

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Pathogenese der *Mannheimia haemolytica* A1 – Infektion des Kalbes

Die frühere Bezeichnung von *Mannheimia haemolytica* (Serotyp A) war *Pasteurella haemolytica* (Serotyp A). Auf der Grundlage verschiedenster Untersuchungen wurde der Erreger reklassifiziert und erhielt seinen heutigen Namen (EWERS et al., 2004). Erste Veröffentlichungen über Untersuchungen der Pasteurellen-bedingten Pneumonie des Rindes erschienen bereits 1915 in den USA und 1925 in Großbritannien (zitiert bei WHITELEY et al., 1992). Hierbei trat zunächst der Gedanke von einer managementbedingten Infektion in den Vordergrund. Erst später wurde *Mannheimia haemolytica* A1 (*Mannheimia haem.* A1) als eines der ursächlichen Agenzien dieser Erkrankung entdeckt und festgestellt, dass die Erkrankung durch eine Infektion von Kälbern mit allein diesem Erreger reproduzierbar war.

Die *Mannheimia-haem.*-A1-Infektion des Rindes wurde später als „Shipping fever Pneumonie“ von verschiedenen Autoren in den Komplex der Faktorenkrankheiten eingeordnet, der in Rinderbeständen zu schweren Verlusten führte (GIBBS et al., 1984; LOPEZ et al., 1986; BÖTCHER, 1988; SCHIMMEL et al., 1988; PAULSEN et al., 1989; VAN DEN INGH et al., 1990; BREIDER et al., 1991; MAHESWARAN et al., 1992; WHITELEY et al., 1992; PANDHER and MURPHY, 1996; WANG et al., 1999).

WHITELEY et al. (1992) beschrieben die Erkrankung als eine Tröpfcheninfektion, bei der zuerst abgeschilferte Epithelzellen durch den Erreger besiedelt werden. In dieser Arbeit beschrieben die Autoren auch, dass das Eindringen einer großen Anzahl sich schnell vermehrender *Mannheimia haem.* A1-Erreger zu einer kranioventralen Pneumonie führt, die charakterisiert ist durch starke Fibrinexsudation, Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen, kapilläre Thrombosen und Koagulationsnekrosen, wobei letztere von Bakterien und verschiedenen abgestorbenen Entzündungszellen umgeben sind.

Maternale Antikörper im Kolostrum bieten dem Kalb einen relativen Schutz. Mit seiner Abnahme (3. - 12. Lebenswoche) steigt die Erkrankungshäufigkeit (SCHIMMEL et al., 1992). Das Erkrankungsbild stellt sich sehr komplex dar. Es ist von 1) Faktoren des Wirtes (z.B. Prädisposition, immunologische Balance oder vorhandenen Primärinfektionen), 2) abiotischen Umweltfaktoren und 3) den Pathogenitätsfaktoren des Erregers abhängig.

#### 2.1.1 Prädisponierende Faktoren der Wirtstiere und der Umgebung

##### 2.1.1.1 Prädispositionen der Kälber gegenüber respiratorischen Erkrankungen

Als Besonderheit beim Rind tritt ein hoher Segmentierungsgrad der Lunge in Erscheinung. Jedes Lungensegment stellt eine makroskopisch-anatomisch abgegrenzte Einheit dar (BERG, 1982). Diese Segmente sind durch bindegewebige Septen gut voneinander abgegrenzt. Die starke Unterteilung hat aus pathologisch-anatomischer Sicht Vorteile. Die Entzündungsprozesse laufen abgegrenzt ab, weil bindegewebige Septen nicht übersprungen werden (REINHOLD, 1997 c). Eine weitere Besonderheit der Rinderlunge ist das Fehlen kollateraler Belüftungsmöglichkeiten (Kohnsche Poren, Lambertsche Kanäle, Martinsche Kanäle) der einzelnen Lungensegmente. Bei Verlegung des Bronchialsystems eines Lungensegmentes wird das nachfolgende Lungenparenchym nicht mehr belüftet und steht somit nicht mehr dem Gasaustausch zur Verfügung. Auch das funktionell zu jedem Segmentbronchus zugehörige Gefäßsystem stellt eine strukturelle Besonderheit beim Rind dar. Die Gefäßdichte je Alveoleneinheit ist geringer als bei anderen Tierarten. Dadurch hat das Rind eine verminder-

te Gasaustauschkapazität im Vergleich zu anderen Tierarten (BERG, 1982). Weiterhin besitzt das Rind (wie auch das Schwein) im Verhältnis zu anderen Tieren eine relativ starke *Tunica muscularis* in den pulmonalen Gefäßen. Bei alveolärer Hypoxie reagieren die Gefäße dieser Tierarten mit einer deutlichen Konstriktion. Das Rind muss, um seinen Sauerstoffbedarf decken zu können, bereits unter physiologischen Bedingungen große Anteile der Lunge regelmäßig belüften (relativ kleine Lungenmasse im Bezug auf die Körpermasse, geringe Gasaustauschkapazität). Hierdurch haben permanent auch große Anteile der Lunge Kontakt mit der Umwelt (Verhältnis zwischen Atemminutenvolumen und totalem Lungenvolumen liegt beim Rind  $> 8$  und bei anderen Säugern - wie Hund, Katze, Ziege, Mensch oder Pferd zwischen 1,3 und 2,8 (nach VEIT und FARRELL, 1978) und sind somit auch vermehrt schädigenden Einflüssen (bakterielle und virale Erreger, Stäuben, toxischen Gasen u. a.) ausgesetzt, was zu erhöhter Prädisposition hinsichtlich Erkrankungen der Lunge führt (REINHOLD, 1997 c). Die hier aufgeführten Besonderheiten in der Morphologie der Rinderlunge sehen u. a. GUSTIN et al. (1987) als Ursachen für das gehäufte Auftreten von Atelektasen und die besondere Anfälligkeit von Rindern gegenüber respiratorischen Erkrankungen an.

Des weiteren beschrieben CAVERLY et al. (2001) eine verminderte antimikrobielle Wirksamkeit des aus bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit gewonnenen antimikrobiellen anionischen Peptides bei neugeborenen Kälbern gegenüber adulten Rindern. Die Autoren sahen in diesem Ergebnis eine weitere Komponente für die erhöhte Anfälligkeit von Kälbern gegenüber Erkrankungen des respiratorischen Systems.

#### 2.1.1.2 Abiotische prädisponierende Faktoren

Obwohl der Begriff „Stress“ vielseitig definiert werden kann, wird er im Schrifttum nicht selten mit der *Mannheimia haem. A1* Infektion in Verbindung gebracht.

„Stress“ wurde von WHITELEY et al. (1992) als begünstigender Faktor für die Kolonisation des oberen Respirationstraktes angesehen. So beschrieben sie ein explosionsartiges Wachstum und eine selektive Kolonisation des oberen Respirationstraktes durch *Mannheimia haem. A1* nach Änderungen der Haltungsbedingungen (Transport, Handel, Produktionsablauf) sowie nach Wechsel der klimatischen Bedingungen (Hitze, Kälte). Auch PAULSEN et al. (1989) und VAN DEN INGH et al. (1990) sahen „Stress“ als begünstigenden Faktor dieser Infektion an. BÖTCHER (1988) beschrieb einen sprunghaften Anstieg der isolierten Menge von *Mannheimia haem. A1* nachdem Kälber einem abrupten Klimawechsel ausgesetzt wurden. In einem anderen Versuchsansatz reagierten Kälber, die abrupten plötzlichen Klimawechseln ausgesetzt wurden (4 h bei 5 °C und 60 % relativer Luftfeuchte bzw. 4 h bei 35 °C und 60 %), bereits wenige Tage nach dieser Exposition mit einem Anstieg der Körpertemperatur. Weiterhin wurden 21 d nach der Exposition bei der Sektion dieser Kälber z.T. ausgedehnte Pneumonien festgestellt (ELMER, 1999), wobei aus dem Lungengewebe u.a. auch Pasteurellenstämmen (vorrangig bei Belastung der Kälber mit hoher Luftfeuchtigkeit und hohen Temperaturen) isoliert wurden. EWERS et al. (2004) beschrieben, dass hohe Luftfeuchtigkeit und niedere Temperaturen bzw. große Temperaturschwankungen die *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion begünstigen.

Die Begriffe „shipping fever“ und „transit fever“ entstanden durch die Beobachtungen von Tierbesitzern, die einen Ausbruch der Erkrankung im Zusammenhang mit dem Transport der Tiere bemerkten (GIBBS et al., 1984).

BINKHORST et al. (1990) stellten in ihren Untersuchungen fest, dass der Superoxidgehalt der im Blut enthaltenen polymorphkernigen Leukozyten bei „gestressten“ Tieren merklich unter dem von „ungestressten“ Tieren lag. Ebenso war 3 Tage nach erfolgter experimenteller In-

fektion die Anzahl der Phagozyten in der Lungenlavageflüssigkeit bei „ungestressten“ Tieren zwei mal höher als bei „gestressten“ Kälbern .

### 2.1.1.3 Biotische prädisponierende Faktoren

Zu den biotischen bzw. infektiösen Faktoren zählen insbesondere virale und bakterielle Erreger, die als Primärerreger eine Schwächung der Immunantwort, und bei einer Mischinfektion mit *Mannheimia haem. A1* eine zusätzliche Schädigung hervorrufen können (WHITELEY et al. 1992).

LOPEZ et al. (1986) wiesen in ihrer Arbeit darauf hin, dass *Mannheimia haem. A1* häufig mit anderen pathogenen Erregern (wie Viren, Chlamydien, Mykoplasmen u. a.) isoliert wurde. Sie zeigten außerdem, dass die alleinige Infektion mit *Mannheimia haem. A1* nicht zu einer signifikanten Änderung der Gesamtleukozytenzahl im Blut führte, während bei Tieren, die zuvor mit dem BVD/MD-Virus oder mit *Mycoplasma bovis* infiziert waren, einen signifikanten Anstieg der Gesamtleukozytenzahl im Blut aufwiesen.

CZUPRYNSKI et al. (1991) ermittelten in ihren Untersuchungen unterschwellige Virusinfektionen als Ursache für verminderte bakteriozide Aktivitäten der Alveolarmakrophagen. BREIDER et al. (1988) beschrieben die Erkrankung als „Bovine respiratory disease complex“, welcher seine Ursache im Zusammenwirken von verschiedenen Bakterien und Viren hat. Weiterhin wurde in dieser Arbeit darauf hingewiesen, dass viele Autoren Viren als Ursache für Schädigungen der respiratorischen Schleimhaut, für Störungen des mukoziliaren Clearance-Apparates und des pulmonalen Immunsystems sehen, wodurch die Besiedlung des Respirationstraktes durch *Mannheimia haem. A1* erleichtert wird.

Die virale Infektion des oberen Respirationstraktes verursacht die Zerstörung der Epithelzellen und eine damit einhergehende Entzündung, welche zur Bildung eines eisenreichen serösen Exsudats führt. Dieses Exsudat bildet einen guten Nährboden für Bakterien. Weiterhin kommt es bei nicht-zytolytischen Virusinfektionen zu einer Verminderung des Oberflächenfibronektins durch eine Veränderung des Zellmetabolismus der Epithelzellen und zur Erhöhung der Oberflächenproteasen der Epithelzellen. Zusätzlich besteht ein direkter Einfluss einer Virusinfektion auf die mukoziliare Clearance durch die Zerstörung der ziliärentragenden Zellen, was zur verminderten Effizienz dieses Abwehrmechanismus (WHITELEY et al., 1992) führt.

BÖTCHER (1988) beschrieb, dass eine künstliche Kolonisation der Nasenschleimhaut von Kälbern mit *Mannheimia haem. A1* selten länger als eine Woche aufrechterhalten wurde, da es zu einer Elimination der Erreger durch die körpereigenen Abwehrmechanismen kam. Eine nachfolgende Infektion mit Parainfluenzavirus 3 (PI 3) oder mit dem Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) führte jedoch zu einer länger anhaltenden Besiedlung der Nasenschleimhaut mit *Mannheimia haem. A1* und zu einer stärkeren Ausprägung des Krankheitsbildes. GIBBS et al. (1984) berichteten in ihrer Arbeit über das Voranstellen von Virusinfektionen in einigen Versuchen, um bei anschließender experimenteller Infektion mit *Mannheimia haem. A1* eine sichere Erkrankung der Tiere durch diesen Erreger zu erzielen.

### 2.1.2 Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haemolytica A1*

Die Pathogenese der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion stützt sich in der Hauptsache auf eine Vielzahl von Pathogenitätsfaktoren des Erregers selbst. Die weitaus bedeutendsten Pathogenitätsfaktoren sind die von *Mannheimia haem. A1* produzierten, direkt und indirekt toxisch wirkenden Substanzen. Hierzu zählen das Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS), das Leukoto-

xin (Lkt), das Kapselpolysaccharid (CPS) und die Proteine der äußeren Membran (OMP). Diese vier Komponenten stellen die eigentliche Ursache für die massiven Lungenveränderungen bei der Pasteurellose des Rindes dar und sollen deshalb detaillierter beschrieben werden.

Fimbrien, die spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche des Atmungstraktes erkennen und eine Anheftung des Erregers ermöglichen, besitzen ebenfalls Bedeutung als Pathogenitätsfaktor (MORCK et al., 1988; WHITELEY et al., 1992; CONLON and SHEWEN, 1993).

Weiterhin beschreiben WHITELEY et al. (1992), dass *Mannheimia haem. A1* in der Lage ist, Neuraminidasen und saure Proteasen zu produzieren. Die Produktion der Neuraminidasen erfolgt in Abhängigkeit von der Serovarität von *Mannheimia haem. A1*. Sie werden entweder in das umgebene Medium abgegeben oder sind auf der Zelloberfläche des Erregers verankert (BÖTCHER 1988). Die Neuraminidasen führen zu einer verminderten Gelbildungskapazität des respiratorischen Mukus, zur Verminderung der mukoziliaren Clearance-Effizienz und folglich zur Störung der mechanischen Abwehrfunktion (CHAE et al., 1990; EWERS et al., 2004).

Die Proteasen spalten in der Hauptsache das Oberflächenfibronectin von Epithelzellen ab, sodass spezifische Bindungsrezeptoren auf der Epithelzelloberfläche freigelegt werden. Zusätzlich inaktivieren die Proteasen sekretolytisches Immunglobulin A.

Alle bislang genannten Pathogenitätsfaktoren dienen *Mannheimia haem. A1* zur Erreichung einer gesteigerten Adhärenz und somit zu einer Kolonisierung am respiratorischen Epithel (WHITELEY et al. 1992).

#### 2.1.2.1 Endotoxin (LPS)

In der Zellwand gram-negativer Bakterien wird das Lipopolysaccharid (LPS) als Endotoxin dieser Erreger gebildet. Das Endotoxin wird beim Zerfall und bei der Teilung der Erreger frei und gelangt somit in das umgebende Gewebe.

Die verschiedenen Zelltypen des Wirtstieres reagieren unterschiedlich auf LPS. Das Eindringen des Endotoxins in die Zellen erfolgt durch seine Lipid-A-Komponente über spezifische Zellrezeptoren. In der Wirtszelle kann das LPS verschieden lokalisiert sein, wie auf der Zelloberfläche, im Zytosol, den Mitochondrien, Lysosomen, im endoplasmatischen Retikulum und/oder im Zellkern (WHITELEY et al., 1992).

LPS induziert fibrinopurulente Entzündungen mit Ödemen, Hyperämien, Hämorrhagien und herdförmigen Nekrosen des Alveolarepithels (SLOCOMBE et al., 1990 b; BROGDEN et al., 1995 a, b).

Die Freisetzung von LPS bei der bovinen Pasteurellose in das Entzündungsexudat führt nach WHITELEY et al. (1992) zu vier Folgen, nämlich der Ansammlung von LPS 1) in neutrophilen Granulozyten des Interstitiums und Kapillarblutes, 2) in den Intravaskulär-, Interstitial- und Alveolarmakrophagen, 3) im Zytoplasma von Endothelzellen und 4) auf der Epithelzelloberfläche. WHITELEY et al. (1992) beschrieben die Reaktionen verschiedener Zellen und der humoralen Abwehr auf den Kontakt mit dem Endotoxin. Weiterhin stellten diese Autoren die Möglichkeit des Endotoxins dar, die Alveolarwand in beide Richtungen passieren zu können. Besonders bovine Endothelzellen reagieren empfindlich auf LPS und weisen Zellretraktionen, erhöhte Membranpermeabilität und Kernpyknosen auf. Die aktivierten Endothelzellen produzieren weiterhin ein breites Spektrum von proinflammatorischen und prokoagulatorischen Mediatoren einschließlich Interleukin 1, Plättchen aktivierender Faktor (PAF), Prostacycline, Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Plasminogenaktivator hemmenden Faktor sowie einen Gewebefaktor (WHITELEY et al., 1992). Das von *Mannheimia haem. A1* produzierte und frei-

gesetzte Endotoxin ist ein potentieller Faktor für die Gefäßwandzerstörung beim Rind (PAULSON et al., 1989). Weiterhin erfolgt eine Aktivierung der Endothelzellen, was zu einer verstärkten intravasalen Koagulationsneigung führt. Die dargestellten direkten toxischen Effekte von *Mannheimia-haem.-A1-LPS* auf die pulmonalen arteriellen Endothelzellen des Rindes spiegeln sich in Gefäßschäden, Plättchenaggregationen, Austritt von Serumalbumin in die Alveolen und eine Aktivierung von intrinsischen Faktoren wider, deren Folgen Thrombosen und fibrinöse Exsudationen sein können (BOWERSOCK et al, 1990). Zusätzlich erfolgt eine verstärkte Anheftung von neutrophilen Granulozyten an durch LPS aktivierte Endothelzellen; hervorgerufen durch Freisetzung von Arachidonsäure aus den Endothelzellen (PAULSON et al., 1990). BREIDER et al. (1990) und WHITELEY et al. (1991 b) beschrieben ebenfalls eine direkte Endothelzellschädigung durch das *Mannheimia-haem.-A1-Endotoxin*.

Auch BROGDEN et al. (1986) wiesen in ihrer Arbeit darauf hin, dass das LPS von *Mannheimia haem. A1* sich an die Zellmembranen der Alveolen und Makrophagen des Rindes anlagert und somit eine Freisetzung von Entzündungsmediatoren sowie eine Aktivierung des Komplementsystems hervorruft. Alveolarmakrophagen und Monozyten sterben unter der Wirkung hoher Endotoxin-Dosen ab, während sie bei mittleren Dosen aktiviert werden und mit der Produktion einer Reihe von Substanzen reagieren, welche eine zentrale Rolle im Entzündungsprozess spielen. Zu diesen Substanzen zählen Interleukin 1 (IL 1), Tumornekrosefaktor  $2\alpha$  (TNF $_{2\alpha}$ ), Plättchen aktivierender Faktor (PAF) und die Leukotriene B $_4$ , C $_4$  und D $_4$  (LTB $_4$ , LTC $_4$ , LTD $_4$ ) (WHITELEY et al., 1991 a, b, 1992). Eine LPS abhängige Freisetzung von IL 1 und TNF $_{2\alpha}$  aus Makrophagen und auch aus Monozyten wurde auch von anderen Autoren wie PAULSON et al. (1990) und LEITE et al. (2003) beschrieben.

Mittlere Dosen des Lipopolysaccharids von *Mannheimia haem. A1* verstärken die Mitoserate von Lymphozyten und erhöhen die Phagozytoseaktivität von neutrophilen Granulozyten (BÖTCHER, 1988). Für die Infiltration der Luftwege der Rinder durch neutrophile Granulozyten ist das *Mannheimia haem. A1* Endotoxin mitverantwortlich (BROGDEN et al., 1995 a)

Zusätzlich erhöht LPS die Zytotoxizität des *Mannheimia-haem.-A1-Leukotoxins* und verstärkt die durch Leukotoxin induzierte Bildung von Interleukin 8 und TNF $_{2\alpha}$  in den Alveolarmakrophagen (LEITE et al., 2003).

#### 2.1.2.2 Leukotoxin (Lkt)

Das Leukotoxin oder Exotoxin ist ein hitzelabiles, oxigenstabiles, nicht haemolisierendes und wasserlösliches Protein, das von *Mannheimia haem. A1* während seiner logarithmischen Wachstumsphase gebildet wird (WHITELEY et al., 1992; BÖTCHER, 1988; MAJURY and SHEWEN, 1991 a, b). GATEWOOD et al. (1994) wiesen nach, dass die Produktion des Leukotoxins von *Mannheimia haem. A1* ausschließlich von der Wachstumsgeschwindigkeit und nicht von den Wachstumsbedingungen abhängt.

Es besteht aus zwei Untereinheiten, einem 101,9 kDa Protein (mit antigener Wirkung) sowie enthaltender Bindungseinheit und einem kleineren 19,8 kDa Protein (verantwortlich für die biologische Aktivität) (MAJURY and SHEWEN, 1991 b). Das Lkt wirkt auf verschiedenen Wegen als Virulenzfaktor. Zum einen stellt es eine Schutzfunktion für das Bakterium dar, indem es Leukozyten zerstört. Zum anderen bewirkt es die Freisetzung neutrophiler Substanzen, die zu Gewebeschäden in der Lunge führen (STYRT et al., 1990).

Es kann an die Zellmembranen degenerierter Entzündungszellen in den Alveolen binden und stellt einen Verteidigungsmechanismus von *Mannheimia haem. A1* dar (WHITELEY et al., 1990). Die DNA-Struktur des Lkt weist eine große Homologie zum Zytolysin anderer Zellen auf (MAHESWARAN et al., 1992).

Das Lkt führt zur Porenbildung in der Zellmembran (STYRT et al., 1990; CLARKE et al., 1998). Dadurch erfolgt u. a. ein erhöhter  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in die Zelle. Dieser  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom führt dann zur Aktivierung der Phospholipase, zur Freisetzung von PAF, vasoaktiven Substanzen und Arachidonsäure mit deren Untersequenzen, welche chemotaktische Wirkung auf neutrophile Granulozyten besitzen (CHERYK et al., 1998; JEYASEELAN et al., 2002; LEITE et al., 2003).

Die tierartspezifischen zytotoxischen Effekte lassen auf eine Rezeptorabhängigkeit der Bindung des Leukotoxins schließen (BÖTCHER, 1988; WHITELEY et al., 1992). Die Toxizität ist auf Leukozyten von Wiederkäuern begrenzt (WHITELEY et al., 1990, 1992; MAJURY and SHEWEN, 1991 b). Das *Mannheimia-haem.-A1* Leukotoxin führt selektiv zur Zerreißung der Plasmamembran von Granulozyten (STYRT et al., 1990). Diese zell- und speziesspezifische Toxizität wird durch die selektive Bindung des Leukotoxins an das bovine  $\beta_2$ -Intergrin auf der Zelloberfläche neutrophiler Granulozyten hervorgerufen. Die Ausbildung des  $\beta_2$ -Integrins wird durch die Anwesenheit von Lkt und LPS verstärkt und somit der zytotoxische Effekt des Leukotoxins erhöht (JEYASEELAN et al., 2002).

Eine durch Lkt verursachte direkte Schädigung des Lungenparenchyms wurde nicht beobachtet (WILKIE et al., 1990). Neutrophile Sequestration und Plättchenaggregationen in den Alveolarkapillaren stehen in Verbindung mit den pulmonalen intravasalen Makrophagen (WHITELEY et al., 1991 a, b). Die pulmonalen intravasalen Makrophagen scheinen nach WHITELEY et al. (1990) das Lkt nach Überschreiten der Alveolarwand aufzunehmen und zu inaktivieren. An Mastzellen bewirkt das Lkt von *Mannheimia haem. A1* eine vermehrte Histaminfreisetzung, die zur Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur, zur pulmonalen Vaskokonstriktion sowie zur Erhöhung der mikrovaskulären Permeabilität führt und einen zusätzlichen chemotaktischen Reiz für neutrophile Granulozyten darstellt (ADUSU et al., 1994). Weiterhin verursacht das Lkt einen „respiratory burst“ sowie die Degranulation der neutrophilen Granulozyten des Rindes und ruft eine Aktivierung von den proinflammatorischen Zytokinen IL 1 und  $\text{TNF}_{2\alpha}$  hervor. Setzt sich der  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom weiter fort, führt dies durch die Wirkung der Phospholipase zum Verlust der Zellintegrität und somit zum Absterben der Zellen (BREIDER et al., 1991; MAHESWARAN et al., 1992; WHITELEY et al., 1992).

BÖTCHER (1988) berichtet über Zytolysevorgänge bei mononukleären Zellen, neutrophilen Granulozyten und Makrophagen, wobei der Autor den neutrophilen Granulozyten des Rindes eine größere Empfindlichkeit gegenüber dem *Mannheimia-haem.-A1*-Lkt zuschreibt als den Makrophagen.

WANG et al. (1999) beschreiben eine Lkt-induzierte und  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Verlagerung der Phospholipase A2 vom Zytosol zur Zellmembran und eine Lkt-abhängige Stimulation der neutrophilen Granulozyten zur Produktion von Superoxiden und Leukotrien B4 ( $\text{LTB}_4$ ). Diese Vorgänge führen zur Degranulation der Zellen. Das Leukotoxin nimmt den Makrophagen die Fähigkeit, opsonierte Keime zu phagozytieren (BÖTCHER, 1988; MAJURY and SHEWEN, 1991 a). Es verhindert in subletaler Konzentration eine Proliferation der Lymphozyten, wobei B-Lymphozyten empfindlicher reagieren als T-Lymphozyten. Außerdem vermindert sich die Produktion chemotaktischer Faktoren durch Alveolarmakrophagen (MAJURY and SHEWEN, 1991 a).

### 2.1.2.3 Kapselpolysaccharid (CPS)

*Mannheimia haem. A1* ist umhüllt von einem Kapselpolysaccharid, welches ebenfalls einen bedeutenden Pathogenitätsfaktor darstellt. Es wird von dem Bakterium in das Entzündungsexsudat abgegeben, überquert jedoch die alveolokapilläre Membran nicht (BROGDEN et al., 1989; WHITELEY et al., 1990). Das Kapselpolysaccharid von *Mannheimia haem. A1* verschlechtert die Phagozytoserate der neutrophilen Granulozyten. Dieses *In-vitro*-Ergebnis führte zu dem Schluss, dass das CPS die Abwehrmechanismen der Lunge reduziert.

Weiterhin verbindet sich CPS mit dem die Alveolen und respiratorischen Bronchiolen auskleidenden Oberflächenfilm (Surfactant), was eine Anhaftung von *Mannheimia haem. A1* an den Alveolarwänden des Rindes ermöglicht (BROGDEN et al., 1986, 1989; KUMAR et al., 1991). Durch die Bindung von CPS an Surfactant erhöht sich die Dichte des Surfactants. Damit einher geht jedoch keine Reduktion der Wirkung des Surfactants bezüglich der Verminderung der Oberflächenspannung der Alveolen (BROGDEN et al., 1989). Die Verbindung von CPS und Surfactant ermöglicht eine Maskierung von *Mannheimia haem. A1* und somit kann sich der Erreger den Abwehrmechanismen der Lunge entziehen (BROGDEN et al., 1989; WHITELEY et al., 1990; JEYASEELAN et al., 2002).

Bei direkter Applikation von CPS in die Lunge treten makroskopische Veränderungen ausschließlich in den betroffenen Gebieten auf und beschränken sich auf multifokale Verfärbungen des Lungengewebes. Mikroskopisch ist eine Anreicherung mit Ödemflüssigkeit in Alveolen und Interlobularsepten im betroffenen Gebiet zu erkennen (BROGDEN et al., 1989).

### 2.1.2.4 Proteine der äußeren Membran (outer membrane proteins, OMP)

Neben ihrer immunogenen Wirkung stellen die OMP von *Mannheimia haem. A1* auch bedeutende Pathogenitätsfaktoren dar (JEYASEELAN et al., 2002). Hierbei ist vor allem ihre Funktion bei der Eisenbeschaffung von Bedeutung. Diese spezifischen Proteine werden nur unter eisenarmen Wachstumsbedingungen ausgebildet und fehlen dem Erreger bei seiner Anzucht in konventionellen Nährmedien (GATEWOOD et al., 1994). Eisen stellt für *Mannheimia haem. A1* einen wesentlichen Wachstumsfaktor dar, der für die Produktion von Leukotoxin und die Aufrechterhaltung der Erkrankung essentiell ist (SRINAND et al., 1996 a). Wegen ihrer Ausbildung unter eisenarmen Bedingungen werden sie auch als Eisen-regulierte-OMP (IROMP) bezeichnet. Drei Proteine mit einer Molekularmasse von 100, 77 und 71 kDa wurden von SRINAND et al. (1996 a) beschrieben. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass das 100 kDa große Protein die Funktion eines Transferrinrezeptors besitzt. Die Ausbildung von Rezeptormolekülen für eisenenthaltende Glykoproteine des Körpers stellt eine Strategie von *Mannheimia haem. A1* dar, das notwendige Eisen vom Wirt selbst zu erhalten. Zwei weitere Proteine (105 und 70 kDa), die spezifisch an das Transferrin der Rinder binden, konnten von POTTER et al. (1999) ermittelt werden. Sie bezeichneten sie als Transferrin bindende Proteine A und B (TbpA, TbpB). Auf eine Immunisierung mit diesen beiden Proteinen reagierte Kälber mit einer Antikörperbildung gegen diese beiden Proteine. Ein hoher Antikörpertiter korrelierte mit der Überlebensrate der Kälber bei einer nachfolgenden experimentellen Infektion mit *Mannheimia haem. A1* (POTTER et al., 1999). Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass eine Infektion zwar stattgefunden hat, da typische Läsionen an den Lungen der Kälber nachzuweisen waren, der Fortgang der Erkrankung jedoch verhindert wurde. Daraus lässt sich eine Hypothese über die Pathogenese der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion ableiten.

### Hypothese:

*Mannheimia haem. A1* zählt beim Rind zur normalen Keimflora der Nasenschleimhaut und befindet sich hier in der stationären Wachstumsphase. Abrupte starke Klimaänderungen führen zur Veränderung des Erregerspektrums (ELMER, 1999) und es kommt zur Vermehrung dieses Erregers während seiner stationären Phase. Ein logarithmisches Wachstum von *Mannheimia haem. A1* in dieser Zeit ist unwahrscheinlich, da das Fehlen von Läsionen an der Nasenschleimhaut, ausgelöst durch Toxinwirkung, auf ein Fehlen dieser Toxine schließen lässt. Nach Absiedelung der Bakterien in die unteren Atemwege erfolgt über die eisenbindenden OMP die Versorgung des Erregers mit Eisen. Dadurch wird es *Mannheimia haem. A1* möglich, in ein logarithmisches Wachstum überzugehen, seine Toxine zu produzieren, freizusetzen und somit die pneumonischen Veränderungen an der Kälberlunge zu verursachen.

#### 2.1.2.5 Adhaesine

*Mannheimia haem. A1* ist in der Lage, zwei verschiedene Arten von Fimbrien auszubilden: eine 12 nm große und starre Struktur und eine 5 nm große flexible Struktur. Die größeren Fimbrien besitzen eine Untereinheit mit einem Molekulargewicht von 35 kDa. Diese Untersuchungsergebnisse lassen darauf schließen, dass virulente *Mannheimia haem. A1* Stämme einen Adhäsionsfaktor ausbilden. Letzterer ermöglicht dem Mikroorganismus Mikrokolonien im oberen Respirationstrakt zu bilden, die die Ausgangsbasis für eine Besiedelung der peripheren Atemwege bildet (JEYASEELAN et al., 2002).

### **2.1.3 Pathogenetische Reaktionsmechanismen des Kälberorganismus auf die Infektion mit *Mannheimia haemolytica A1***

#### 2.1.3.1 Makrophagen

In der Lunge des Rindes gibt es verschieden lokalisierte Makrophagen (alveolär, intravaskulär, interstitiell) und Monozyten, wobei die Alveolarmakrophagen und die Monozyten eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Erkrankung einnehmen (WHITELEY et al., 1992). Bovine Alveolarmakrophagen, die *Mannheimia haem. A1* phagozytiert haben, weisen geringe bis mittlere toxikotische Erscheinungen auf (KAEHLER et al., 1980). CZUPRYNSKI et al. (1991) wiesen in ihrer Studie nach, dass das *Mannheimia-haem.-A1*-Kapselpolysaccharid zu einer Verminderung der Phagozytoseaktivität der Makrophagen führt.

Das Lipopolysaccharid-assoziierte Protein (LAP) verursacht einen starken Einstrom von Makrophagen in das Lumen der Alveolen. Bei alleiniger Instillation von LAP in die Lungen von Kälbern war der Einstrom von Makrophagen höher als bei der Instillation von *Mannheimia haem. A1* oder der LPS-Komponente dieses Bakteriums (BROGDEN et al., 1995 a).

Sowohl Alveolarmakrophagen als auch pulmonale intravasale Makrophagen sind in der Lage, Arachidonsäure entweder auf dem Zykllooxygenaseweg oder auf dem Lipooxygenaseweg zu verstoffwechseln. Die Metabolisierung der Arachidonsäure auf dem Zykllooxygenaseweg führt zur Bildung und Freisetzung von Thromboxanen (Thromboxan B<sub>2</sub>, TXB<sub>2</sub>), Prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) und Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), auf dem Lipooxygenaseweg werden Leukotriene (LT) B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub> und D<sub>4</sub> gebildet (WHITELEY et al., 1992). Die Alveolarmakrophagen weisen beim Rind die Besonderheit auf, dass mit zunehmendem Alter der Tiere ihr Vermögen, Arachidonsäure über den Lipooxygenaseweg zu verstoffwechseln, zunimmt, dagegen die Zykllooxygenaseaktivität abnimmt (LU et al., 1996). Weiterhin produzieren aktivierte Makrophagen

TNF<sub>2α</sub>, IL 1 und IL 6 sowie den Plättchen aktivierenden Faktor (PAF) und eine Reihe toxischer Sauerstoffradikale und Proteasen (WHITELEY et al., 1992). Die Bedeutung dieser Mediatoren für die Funktionen der äußeren Atmung wird im Abschnitt 2.3.2 aufgezeigt. Die Möglichkeit aktivierter Alveolarmakrophagen, durch Verstoffwechslung von Arachidonsäure Leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) zu produzieren, welches eine starke chemotaktische Wirkung auf neutrophile Granulozyten hat, führte zu der Annahme, dass die Aktivierung der Makrophagen ein entscheidender Schritt in der Pathogenese der Pasteurellenpneumonie ist (WHITELEY et al., 1991 b). Nach CAR et al. (1991) weisen die Alveolarmakrophagen nach einer Infektion mit *Mannheimia haem. A1* eine erhöhte prokoagulative Aktivität und eine verminderte profibrinolytische Aktivität auf, was nach Meinung der Autoren zu dem typischen Bild der akuten fibrinopurulenten Bronchopneumonie beiträgt. WHITELEY et al. (1991 b) beobachteten die Alveolarmakrophagen bei der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion immer in enger Beziehung zur Fibrinexudation und zum Anstieg der Anzahl und der Aktivität der neutrophilen Granulozyten in den Alveolen. Durch LPS stimulierte Alveolarmakrophagen weisen eine vermehrte Nitritproduktion auf, welches nach seiner Freisetzung zu einer Schädigung der arteriellen Endothelzellen der Lunge führt (YOO et al., 1996).

Die pulmonalen Gefäßmakrophagen sind in der Lage, Entzündungsmediatoren in größerem Ausmaß zu produzieren als die Alveolarmakrophagen (WHITELEY et al., 1992). Des Weiteren ergaben Untersuchungen von WHITELEY et al. (1991 b), dass pulmonale intravaskuläre Makrophagen in enger Beziehung zu Plättchenaggregation und der Depletion von neutrophilen Granulozyten in den Alveolarkapillaren stehen. Für eine Aktivierung der beiden Makrophagenarten machten diese Autoren die Wirkung des *Mannheimia-haem.-A1*-Endotoxins verantwortlich. Weiterhin wird von diesen Autoren die Produktion von Thromboxan A<sub>2</sub> durch die pulmonalen intravasalen Makrophagen, einen potenten Agonisten der Blutplättchen, beschrieben.

### 2.1.3.2 Neutrophile Granulozyten

Die akute pneumonische Pasteurellose der Kälber ist gekennzeichnet durch eine starke Neutrophilie im Lungengewebe. Neutrophile Granulozyten dringen innerhalb der ersten Stunden nach der Infektion in das Lungengewebe ein. MAHESWARAN et al. (1992) bezeichnen den Einstrom neutrophiler Granulozyten als entscheidenden Schritt in der Pathogenese der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion. Eine experimentell induzierte Neutropenie vor einer Infektion führte zu einer Verminderung der Lungenschäden (SLOCOMBE et al., 1985; BÖTCHER, 1988; WHITELEY et al., 1992). Weiterhin zeigten SLOCOMBE et al. (1985), dass Kälber mit einer künstlich herbeigeführten Neutropenie nach experimenteller Infektion mit *Mannheimia haem. A1* keine Hypoxämie, keine Tachypnoe oder Bradykardie und keine Hyperkapnie entwickelten. Die pathologischen Veränderungen der Lunge waren minimal. Dennoch sind bei künstlich erzeugter Neutropenie noch Lungenschäden nach einer *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion zu erkennen, was auf eine Beteiligung von anderen Zellen und Pathogenitätsfaktoren des Erregers an Parenchymschäden zurrückzuführen ist (BREIDER et al., 1988; WHITELEY et al., 1992).

Neutrophile Substanzen, die für die Gewebeschäden am Endothel der Lungenkapillaren und am Alveolarepithel verantwortlich sind, schließen Sauerstoffradikale, Enzyme wie Elastase und saure Hydrolase, aber auch Zytokine und Chemokine ein. Sie werden entweder nach Aktivierung in das umliegende Gewebe abgegeben oder beim Zerfall der neutrophilen Granulozyten freigesetzt (ACKERMANN et al., 1999). Selbige Autoren verwiesen darauf, dass es hauptsächlich Zytokine und Chemokine sind, die von den aktivierten neutrophilen Granulozy-

ten abgegeben werden, und dass diese Mediatoren für den Fortgang der Entzündung von entscheidender Bedeutung sind. *Mannheimia-haem.-A1-LPS* erhöht die Freisetzung der Myeloperoxidase aus den Granula der neutrophilen Granulozyten.

Phagozytieren neutrophile Granulozyten *Mannheimia haem. A1*, sterben die Granulozyten ab und die freiwerdenden Mediatoren erhalten den Entzündungsprozess aufrecht (BÖTCHER, 1988). Das Absterben von neutrophilen Granulozyten, hervorgerufen durch das Leukotoxin, führt zum Freiwerden ihres Enzymbestandes und dadurch zu einer Schädigung der Endothelzellen (BREIDER et al., 1990). Die durch Leukozyten produzierten und freigesetzten Sauerstoffradikale bilden die Hauptursache für die leukozytenabhängigen Gewebeschäden der Lunge, wobei die Produktion dieser Radikale von der Eisenverfügbarkeit abhängt (SLOCOMBE et al., 1990 a).

Auch CLARKE et al. (1998) wiesen auf die bedeutende Rolle der neutrophilen Granulozyten in der Pathogenese der *Mannheimia haem. A1*-bedingten Pneumonie der Rinder hin. Sie beschrieben Veränderungen der neutrophilen Granulozyten, wie Zytoplasma- und Kernveränderungen, Mitochondrienschwellung, Ausbildung autolytischer Vakuolen, Zerreißen der Plasmamembran, Kernpyknosen, Kariolysis und Kariorexese. Diese Vorgänge sind Anzeichen für den Untergang dieser Zellen, wobei toxische Enzyme freigesetzt werden.

Neutrophile Granulozyten verhindern eine direkte toxische Wirkung geringer Konzentrationen von LPS auf Endothelzellen (BREIDER et al., 1990). Bei einer *Mannheimia*-Pneumonie kommt es zur Verschiebung des Verhältnisses von neutrophilen Granulozyten zu Alveolarmakrophagen von ursprünglich 1 : 9 zu etwa 9 : 1 (LOPEZ et al., 1986). Eine relative Verminderung von Makrophagen in der Lavageflüssigkeit bei gleichzeitigem Anstieg der neutrophilen Granulozyten nach einer Infektion von Kälbern mit *Mannheimia haem. A1* wurden ebenfalls von WALKER et al. (1985) beschrieben.

### 2.1.3.3 Zusammenhänge zwischen zellulärer Reaktion und Organfunktion

Eine zentrale Rolle bei der Auslösung funktioneller Reaktionsmechanismen der Lunge des Kalbes spielen die Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haemolytica A1* selbst.

Das LPS von *Mannheimia haem. A1* reagiert mit einer Vielzahl von Zellen und dem humoralen Mediatorsystem (WHITELEY et al., 1992). Die genannten Autoren ermittelten einen direkten Effekt des LPS auf die arteriellen Endothelzellen des Rindes, wobei diese Zellen aktiviert und/oder zerstört werden. Die Aktivierung der Endothelzellen führt zur Produktion einer Reihe von Entzündungsmediatoren wie IL 1, PGE<sub>2</sub>, PAF und prokoagulatorischen Faktoren durch die Zellen. Weiterhin kommt es an den Endothelzellen zu einer Steigerung der Membranpermeabilität, Zellretraktion und Pyknose durch den Einfluss des LPS. Diese Veränderungen verursachen (1) eine Entzündung und (2) Gefäßschäden, die einen Austritt von Blutbestandteilen erlauben (WHITELEY et al., 1992). Gleichzeitig induzieren die freiwerdenden Zytokine die vermehrte Produktion von CD 18-Molekülen auf der Oberfläche von neutrophilen Granulozyten, die an die interzellulären Zelladhäsionsmoleküle (ICAM-1) auf der Oberfläche der Endothelzellen binden und somit den Einstrom von neutrophilen Granulozyten in den Alveolarraum einleiten (ACKERMANN et al., 1999).

Das Alveolarepithel wird sekundär durch das LPS geschädigt (WHITELEY et al., 1992). Die Untersucher beschrieben, dass das LPS von *Mannheimia haem. A1* sowohl Alveolarmakrophagen als auch pulmonale intravasale Makrophagen aktiviert und bei hoher Konzentrationen zerstört. Die aktivierten Makrophagen synthetisieren eine Vielzahl von proinflammatorischen und prokoagulatorischen Mediatoren, die eine zentrale Rolle in der Entstehung der Entzündungsantwort einnehmen. Besonders die Stimulation von

neutrophilen Granulozyten zur Produktion und Freisetzung von toxischen Sauerstoffradikalen durch diese Mediatoren (IL 1,  $TNF_{2\alpha}$ ) (WHITELEY et al., 1992) führt zum Absterben von Alveolarepithel- und Endothelzellen.

Die ebenfalls von Makrophagen freigesetzten Leukotriene B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> und der Plättchen aktivierende Faktor, führen einerseits zur Ansammlung neutrophiler Granulozyten (chemotaktische Wirkung von LTB<sub>4</sub> und PAF) und andererseits zur Steigerung der Gefäßpermeabilität (PAF, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) und zur Bronchokonstriktion (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) (WHITELEY et al., 1992).

Der Plättchen aktivierende Faktor wird von aktivierten Makrophagen und Endothelzellen freigesetzt und führt zur Steigerung der Gefäßpermeabilität und Plättchenaggregationen. Er hat weiterhin chemotaktische Wirkung auf neutrophile Granulozyten und bewirkt deren Aggregation und Degranulation, sodass toxische Sauerstoffradikale freierwerden. Die Plättchenaggregation führt zu Thrombenbildung im Gefäßbett der Alveolen, und die durch die neutrophilen Granulozyten freigesetzten Sauerstoffradikale schädigen wiederum die Endothelzellen.

Einen weiteren entscheidenden Pathogenitätsfaktor stellt das Leukotoxin von *Mannheimia haem. A1* dar. Dieses Toxin wirkt spezifisch auf die Leukozyten von Wiederkäuern. Das Leukotoxin ruft Zellschwellung, Zerreibungen von Organellen- und Zytoplasmamembranen und Chromatolyse bei Makrophagen und neutrophilen Granulozyten hervor. Diese Vorgänge führen zum Absterben der Zellen und somit zum Freiwerden ihrer lytischen Enzyme, welche das Alveolarepithel schädigen (KUMAR et al., 1991; WHITELEY et al., 1992; JEYASEELAN et al., 2002).

Das Kapselpolysaccharid von *Mannheimia haem. A1* verbindet sich mit dem Surfactant, was als Adhäsionsmechanismus und als Schutz vor Phagozytose durch Maskierung gilt. Weiterhin führt das Kapselpolysaccharid allein zu Schäden am Alveolarepithel, Ödemen, Hämorrhagien und Atelektasen, wobei diese Veränderungen auf den Ort des Einwirkens begrenzt sind (BROGDEN et al., 1989; KUMAR et al., 1991).

Folgen für die Funktionen der äußeren Atmung der Kälber ergeben sich aus dem Zusammenspiel einer Vielzahl von zellulären Reaktionen, welche durch die wichtigsten Pathogenitätsfaktoren (LPS, Lkt, CPS) hervorgerufen werden.

Durch die Schädigung des Alveolarepithels ist der Gasaustausch in der Lunge der Tiere gestört und die äußere Atmung beeinträchtigt (siehe Abschnitt 2.3.2). Weiterhin verursachen Schädigungen von Alveolarepithel- und Endothelzellen sowie Thrombusbildungen in den Gefäßen eine gesteigerte Gefäßpermeabilität, was zur gesteigerten Fibrinexsudation und Ödembildungen sowie nachfolgend zu Störungen des Gasaustausches führt (VAN DEN INGH et al., 1990; WHITELEY et al., 1992).

## **2.2 Immunogene Wirkung von *Mannheimia haemolytica* A1**

Neben der zellulären Abwehr ruft *Mannheimia haem. A1* auch eine immunologische Reaktion der Kälber hervor. Hierbei zeigen verschiedene vom *Mannheimia haem. A1* gebildete Substanzen unterschiedliche immunogene Wirkung. Zu den geprüften Substraten zählen neben den Ganzzellantigenen auch Präparationen von *Mannheimia-haem.-A1*-Bestandteilen wie Kulturüberstände mit LPS, Lkt und CPS; Membranproteine; Polysaccharide; unter Eisenmangel gebildete Proteine; Bouillonüberstände; Kochsalz-, Oberflächen- und Natriumsalizylextrakte (SCHIMMEL und FEIST, 1999). Die beiden Autoren verwiesen in ihrer Arbeit darauf, dass die größte immunogene Bedeutung folgenden Substraten von *Mannheimia haem. A1* zukommt: LPS, Lkt, CPS, OMP und durch Eisen regulierte Proteine.

### **2.2.1 Immunogenität von *Mannheimia-haemolytica-A1-Endotoxin (LPS)*, *Leukotoxin (Lkt)* und *Kapselpolysaccharid (CPS)***

Die drei Komponenten von *Mannheimia haem. A1* (Lkt, LPS sowie CPS) kommen meist kombiniert in Vaccinen, die aus Kulturüberständen gewonnen wurden, zum Einsatz. SRINAND et al. (1996 b) testeten handelsübliche Vaccine mit Kombinationen aus CPS und Lkt. Auch eine aus einem zellfreien, Lkt angereicherten Kulturüberstand hergestellte Vaccine, wurde von diesen Autoren untersucht. Sie ermittelten die bessere immunogene Wirkung der letztgenannten Vaccine. HODGINS und SHEWEN (1998) untersuchten die Antikörperbildung bei Kälbern gegen das CPS durch Vaccination der Tiere mit einer aus einem Kulturüberstand hergestellten, handelsüblichen Vaccine. Sie stellten fest, dass Tiere mit Antigengabe zwischen der 6. und 8. Lebenswoche, einen wesentlich höheren Antikörpertiter aufwiesen als Kälber, die zwischen der 2. und 4. Lebenswoche immunisiert worden waren.

Das CPS von *Mannheimia haem. A1* stellt einen bedeutenden Pathogenitätsfaktor dar (CHAE et al., 1990; CONLON and SHEWEN, 1993), der aber auch eine klassische zweiphasige humorale Immunantwort mit dem Umschalten von IgM zu IgG1 und IgG2 auslöst.

Eine anaphylaktische Reaktion wurde bei Kälbern beobachtet, die CPS allein oder in Kombination mit Lkt zur Immunisierung verabreicht bekamen. Da in diesen Vaccinen LPS von *Mannheimia haem. A1* nicht vorhanden war, schrieb man die anaphylaktischen Reaktionen der Wirkung des CPS zu (CONLON and SHEWEN, 1993).

Da das CPS von *Mannheimia haem. A1* als erstes Antigen dieses Erregers Kontakt mit dem Abwehrsystem der Lunge hat, muss ihm besondere Bedeutung in immunologischer Hinsicht beigemessen werden (WHITELEY et al., 1990).

### **2.2.2 Proteine der äußeren Membran (Outer Membran Proteins) (OMP)**

Die äußere Membran der gram-negativen Bakterien enthält neben Lipopolysacchariden und Phospholipiden auch Proteine wie u. a. das LPS- assoziierte Protein (LAP) (BROGDEN et al., 1995 a). In ihren Untersuchungen ermittelten sie, dass OMP zur Proliferation von B Zellen führen, die Bildung polyklonaler Antikörper gegen *Mannheimia haem. A1* induzieren und somit immunogen wirken.

Die Gensequenz eines 37 kDa Lipoproteins wurde von PANDHER und MURPHY (1996) auf der inneren und äußeren Seite der Membran von *Mannheimia haem. A1* isoliert. Sie fanden dieses Lipoprotein in Blutseren von Kälbern, welche entweder gegen natürliche Infektionen immun waren oder gegen *Mannheimia haem. A1* immunisiert worden waren. Diese Befunde zeigten damit die Bedeutung des Lipoproteins für die Resistenzentwicklung gegen eine Infektion mit *Mannheimia haem. A1* auf. SIMONS et al. (1992) isolierten in ihrer Studie ein 30 kDa großes Protein als OMP des Erregers.

Die OMP von *Mannheimia haem. A1* stellen bedeutende immunogene Faktoren bei der Resistenzentwicklung gegen die *Mannheimia*-bedingte Pneumonie des Rindes dar (PANDHER et al., 1999). In ihren Untersuchungen konnten die Autoren 21 verschiedene immunogen wirkende und an der Oberfläche des Erregers exprimierte OMP nachweisen.

OMP haben eine entscheidende Bedeutung bei der Bindung des Erregers an die Zielzellen und beim Transport von Nährstoffen durch die Membran (SIMONS et al., 1992; GATEWOOD et al., 1994; EWERS et al., 2004).

Ihre Rolle in der Pathogenese dieser Erkrankung lässt den Schluss zu, dass ein hoher Antikörpertiter gegen spezifische OMP eine schützende Immunität gegen die *Mannheimia-haemolytica-A1*-Infektion gewährleisten kann (GATEWOOD et al., 1994).

Eine besondere Bedeutung unter den OMP besitzen die eisenregulierten (SRINAND et al., 1996 a) bzw. die transferrinbindenden Proteine (POTTER et al., 1999). In beiden Arbeiten wird ein hoher Antikörperspiegel gegen diese spezifischen OMP mit einem mildereren Krankheitsverlauf und einer höheren Überlebensrate von Kälbern nach experimentellen Infektionen mit *Mannheimia haem. A1* in Zusammenhang gebracht.

## **2.3 Physiologie und Pathologie der äußeren Atmung des Kalbes unter besonderer Berücksichtigung der *Mannheimia-haemolytica-A1*-Infektion**

### **2.3.1 Physiologie der äußeren Atmung**

Die Aufgaben der äußeren Atmung bestehen in der Sauerstoffaufnahme aus der und Kohlendioxidabgabe an die Umwelt. Die Sauerstoffversorgung sowie die Kohlendioxidabgabe des Körpers erfolgt durch das komplexe Zusammenspiel von drei Organsystemen (respiratorisches System, Herzkreislaufsystem und Erythropoesesystem).

Aus anatomischer Sicht zählen zum respiratorischen System die oberen extrathorakalen und die unteren intrathorakalen Atmungswege (beginnend an der Bifurkation), sowie das Gefäßbett, die Pleura, die Thoraxwand und die Atmungsmuskulatur. Der Gastransport zwischen Lunge und Gewebe und zurück erfolgt durch das Herzkreislaufsystem. Verantwortlich für den Sauerstofftransport im Blut sind die Erythrozyten, so dass als drittes Organsystem das Knochenmark als Bildungsort der Erythrozyten sowie die Nieren als Erythropoetin-bildendes Organ in das Erythropoesesystem mit einbezogen sind.

Der Vorgang der äußeren Atmung wird durch vier Teilfunktionen beschrieben. Hierzu zählen (1) Ventilation, (2) Diffusion, (3) Perfusion und (4) Distribution.

#### (1) Ventilation

Die Ventilation beinhaltet zwei Teilfunktionen: die der Sauerstoffaufnahme dienende Inspiration und die der Kohlendioxidabgabe dienende Expiration. Hierbei kommen den einzelnen Abschnitten des Atmungstraktes unterschiedliche Aufgaben zu. Während die oberen Atemwege ausschließlich dem Transport, der Befeuchtung sowie der Filtration und der Erwärmung der Atemluft dienen (anatomischer Totraum), erfolgt in den periphersten Atemwegen (bestehend aus *Ductuli alveolares*, *Sacculi alveolares* und *Alveoli*) der Gasaustausch an der Blut-Luft-Schranke. Die bei anderen Tierarten zur Gasaustauschfläche zählenden *Bronchioli respiratorii* fehlen dem Rind.

Die Spontan- oder Ruheatmung wird durch mehrere Kenngrößen charakterisiert. Das Atemzugvolumen (tidal volume,  $V_T$ ) ist das Volumen, welches unter den Bedingungen der Ruheatmung ein- bzw. ausgeatmet wird. Bei Säugern gilt hierfür allgemein ein Wert von etwa 10 - 15 ml/kg Körpermasse. Für klinisch gesunde Kälber wurde von REINHOLD und FÖDISCH (1993) ein Atemzugvolumen von 11,4 ml/kg Körpermasse ermittelt. Dieser Wert verdeutlicht, dass  $V_T$  bezogen auf die Körpermasse beim Kalb niedriger ist im Vergleich zu anderen Säugern. Eine Ursache hierfür liegt in der geringeren spezifischen Dehnbarkeit der Lunge des Rindes gegenüber anderen Tierarten (REINHOLD, 1997 c). Die Folge ist eine geringere Atemtiefe, die durch eine höhere Atmungsfrequenz (AF) kompensiert werden muss, um ein gleiches Atemzeitvolumen zu erreichen. Das Atemminutenvolumen (AMV) ergibt sich aus der Multiplikation des  $V_T$  und der AF. Ein Maß für die Effektivität der Ventilation stellt die Beziehung zwischen AMV und dem Sauerstoffverbrauch des Organismus unter definierten Bedingungen dar. Diese Beziehung wird als spezifische Ventilation bezeichnet. Die spezifische Ventilation hängt hauptsächlich vom Verhältnis zwischen alveolärer und

Totraumventilation ab. Der Wert für die spezifische Ventilation drückt aus, wieviel ml Luft eingeatmet werden müssen, um 1 ml Sauerstoff aufzunehmen. Hierzu ermittelten REINHOLD und FÖDISCH (1993) für das gesunde Kalb einen mittleren Wert von 33 ml und für das lungenkranke Kalb einen durchschnittlichen Wert von 37 ml.

Die Atmungsmechanik beschreibt Widerstände, welche Einfluss auf die Homogenität oder Inhomogenität der regionalen Ventilation nehmen. Hierzu zählen Resistance, Inertance und Compliance. Die Resistance beschreibt Strömungswiderstände innerhalb der Atemwege. Atemwegsabschnitte mit geringem Durchmesser weisen einen größeren Strömungswiderstand auf als Abschnitte mit großem Durchmesser. Hierbei ist zu beachten, dass der Durchmesser von einzelnen Atemwegen mit zunehmender Aufzweigung zwar abnimmt, die Summe der Atemwegsquerschnitte nimmt jedoch zu. Dadurch entsteht eine Verlangsamung des Luftstromes und somit eine Verminderung des gesamten Atemwegswiderstandes. Die größten Widerstände sollen in der 6. bis 10. Atemwegsgeneration vorherrschen (MEAD, 1961). Inertive respiratorische Widerstände (Inertance) werden durch die Trägheit der Luftsäule im rohrähnlichen Atemwegssystem hervorgerufen und sind unter den Bedingungen der Ruheatmung zu vernachlässigen. Als Maß für die Dehnbarkeit des Lunge-Thorax-Systems dient die Compliance. Die Compliance der Lunge wird determiniert durch elastische Fasern des Lungengewebes sowie durch die Oberflächenspannung in den Alveolen und Terminalbronchien. Durch die elastischen Fasern des Lungengewebes und die gedehnte Muskulatur des Brustkorbes erfolgt die Expiration passiv und die gespeicherte Energie wird dazu genutzt, die Ausatemungsluft gegen den Strömungswiderstand zu transportieren. Der spezifische Strömungswiderstand und die spezifische Atemarbeit beim Rind sind physiologischerweise größer als bei anderen Tierarten, während die dynamische Compliance geringer ist (GUSTIN et al., 1988).

## (2) Diffusion

Die Diffusion ist ein Vorgang, der an der alveolo-kapillären Membran der Azini stattfindet. Sie ist unter anderem von folgenden 4 Faktoren abhängig:

1. von der Gasaustauschfläche (Alveolen und Kapillaren),
2. von der Dicke der alveolo-kapillären Membran (Länge der Diffusionsstrecke),
3. von der Kontaktzeit des Sauerstoffes mit den Erythrozyten und
4. von der Partialdruckdifferenz ( $\Delta P$ ) des Sauerstoffs zwischen Alveolar- und Kapillarpartialdruck.

Der Volumenstrom der diffundierenden Gase lässt sich hierbei nach dem FICK'schen Gesetz berechnen. Bei der Beurteilung der Diffusion gilt, dass Kohlendioxid einen 20fach höheren Löslichkeitskoeffizienten als Sauerstoff besitzt. Aus diesem Grund diffundiert Kohlendioxid deutlich schneller durch die alveolo-kapilläre Membran als Sauerstoff.

## (3) Perfusion

Die Perfusion stellt den Vorgang der Umspülung der Alveolen mit Blut dar. Diese Kenngröße ist abhängig von der Anzahl an anatomisch vorhandenen und funktionell durchbluteten alveolären Gefäßen, dem Gefäßtonus, der Durchflussgeschwindigkeit des Blutes und von ggf. vorhandenen Thrombosen dieser Gefäße. Weiterhin wird die Perfusion durch den Blutdruckunterschied zwischen pulmonalen Arterien und pulmonalen Venen, den Gefäßwiderstand und die Gravitationskraft beeinflusst (LEKEUX, 1993). Einen zusätzlichen entscheidenden Faktor zur Regulierung der Perfusion stellt die Fähigkeit der pulmonalen Arteriolen zur hypoxischen Vasokonstriktion (Euler-Liljestrand-Mechanismus) dar (ROBINSON, 1982, 1997; SULLYMA, 1990). Dieser Mechanismus ist bei den Haussäugetieren in unterschiedlichem Maße

ausgeprägt und hängt von der Stärke der Ausbildung der glatten Muskulatur der pulmonalen Arteriolen ab. Das Rind besitzt neben dem Schwein eine stark ausgebildete *Tunica muscularis* in den kleinen Pulmonalarterien und reagiert aus diesem Grund auf alveoläre Hypoxien mit einer starken Vasokonstriktion (ROBINSON, 1997). Diese Gefäßkonstriktion bewirkt lokal, dass vorrangig gut belüftete Lungenbereiche gut durchblutet werden. Dagegen haben minderbelüftete Bezirke eine schwache Durchblutung. Tritt dieser Reflex jedoch generalisiert im gesamten Lungengewebe auf, führt dies zu einer erheblichen Drucksteigerung in der *Arteria pulmonalis* und somit zu einer vermehrten Belastung des rechten Herzens.

#### (4) Distribution

Die Distribution beschreibt regionale Homogenitäten und/oder Inhomogenitäten zwischen Ventilation und Perfusion. Sie ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Zunächst spielt die Verteilung der ventilierten Luft in der Lunge eine Rolle. Gravitationsbedingte Schwankungen des intrapleurales Druckes führen bei stehenden Tieren dazu, dass in dorsalen Lungenbezirken der endexpiratorische Intrapleuraldruck deutlich negativer als in ventralen Bereichen ist (LEKEUX et al., 1984 a, b). Dies führt endexpiratorisch zu einer Vordehnung der Alveolen in den dorsalen Lungenbezirken. Somit kommt es zu einem verminderten Ventilationsvolumen je Alveole in den dorsalen Lungenbezirken (LEKEUX, 1993). Die eingeatmete Luft wird vorrangig in die Lungenareale transportiert, die einen niedrigen Atemwegswiderstand aufweisen und ein gut dehnbares Alveolargebiet besitzen. Da unterschiedliche Strömungswiderstände der Atemwege und unterschiedliche Dehnbarkeiten der Alveolarbereiche bereits beim gesunden Tier bestehen, ist die Belüftung der Lunge auch unter physiologischen Bedingungen nicht homogen (REINHOLD, 1997 c).

Ein weiterer Faktor der Distribution ist die Durchblutung der beatmeten Lungenbezirke. Eine unzureichende oder fehlende Durchblutung gut belüfteter Lungenbezirke führt ebenso zur verminderten Sauerstoffaufnahme über die alveolo-kapilläre Membran in das Blut wie die unverminderte Durchblutung schlecht belüfteter Lungenbezirke.

### **2.3.2 Veränderungen von Funktionen der äußeren Atmung im Zusammenhang mit der *Mannheimia-haemolytica-A1*-Infektion des Kalbes**

Die unter Punkt 2.1.3 dargelegten Auswirkungen der Pathogenitätsfaktoren von *Mannheimia haem. A1* lassen darauf schließen, dass es zu beträchtlichen Schädigungen des Respirationstraktes durch diesen Erreger kommen dürfte. Hiervon können die vier Teilbereiche der Lungenfunktion (Ventilation, Diffusion, Perfusion und Distribution) einzeln oder in unterschiedlichen Kombinationen betroffen sein.

#### 2.3.2.1 Störungen von Ventilation und Atmungsmechanik

Die Ventilation wird durch ventilatorische Kenngrößen und durch Kenngrößen der Atmungsmechanik beschrieben.

Die in der Literatur beschriebenen Auswirkungen einer *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion auf die ventilatorischen Parameter ( $V_T$ , AF, AMV) gibt Tabelle 1 wieder.

**Tabelle 1: Messwerte ventilatorischer Kenngrößen vor und nach der experimentellen Infizierung mit *Mannheimia haemolytica* A1 (Alle Werte als  $\pm s$ )**

Anzahl der Tiere (Alter)	Körpermasse kg	Messzeitpunkt	Atmungsfrequenz (AF) $\text{min}^{-1}$	Atemzugvolumen ( $V_T$ ) ml	Atemminutenvolumen (AMV) l	Referenz
n = 8 (7 bis 15 d) keine Angaben zum Schweregrad der Erkrankung	44,4 $\pm$ 5,8	<i>a.i.</i>	28 $\pm$ 9	359 $\pm$ 78	9,7 $\pm$ 2,7	LINDEN (1995 a, b)
		1 h <i>p.i.</i>	61 $\pm$ 26	233 $\pm$ 93	13,5 $\pm$ 5,2	
		2 h <i>p.i.</i>	88 $\pm$ 16	175 $\pm$ 32	15,3 $\pm$ 2,8	
		3 h <i>p.i.</i>	76 $\pm$ 22	196 $\pm$ 50	14,2 $\pm$ 3,6	
		4 h <i>p.i.</i>	71 $\pm$ 22	211 $\pm$ 63	15,1 $\pm$ 4,9	
		5 h <i>p.i.</i>	66 $\pm$ 23	210 $\pm$ 64	13,1 $\pm$ 4,5	
		6 h <i>p.i.</i>	73 $\pm$ 23	213 $\pm$ 98	14,3 $\pm$ 4,3	
		7 h <i>p.i.</i>	67 $\pm$ 27	227 $\pm$ 101	13,7 $\pm$ 5,0	
		8 h <i>p.i.</i>	58 $\pm$ 25	223 $\pm$ 77	12,2 $\pm$ 4,1	
		9 h <i>p.i.</i>	55 $\pm$ 26	248 $\pm$ 103	11,8 $\pm$ 4,1	
10 h <i>p.i.</i>	57 $\pm$ 27	250 $\pm$ 65	12,7 $\pm$ 6,2			
n = 3 (7 bis 14 d) mittelgradig erkrankt	keine Angaben	<i>a.i.</i>	33 $\pm$ 7	358 $\pm$ 86	10,7 $\pm$ 2,2	DESMECHT (1995 a, b, c)
		1 h <i>p.i.</i>	77 $\pm$ 34	221 $\pm$ 76	15,1 $\pm$ 5,6	
		2 h <i>p.i.</i>	96 $\pm$ 10	187 $\pm$ 58	17,2 $\pm$ 2,7	
		3 h <i>p.i.</i>	78 $\pm$ 25	195 $\pm$ 55	14,3 $\pm$ 3,0	
		4 h <i>p.i.</i>	78 $\pm$ 31	213 $\pm$ 55	10,0 $\pm$ 5,0	
		5 h <i>p.i.</i>	74 $\pm$ 19	206 $\pm$ 37	14,5 $\pm$ 4,1	
		6 h <i>p.i.</i>	83 $\pm$ 24	196 $\pm$ 53	14,6 $\pm$ 4,2	
		7 h <i>p.i.</i>	77 $\pm$ 33	212 $\pm$ 44	16,2 $\pm$ 5,5	
		8 h <i>p.i.</i>	78 $\pm$ 28	217 $\pm$ 61	14,7 $\pm$ 5,3	
		9 h <i>p.i.</i>	74 $\pm$ 19	213 $\pm$ 35	14,6 $\pm$ 4,7	
10 h <i>p.i.</i>	68 $\pm$ 13	268 $\pm$ 75	16,6 $\pm$ 3,7			
n = 3 (7 bis 14 d) hochgradig erkrankt	keine Angaben	<i>a.i.</i>	30 $\pm$ 11	436 $\pm$ 56	12,6 $\pm$ 3,4	DESMECHT (1995 a, b, c)
		1 h <i>p.i.</i>	64 $\pm$ 15	281 $\pm$ 117	17,0 $\pm$ 3,8	
		2 h <i>p.i.</i>	75 $\pm$ 19	227 $\pm$ 57	17,5 $\pm$ 5,0	
		3 h <i>p.i.</i>	56 $\pm$ 20	274 $\pm$ 55	14,5 $\pm$ 2,1	
		4 h <i>p.i.</i>	0 $\pm$ 22	299 $\pm$ 85	15,0 $\pm$ 1,1	
		5 h <i>p.i.</i>	46 $\pm$ 24	312 $\pm$ 97	12,8 $\pm$ 2,0	
		6 h <i>p.i.</i>	45 $\pm$ 31	378 $\pm$ 134	14,2 $\pm$ 3,2	
		7 h <i>p.i.</i>	29 $\pm$ 13	345 $\pm$ 138	8,8 $\pm$ 0,5	
		8 h <i>p.i.</i>	28 $\pm$ 8	343 $\pm$ 33	9,4 $\pm$ 2,8	
		9 h <i>p.i.</i>	21 $\pm$ 6	400 $\pm$ 44	8,3 $\pm$ 1,8	
10 h <i>p.i.</i>	16 $\pm$ 3	318 $\pm$ 59	5,3 $\pm$ 0,2			

### Restriktive Veränderungen

Restriktive Ventilationsstörungen sind durch eine verminderte Dehnbarkeit (verminderte Compliance) des Lungengewebes charakterisiert (REINHOLD, 1997 c; OLSCHESKI und SEEGER, 1999). Ursachen für eine verminderte Compliance können z. B. LPS bedingte Ödembildung im Lungenparenchym und/oder durch Reaktionsmechanismen des Wirtes selbst oder durch direkte Toxineinwirkung des Erregers verursachte Nekrosen sein (PAULSON et al., 1989; WHITHELEY et al., 1991 a; MAHESWARAN et al., 1992; REINHOLD, 1993; HARE et al., 1996; PANDHER et MURPHY 1996). Kälber, die mit *Mannheimia haem. A1* infiziert wurden, wiesen innerhalb der ersten 10 h *p.i.* einen Abfall der dynamischen Compliance ( $C_{Ldyn}$ ) auf (DESMECHT, 1995 a; LINDEN, 1995 a, b). Eine biphasische Verminderung der  $C_{Ldyn}$  wurde innerhalb von 90 min *p.i.* von SLOCOMBE et al. (1990 b) beschrieben. Die von den Autoren ermittelten Werte sind in Tabelle 2 dargestellt.

### Obstruktive Veränderungen

Obstruktive Ventilationsstörungen entstehen durch Querschnittsvermindierungen der Atemwege, in deren Konsequenz sich der Strömungswiderstand (Resistance) erhöht. Die Obstruktionen werden endobronchial meist durch entzündungsbedingte Reaktionen der Atemwege, wie Spasmen der glatten Bronchialmuskulatur, vermehrte Produktion von Bronchialschleim und Ödembildung an der Bronchialschleimhaut bedingt. Diese entzündlichen Veränderungen liegen bei einer *Mannheimia haem. A1* bedingten Bronchopneumonie gemeinsam vor. Eine Erhöhung der totalen pulmonalen Resistance ( $R_L$ ) *p.i.* wurde von DESMECHT (1995 a), LINDEN (1995 a, b) und SLOCOMBE et al. (1990 b) beschrieben (Tabelle 3).

Wie Tabellen 2 und 3 widerspiegeln, beschränken sich die Aussagen zu den Auswirkungen einer *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion auf die konventionellen Parameter der Atmungsmechanik (dynamische Compliance [ $C_{Ldyn}$ ] bzw. totale pulmonale Resistance [ $R_L$ ]) auf wenige Beschreibungen im Schrifttum. Zu erwähnen ist, dass die Messungen von  $C_{Ldyn}$  und  $R_L$  nur auf invasivem Wege (Oesophagusballonkatheter) möglich sind.

Mit Hilfe moderner nicht-invasiver Verfahren wird die Atmungsmechanik durch die komplexe respiratorische Impedanz ( $Z_{rs}$ ) bzw. durch ihre Kenngrößen der Resistance (R) und der Reactance (X) beschrieben. Die Resistance beinhaltet die zentrale ( $R_z$ ) und die periphere Resistance ( $R_p$ ). Die zentrale Resistance stellt die Summe der Strömungswiderstände der oberen Atemwegen und der Widerstände (resistiv) von Thoraxwand, Zwerchfell sowie Lungengewebe dar. Die periphere Resistance fasst Strömungswiderstände in den dehnbaren (distalen) Atemwegen zusammen.

Die Reactance enthält compliante und inertierte Widerstände. Der compliante Widerstand setzt sich theoretisch aus der Summe von Compliance der Lunge ( $C_L$ ), der Thoraxwand ( $C_w$ ) und der Bronchien ( $C_b$ ) zusammen und geht als negativer Anteil in die Reactance ein. Die Trägheit der Luftsäule innerhalb der Atemwege wird durch die Inertance beschrieben. Sie geht als Positivanteil in die Reactance ein (REINHOLD, 2001).

Zur Erfassung dieser atemungsmechanischen Parameter im Zusammenhang mit der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion des Kalbes lagen vor Beginn der experimentellen Arbeit im Rahmen dieser Studie keine im Schrifttum veröffentlichten Daten vor.

**Tabelle 2: Auswirkungen einer *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf dynamische Compliance ( $C_{L,dyn}$ ) als Kenngröße der Atmungsmechanik (Daten  $> n = 1$  als  $\pm s$ )**

Anzahl der Tiere (Alter)	Körpermasse (kg)	Messzeitpunkt	dynamische Compliance ( $C_{L,dyn}$ )	Referenz
n = 12 (7 bis 14 d)	44,9 ± 4,1	<i>a.i.</i>	0,87 ± 0,20 l/kpa	DESMECHT (1995 a, b, c)
		1 h <i>p.i.</i>	0,46 ± 0,20 l/kpa	
		2 h <i>p.i.</i>	0,35 ± 0,13 l/kpa	
		3 h <i>p.i.</i>	0,32 ± 0,11 l/kpa	
		4 h <i>p.i.</i>	0,31 ± 0,08 l/kpa	
		5 h <i>p.i.</i>	0,31 ± 0,09 l/kpa	
		6 h <i>p.i.</i>	0,39 ± 0,13 l/kpa	
		7 h <i>p.i.</i>	0,37 ± 0,10 l/kpa	
		8 h <i>p.i.</i>	0,42 ± 0,13 l/kpa	
		9 h <i>p.i.</i>	0,41 ± 0,18 l/kpa	
10 h <i>p.i.</i>	0,42 ± 0,18 l/kpa			
n = 8 (7 bis 15 d)	44,4 ± 5,8	<i>a.i.</i>	0,85 ± 0,18 l/kpa	LINDEN (1995 a, b) (umgerechnet in SI-Einheiten)
		1 h <i>p.i.</i>	0,47 ± 0,23 l/kpa	
		2 h <i>p.i.</i>	0,38 ± 0,14 l/kpa	
		3 h <i>p.i.</i>	0,28 ± 0,11 l/kpa	
		4 h <i>p.i.</i>	0,30 ± 0,09 l/kpa	
		5 h <i>p.i.</i>	0,30 ± 0,09 l/kpa	
		6 h <i>p.i.</i>	0,36 ± 0,14 l/kpa	
		7 h <i>p.i.</i>	0,34 ± 0,11 l/kpa	
		8 h <i>p.i.</i>	0,39 ± 0,13 l/kpa	
		9 h <i>p.i.</i>	0,38 ± 0,18 l/kpa	
10 h <i>p.i.</i>	0,39 ± 0,17 l/kpa			
n = 1	keine Angabe	<i>a.i.</i>	0,032 l/kpa pro kg*	SLOCOMBE et al., 1990 b (umgerechnet in SI-Einheiten)
		0 min <i>p.i.</i>	0,015 l/kpa pro kg*	
		30 min <i>p.i.</i>	0,027 l/kpa pro kg*	
		60 min <i>p.i.</i>	0,024 l/kpa pro kg*	
		90 min <i>p.i.</i>	0,009 l/kpa pro kg*	

Erläuterung zu Tabelle 2:

\* = Daten bezogen auf kg KM

**Tabelle 3: Auswirkung einer *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion auf die totale pulmonale Resistance ( $R_L$ ) als Kenngröße der Atmungsmechanik (Daten > n = 1 als  $\pm s$ )**

Anzahl der Tiere (Alter)	Körpermasse (kg)	Messzeitpunkt	totale pulmonale Resistance ( $R_L$ )	Referenz
n = 9 (7 bis 14 d) gering und mittelgradig erkrankt	keine Angaben	<i>a.i.</i>	0,36 ± 0,17 kPa l <sup>-1</sup> s	DESMECHT (1995 a, b, c)
		1 h <i>p.i.</i>	0,43 ± 0,13 kPa l <sup>-1</sup> s	
		2 h <i>p.i.</i>	0,40 ± 0,14 kPa l <sup>-1</sup> s	
		3 h <i>p.i.</i>	0,52 ± 0,19 kPa l <sup>-1</sup> s	
		4 h <i>p.i.</i>	0,51 ± 0,16 kPa l <sup>-1</sup> s	
		5 h <i>p.i.</i>	0,47 ± 0,15 kPa l <sup>-1</sup> s	
		6 h <i>p.i.</i>	0,44 ± 0,15 kPa l <sup>-1</sup> s	
		7 h <i>p.i.</i>	0,41 ± 0,13 kPa l <sup>-1</sup> s	
		8 h <i>p.i.</i>	0,45 ± 0,27 kPa l <sup>-1</sup> s	
		9 h <i>p.i.</i>	0,49 ± 0,19 kPa l <sup>-1</sup> s	
10 h <i>p.i.</i>	0,44 ± 0,19 kPa l <sup>-1</sup> s			
n = 3 (7 bis 14 d) schwer erkrankt	keine Angaben	<i>a.i.</i>	0,29 ± 0,09 kPa l <sup>-1</sup> s	DESMECHT (1995 a, b, c)
		1 h <i>p.i.</i>	0,53 ± 0,25 kPa l <sup>-1</sup> s	
		2 h <i>p.i.</i>	0,66 ± 0,50 kPa l <sup>-1</sup> s	
		3 h <i>p.i.</i>	0,95 ± 0,53 kPa l <sup>-1</sup> s	
		4 h <i>p.i.</i>	0,65 ± 0,38 kPa l <sup>-1</sup> s	
		5 h <i>p.i.</i>	0,96 ± 0,41 kPa l <sup>-1</sup> s	
		6 h <i>p.i.</i>	0,96 ± 0,43 kPa l <sup>-1</sup> s	
		7 h <i>p.i.</i>	0,97 ± 0,42 kPa l <sup>-1</sup> s	
		8 h <i>p.i.</i>	0,88 ± 0,43 kPa l <sup>-1</sup> s	
		9 h <i>p.i.</i>	1,11 ± 0,42 kPa l <sup>-1</sup> s	
10 h <i>p.i.</i>	1,11 ± 0,42 kPa l <sup>-1</sup> s			
n = 8 (7 bis 15 d)	44,4 ± 5,8	<i>a.i.</i>	0,32 ± 0,11 kPa l <sup>-1</sup> s	LINDEN (1995 a, b) (umgerechnet in SI-Einheiten)
		1 h <i>p.i.</i>	0,42 ± 0,12 kPa l <sup>-1</sup> s	
		2 h <i>p.i.</i>	0,34 ± 0,09 kPa l <sup>-1</sup> s	
		3 h <i>p.i.</i>	0,53 ± 0,20 kPa l <sup>-1</sup> s	
		4 h <i>p.i.</i>	0,44 ± 0,15 kPa l <sup>-1</sup> s	
		5 h <i>p.i.</i>	0,43 ± 0,18 kPa l <sup>-1</sup> s	
		6 h <i>p.i.</i>	0,36 ± 0,15 kPa l <sup>-1</sup> s	
		7 h <i>p.i.</i>	0,35 ± 0,08 kPa l <sup>-1</sup> s	
		8 h <i>p.i.</i>	0,39 ± 0,15 kPa l <sup>-1</sup> s	
		9 h <i>p.i.</i>	0,45 ± 0,14 kPa l <sup>-1</sup> s	
10 h <i>p.i.</i>	0,44 ± 0,18 kPa l <sup>-1</sup> s			
n = 1	keine Anagabe	<i>a.i.</i>	0,17 kPa l <sup>-1</sup> s	SLOCOMBE et al., 1990b (umgerechnet in SI-Einheiten)
		0 min <i>p.i.</i>	0,46 kPa l <sup>-1</sup> s	
		30 min <i>p.i.</i>	0,31 kPa l <sup>-1</sup> s	
		60 min <i>p.i.</i>	0,43 kPa l <sup>-1</sup> s	
		90 min <i>p.i.</i>	0,56 kPa l <sup>-1</sup> s	

### 2.3.2.2 Störungen der Diffusion

Die *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion des Kalbes ist u. a. charakterisiert durch alveoläre Ödeme, serofibrinöse Exsudationen in die Alveolen und Endothelzellschwellungen (PAULSON et al., 1990). Durch Verlegung der Alveolen mit serofibrinösem Exudat können solch entzündlich veränderte Bereiche nicht mehr ausreichend belüftet werden und stehen somit nicht mehr als Gasaustauschfläche zur Verfügung. Ein Ödem der alveolokapillären Membran verlängert die Diffusionsstrecke des Sauerstoffs und des Kohlendioxids (REINHOLD, 1997 c; OLSCHESKI und SEEGER, 1999). Hierzu liegen jedoch im Schrifttum keine Messergebnisse für die *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion des Kalbes vor.

Die Diffusionskapazität der Lunge wird aber auch von der Gastransportkapazität des Blutes bestimmt. Hierbei ist insbesondere der Sauerstofftransport von der zur Verfügung stehenden Menge an Hämoglobin abhängig. Diesbezüglich konnte LINDEN (1995 b) eine signifikante Verminderung des Hämoglobins innerhalb von 3 h nach der experimentellen Infizierung von Kälbern mit *Mannheimia haem. A1* von  $9,61 \pm 0,5$  g/dl auf  $8,85 \pm 0,43$  g/dl (von  $5,96 \pm 0,31$  mmol/l auf  $5,49 \pm 0,27$  mmol/l) nachweisen. Ein weiterer Aspekt, der zu Einschränkungen der Diffusion führt, ist die verminderte Kontaktzeit der inspirierten Luft mit der alveolokapillären Membran durch eine hypoxische Vasokonstriktion der Lungengefäße (REINHOLD, 1997 c; OLSCHESKI und SEEGER, 1999). Insgesamt ist festzustellen, dass im veterinärmedizinischen Schrifttum keine validen Daten vorhanden sind, welche die Diffusionskapazität bei einer *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion quantifizieren.

### 2.3.2.3 Störungen der Perfusion

*Mannheimia haem. A1* bewirkt nicht nur die im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Veränderungen am Lungengewebe selbst. Hinzu kommen hier vor allem Schädigungen am Endothel der Lungenkapillaren, welche zu Thrombosierungen der Lungengefäße führen können (BREIDER et al., 1988; PAULSON et al., 1990; REINHOLD, 1997 c). Untersuchungen zur Perfusion der Lunge wurden im Zusammenhang mit der *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion durch Druckmessungen in der *Arteria pulmonalis* durchgeführt. Nach Untersuchungen von LINDEN (1995 b) war der Blutdruck in der Pulmonalarterie zwischen 2,5 h und 9,5 h nach der experimentellen Infizierung von Kälbern mit *Mannheimia haem. A1* erhöht, wobei signifikante Erhöhungen zwischen 7,5 h und 9,5 h nachgewiesen wurden. Weiterhin zeigte sich bei diesen Tieren, dass der Blutdruck im pulmonalen Kapillarbett nahezu unverändert blieb und gegen Ende der Untersuchungen (9,5 h) sogar sank. Die Differenz zwischen dem diastolischen pulmonalen arteriellen Blutdruck und dem Blutdruck im pulmonalen Kapillarbett stieg im Untersuchungszeitraum von 9,5 h an. Diese Druckdifferenz verdeutlicht die Mehrbelastung des rechten Herzens durch die hypoxische Vasokonstriktion bei einer *Mannheimia-haem.-A1*-Infektion des Kalbes (LINDEN, 1995 b). Die ermittelten Werte sind in Tabelle 4 abgebildet.

**Tabelle 4: Störungen der Perfusion (Daten als  $\pm s$ )**

Anzahl der Tiere (Alter)	Körpermasse (kg)	Messzeitpunkt	Blutdruck in der <i>Arteria pulmonalis</i> (kPa)	Differenz zwischen pulmonalem arteriellen Blutdruck und dem Blutdruck im pulmonalen Kapil- larbett (kPa)	Referenz
n = 8 (7 bis 15 d)	44,4 $\pm$ 5,8	a.i.	2,17 $\pm$ 0,36	0,33 $\pm$ 0,09	LINDEN, 1995 b
		9,5 h p.i.	3,19 $\pm$ 1,24	0,97 $\pm$ 0,33	

#### 2.3.2.4 Störungen der Distribution

Distributionsstörungen stellen im Wesentlichen Imbalancen im Verhältnis zwischen Ventilation und Perfusion dar. Hierbei gibt es zwei Möglichkeiten. Zum Einen können minderbelüftete Alveolaregebiete (z B Emphyseme, Atelektasen oder mit entzündlichem Exsudat gefüllte alveoläre Bereiche) weiterhin normal durchblutet werden. Dies führt zur Ausbildung eines Rechts-Links-Shunts. Hierbei wird das die Lunge durchströmende Blut nicht ausreichend arterialisiert. Zum Zweiten kann es bei Thrombosierungen von Lungengefäßen in Folge von entzündlich bedingten Endothelzellzerstörungen (z. B. Einwirkung von *Mannheimia-haem.-A1-LPS* auf Endothelzellen) zu einer Minderdurchblutung ausreichend belüfteter Lungengebiete (Totraumventilation) und somit zu einer verminderten Sauerstoffaufnahme aus der inspirierten Luft kommen (REINHOLD 1997, c; OLSCHESKI und SEEGER, 1999). Gezielte Messungen und somit exakte Daten für Totraumventilation und Szintigraphien zur Darstellung der Perfusion der Lunge liegen für die Veterinärmedizin bislang im Schrifttum nicht vor.

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

Die Effizienz der äußeren Atmung kann durch verschiedene Blutgasparameter und Kenngrößen des Säure-Basen-Status quantifiziert werden. Es finden sich in der Literatur einige Untersuchungen, welche belegen, dass die *Mannheimia-haem.-A1-Infektion* zu einer Minderung der Effizienz der äußeren Atmung führt. Folgende Veränderungen wurden beschrieben: ein verminderter arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $P_aO_2$ ), verminderte arterielle Sauerstoffsättigung des Hämoglobins ( $S_aO_2$ ) und eine Erhöhung der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz ( $A-aDO_2$ ).

Ein biphasischer Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes nach intratrachealer Verabreichung von *Mannheimia-haem.-A1-LPS* wurde von SLOCOMBE et al. (1990 b) beobachtet. Dieser Abfall erfolgte sofort bzw. 1,5 h nach der Inokulation, wobei sich zwischen diesen Zeitpunkten eine Erholung des Sauerstoffpartialdruckes zeigte. Eine schnell eintretende und stark ausgeprägte Hypoxämie, allerdings nicht biphasisch, wird auch von anderen Autoren bei der *Mannheimia-haem.-A1-Infektion* des Kalbes beschrieben (REINHOLD, 1993; DESMECHT, 1995 a; LINDEN, 1995 b). Innerhalb von 10 h nach der Infizierung konnte ein signifikanter Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes beobachtet werden (DESMECHT, 1995 a; LINDEN, 1995 b).

Ein Absinken des arteriellen pH-Wertes und somit das Vorhandensein einer respiratorisch bedingten Azidose (erhöhter  $P_aCO_2$ ) wurde ebenfalls beschrieben (LINDEN, 1995 b; DESMECHT, 1995 a).

Zum Verhalten des Kohlendioxidpartialdruckes im arteriellen Blut finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Zum einen wird von REINHOLD und FÖDISCH (1993) der signifikante Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes im arteriellen Blut und somit das Vorliegen einer Globalinsuffizienz bei an enzootischer Brochopneumonie erkrankten Kälbern (unabhängig vom Erreger) beschrieben. Andere Autoren (SLOCOMBE et al., 1990; DESMECHT, 1995 a, b; LINDEN, 1995 a, b) konnten keinen signifikanten Anstieg des  $P_aCO_2$  ermitteln. DESMECHT (1995 a) verwies jedoch darauf, dass bei beginnenden komatösen Zuständen der Tiere die Herzfrequenz zunimmt, die Atmungsfrequenz und das Atemminutenvolumen jedoch abnehmen, und dass in diesem Stadium durch vermehrte Totraumventilation und vermehrten Einsatz von Atemmuskulatur bei Verminderung des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes ein An-

stieg des arteriellen Kohlendioxidpartialdruckes entsteht. Tabelle 5 zeigt die von den Autoren zu den einzelnen Parametern ermittelten Werte.

**Tabelle 5: Auswirkungen der Störungen der Effizienz der äußeren Atmung (Daten > n = 1 als  $\pm s$ )**

Anzahl der Tiere (Alter)	Körpermasse (kg)	Messzeitpunkt	P <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (kPa)	P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> (kPa)	S <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (%)	Referenz
n = 3 (7 bis 14 d)	44,9 ± 4,1	a.i.	12,14 ± 0,95	6,09 ± 0,23	95,3 ± 1,31	DESMECHT, 1995 a
		10 h p.i.	2,7 ± 0,48	13,36 ± 0,89	30,63 ± 9,07	
n = 8 (7 bis 15 d)	44,4 ± 5,8	a.i.	11,74 ± 1,08	6,30 ± 0,52		LINDEN, 1995 b
		10 h p.i.	8,29 ± 3,17	6,22 ± 1,13		
n = 1 (< 3 Wochen)	keine Angabe	a.i.	12,64	4,84		SLOCOMBE et al., 1990 b
		0 min p.i.	6,36	4,44		
		30 min p.i.	8,47	4,84		
		60 min p.i.	10,28	4,76		
		90 min p.i.	7,91	4,43		

### 2.3.4 Aus dem Stand des Literaturwissens abgeleitete Zielstellungen für die eigenen Untersuchungen

Die in der Literatur dargestellten Parameter zu Funktionen der äußeren Atmung beweisen, dass die Infektion mit *Mannheimia haemolytica* A1 zu nachhaltigen Störungen verschiedener Teilfunktionen der äußeren Atmung führen kann.

Allerdings ist die Datenlage zu den funktionellen Konsequenzen einer *Mannheimia-haemolytica*-A1-Infektion bislang als sehr gering einzuschätzen.

Während die pathogenetischen Erreger-Wirt-Interaktionen auf zellulärer Ebene sehr intensiv erforscht und gut dokumentiert sind, existieren im Schrifttum nur wenige Arbeiten, in welchen (neben den klinischen Erscheinungsbildern) die pathophysiologischen Konsequenzen einer *Mannheimia-haem.*-A1-Infektion für den Kälberorganismus betrachtet wurden. Zusätzlich ist anzumerken, dass die wenigen dokumentierten Untersuchungen zu Beeinträchtigungen pulmonaler Funktionen mit älteren invasiven Messverfahren durchgeführt wurden. Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Konsequenzen der *Mannheimia-haem.*-A1-Infektion für die äußere Atmung mit Hilfe von nicht invasiven Messmethoden liegen nicht vor.

Hieraus leitete sich die Zielstellung für die eigenen Untersuchungen ab. Es sollten in deren Verlauf die pulmonalen Dysfunktionen, sowie deren funktionelle Konsequenzen für den Gesamtorganismus nach einer experimentell induzierten *Mannheimia-haem.*-A1-Infektion zielgerichtet untersucht und quantifiziert werden.

Von den 4 Teilfunktionen der äußeren Atmung sollten die Kenngrößen von Ventilation und Atmungsmechanik direkt durch moderne lungenfunktionsdiagnostische Verfahren, die nicht invasiv am Kalb anwendbar sind, erfasst werden.

Die Effizienz der äußeren Atmung war mittels Blutgasanalyse zu bestimmen. Die Ergebnisse der Blutgasanalyse lassen nur bedingt Rückschlüsse auf Störungen von Teilfunktionen der äußeren Atmung zu, erlauben aber, den Schweregrad von Gasaustauschstörungen zu quantifizieren.

Weitere im peripheren Blut erfasste Parameter sollten helfen, den Verlauf und das Ausmaß der entzündlichen Reaktionen und deren Folgen für den Gesamtorganismus einschätzen zu können und somit das Bild der pathophysiologischen Einblicke abzurunden.