aber nicht (Tab. A 33). Wie Tab. A 37 zeigt, konnte *post infectionem* bei den *Mycoplasma-bovis*-positiven Tieren eine niedrigere 8-Isoprostan-Konzentration im Serum nachgewiesen werden.

Leukotrien B₄

Eine vergleichende Darstellung aller *ante*, als auch *post infectionem* ermittelten Ergebnisse der Leukotrien B₄-Bestimmung in Bezug auf den Milliliter AKO und je 100 Liter Exhalat ist in der Tab. A 35 wiedergegeben. Dabei konnte bei den *Mycoplasma-bovis*-positiven Kälbern eine signifikant erhöhte Leukotrien B₄-Konzentration je 100 Liter Exhalat nachgewiesen werden. Wie Tab. A 33 aussagt, konnte bezüglich der Leukotrien B₄-Konzentration in der BALF kein statistisch gesicherter Unterschied zwischen beiden Tiergruppen nachgewiesen werden.

Nitrit

Unterschiede in den Nitrit-Konzentrationen im AKO (Tab. A 38 und A 39) sowie in der BALF (Tab. A 33) waren zwischen den *Mycoplasma-bovis*-tragenden und den –negativen Kälbern statistisch nicht zu sichern. Serum wurde aus Kostengründen in diesem Untersuchungsabschnitt nicht untersucht.

Harnstoff

Zwischen den *Mycoplasma-bovis*-tragenden und –freien Kälbern konnten keine signifikanten Unterschiede der Harnstoff-Konzentrationen im AKO (Tab. A 38 und A 39), in der BALF (Tab. A 33) und im Serum (Daten nicht dargestellt) gesichert werden.

Ammonium

Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Ammonium-Konzentrationen im AKO (Tab. A 38 und A 39), der BALF (Tab. A 33) und des Serums (Daten nicht dargestellt) konnte zwischen den *Mycoplasma-bovis*-tragenden und –freien Kälber nicht festgestellt werden.

pH-Wert

Wie Tab. A 36 dargestellt, konnte bei den *Mycoplasma-bovis*-positiven Kälbern *post infectionem* ein signifikant höherer pH-Wert im AKO nachgewiesen werden, wobei nur der Zeitraum bis zum 14. Untersuchungstag *p.i.* in die Auswertung einging.

Ab dem 7. Untersuchungstag nach der Infizierung wurde im Anschluss an die Sektion von den *Mycoplasma-bovis*-freien und -tragenden Kälbern broncho-alveoläre Spülflüssigkeit gewonnen. Wie in der Tab. A 33 aufgeführt, unterschieden sich die Mediane der pH-Werte in der BALF dabei nicht signifikant zwischen den Gruppen.

4.4 Korrelationen untersuchter Inhaltsstoffe innerhalb des Atemkondensates

Die statistisch nachweisbaren Abhängigkeiten der untersuchten Entzündungsmarker des AKO, des Serums und der BALF der 12 klinisch gesunden Kälber des UA 1 sind in den Tab. A 40 und A 43 zusammengefasst dargestellt. Zusätzlich wurden auch die signifikanten Korrelationen aller Mediatoren (incl. des pH-Wertes) der betrachteten Untersuchungsmedien, die von den *Chlamydia-psittaci*-positiven Tieren (UA 2) gewonnen wurden, in den Tab. A 41 und A 44 wiedergegeben.

In beiden UA konnten im AKO Korrelationen zwischen Ammonium und 8-Isoprostan, Nitrit sowie dem pH-Wert, als auch die Abhängigkeit des Protein-Gehaltes zum 8-Isoprostan und dessen Protonen-Konzentration bestätigt werden. Dagegen konnte sowohl die Korrelation zwischen Nitrit und 8-Isoprostan, bzw. zum pH-Wert des AKO, als auch zwischen Protein und Harnstoff nur bei den Tieren des UA 1 statistisch gesichert werden. Abhängigkeiten, die allein innerhalb der *Chlamydia-psittaci*-tragenden Kälbergruppe bestanden, waren nicht nachweisbar. Tab. 17 und 18 stellen alle, mittels Rangkorrelation nach Spearman und der linearen Regressionsanalyse, nachgewiesenen Korrelationen zwischen den Mediator-Konzentrationen beider Gruppen zusammengefasst dar. Dabei wird deutlich, dass mit Ausnahme der Korrelation zwischen Protein- und Harnstoff, sowie zwischen Nitrit und 8-Isoprostan, alle weiteren Abhängigkeiten, die im Bezug auf den ml AKO bestanden, auch je 100 l Exhalat bestätigt werden konnten. Auch die Abhängigkeiten zwischen 8-Isoprostan und Ammonium, bzw. Protein, sowie zwischen der Protonen- und der Protein-Konzentration erwiesen sich auf 100 Liter exhalieren Volumens als signifikant.

Tab. 17: Darstellung von Korrelationen zwischen den pro ml AKO ermittelten Mediatoren

Mediator	8-Iso- prostan [pg/ml]	Nitrit [µM/l]	Harnstoff [nM/ml]	Ammonium [nM/ml]	Protein [µg/ml]	pH
8-Iso- prostan [pg/ml]	-	negativ _{sp}	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Nitrit [µM/l]	n.s.	-	n.s.	positiv _{sp}	n.s.	positiv _{sp}
Harnstoff [nM/ml]	n.s.	n.s.	-	n.s.	positiv _{sp}	n.s.
Ammonium [nM/ml]	n.s.	positiv _L	n.s.	-	n.s.	positiv _{sp}
Protein [µg/ml]	n.s.	n.s.	positiv _L	n.s.	-	n.s.
pH	n.s.	n.s.	n.s.	positiv _L	n.s.	-

Tab. 18: Darstellung von Korrelationen zwischen den pro 100 l Exhalat ermittelten Mediatoren im Atemkondensat

Mediator	8-Iso-prostan [pg/100 l]	Nitrit [µM/100 l]	Harnstoff [nM/100 l]	Ammonium [nM/100 l]	Protein [µg/100 l]	pH
8-Iso-prostan [pg/100 l]	-	positiv _{sp}	n.s.	positiv _{sp}	positiv _{sp}	n.s.
Nitrit [µM/100 l]	positiv _L	-	n.s.	positiv _{sp}	n.s.	positiv _{sp}
Harnstoff [nM/100 l]	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.	n.s.
Ammonium [nM/100 l]	positiv _L	positiv _L	n.s.	-	n.s.	positiv _{sp}
Protein [µg/100 l]	positiv _L	n.s.	n.s.	n.s.	-	positiv _{sp}
pH	n.s.	positiv _L	n.s.	positiv _L	positiv _L	-

Erläuterungen zu Tab. 17 und 18:

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$)

pH = Protonen-Konzentration

positiv_L = statistisch signifikante direkte Abhängigkeit (Lineare Regression)

positiv_{sp} = statistisch signifikante direkte Abhängigkeit (Rangkorrelation nach Spearman)

negativ_{sp} = statistisch signifikante indirekte Abhängigkeit (Rangkorrelation nach Spearman)