

Stimulierung der Antikörperproduktion von neugeborenen Kälbern durch die Verfütterung von Eipulver

Dr. M. H. Erhard und Prof. Dr. M. Stangassinger (München)

Einleitung

Immunität bedeutet die Unempfindlichkeit von Lebewesen gegenüber krankheitserregenden Einwirkungen. Als humorale Immunantwort wird die spezifische Immunreaktion mit entsprechender Produktion spezifischer Antikörper gegen fremdartige Strukturen, wie sie beispielsweise Krankheitserreger darstellen, bezeichnet. Derartig erzeugte Antikörper können bei einigen Säugern vom Muttertier über die Plazenta auf den Fetus übertragen werden und somit das Tier bereits zum Zeitpunkt der Geburt passiv schützen.

Beim Wiederkäuer liegen allerdings andere Verhältnisse vor. Bereits 1892 beschrieb Ehrlich die Notwendigkeit der ausreichenden Versorgung mit maternalem Kolostrum für neugeborene Tiere. Smith und Little (1922) stellten dann eine Beziehung zwischen der frühzeitigen Kolostrumfütterung und der Fähigkeit von Kälbern zur Abwehr von Krankheiten her. Rinder besitzen nämlich eine Plazenta epitheliochorials, die eine diaplazentare Aufnahme maternaler Antikörper nicht zuläßt (Brambell, 1966; Bush und Staley, 1980). Kälber werden demzufolge nahezu agammaglobulinämisch, also ohne passiven Immunschutz, geboren und sind deshalb nach der Geburt auf die rasche und ausreichende Aufnahme von Antikörpern aus dem Kolostrum angewiesen, um einen ersten spezifischen Schutz gegen Infektionserreger zu erhalten. Hohe Immunglobulinkonzentrationen gehen mit einer verringerten Morbiditäts- und Mortalitätsrate, verursacht durch die klassischen Kälbererkrankungen wie Septikämie, Diarrhoe, Pneumonie und Omphalophlebitis, einher.

In Kenntnis des direkten Zusammenhangs zwischen Immunglobulinaufnahme und der Gesundheit des Jungtieres hat sich in der englischsprachigen Literatur der Begriff des "Failure of passive transfer of antibodies (FPTA)" durchgesetzt (z.B. Blom, 1982; Gay, 1983; Besser und Gay, 1994). Gründe für einen mangelhaften Transfer von Immunglobulinen können im Management (Monitoring der Geburt, nicht ausreichende "Akklimation" der Muttertiere), bei den Muttertieren (Gesundheitszustand) und bei den Neugeborenen selbst (Unreife, intestinale Malabsorption) liegen. Untersuchungen von McGuire et al. (1976) belegten, daß bei 69 % der in der ersten Lebenswoche verendeten Kälber ein Immundefizit vorlag. Entsprechend weisen nach Rea et al. (1996) Immunglobulin G (IgG)-defiziente Kälber auch ein höheres Sterblichkeitsrisiko auf. Die rasche postnatale kolostrale Aufnahme von IgG, der Klasse von Antikörpern mit der höchsten Konzentration im Kolostrum, ist somit für die Ausbildung einer vorübergehenden passiven Immunität beim neugeborenen Kalb von zentraler Bedeutung.

Nach den Angaben von Banks (1982) und Logan et al. (1978) liegen die Halbwertszeiten für IgG bei ca. 20 Tagen. Mit zunehmendem Verbrauch bzw. Abbau der maternalen Antikörper muß das Kalb daher mit der Eigensynthese von spezifischen Antikörpern nach entsprechendem Antigenkontakt beginnen. Die aktive eigene Immunität ersetzt somit den schwindenden passiven maternalen Immunschutz.

Bezüglich der Frage, ob die Fütterung von Fremdprotein die Ausbildung dieser passiven und aktiven Immunität bei neugeborenen Kälbern beeinflußt, sind nur wenige Daten verfügbar. Veranlaßt durch die positiven Erfahrungen bei der

Verfütterung von Eipulver mit erregerspezifischen Antikörpern als effektive Maßnahme zur Absicherung der Kälberaufzucht (Ikemori et al., 1992; Erhard et al., 1993; Kuroki et al., 1994; Özpınar et al., 1996) und der Aufzucht von Ferkeln (Yokoyama et al., 1992; Kellner et al., 1994; Erhard et al., 1996), wurden auch Studien zur intestinalen Aufnahme von Fremdproteinen aus dem Eipulver bei neugeborenen Kälbern durchgeführt (Erhard et al., 1995 und 1997). Danach werden Eiproteine bei gleichzeitiger Verabreichung mit dem ersten Kolostrum absorbiert. Die vorliegende Studie sollte deshalb klären, inwieweit diese systemische Verfügbarkeit von Fremdproteinen zu einer spezifischen Immunantwort führt und ob dadurch der Beginn und/oder die Größenordnung der Eigensynthese von IgG beeinflußt werden kann.

Material und Methoden

Insgesamt erhielten 18 neugeborene Kälber innerhalb der ersten 14 Lebensstunden auf drei Tränken verteilt durchschnittlich 4,5 Liter eines gepoolten Kolostrums. Zehn dieser Kälber bekamen ab der ersten Kolostrumaufnahme bis zum 14. Lebenstag täglich 20 g Eipulver (Globigen 88[®], LAH, Cuxhaven) gefüttert (Gruppe I und II), von denen fünf (Gruppe II) am 49. Lebenstag mit jeweils 100 µg der Eiproteine IgY (Fällung aus Eidotter) und Ovalbumin (OvA; Sigma, Deisenhofen) in Kombination mit dem Adjuvans Pam₃Cys-Ser-(Lys)₄ (250 µg pro Injektion; Boehringer, Mannheim) subkutan immunisiert wurden. Zur Kontrolle wurden fünf nicht mit Eipulver gefütterte Kälber in der gleichen Weise immunisiert (Gruppe III). Die restlichen 3 Kälber wurden nicht immunisiert und erhielten keine Eipulverzulage.

Mittels selbst entwickelter Sandwich-ELISA-Systeme wurden in den Seren der Kälber die Antikörpertiter gegen die Eipulverbestandteile IgY und OvA bestimmt. Außerdem wurde im Kolostrumpool und in den Kälberseren die IgG1- und IgG2-Konzentrationen gemessen. Aus der Summe beider Immunglobulinsubklassen konnte nun auf den zeitlichen Verlauf der Gesamt-IgG-Konzentration in den Seren aller neugeborenen Kälber in den ersten 11 Wochen post natum geschlossen werden. Zusätzlich wurde bei allen Kälbern die Körpergewichtsentwicklung im Versuchszeitraum (11 Wochen) erfaßt. Unter der Annahme eines konstanten Blutvolumens von 8 % des Körpergewichts und eines Hämatokritwertes von 0,35 wurde aus der Serum-IgG-Konzentration die gesamte intravasale Menge an IgG berechnet und in Bezug zur Eipulverfütterung gestellt.

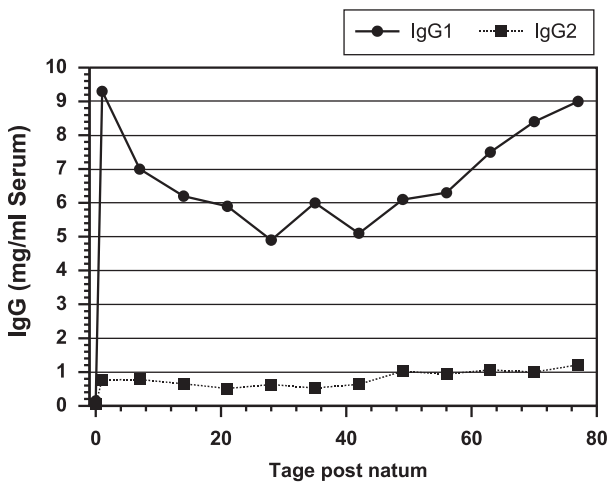
Ergebnisse und Diskussion

1. Bovine IgG-Konzentrationen

Im Kolostrum wurden IgG-Gehalte von 54,9 mg IgG1 und 4,2 mg IgG2 pro ml gemessen. Die Gesamt-Konzentration an bovinem IgG betrug demnach im Kolostrumpool 59,1 mg IgG/ml. Bei einer durchschnittlichen Tränkeaufnahme von 4,5 Litern an gepooltem Kolostrum entsprach dies einer täglichen kolostralen IgG-Versorgung von 266 g.

Mit einem durchschnittlichen Wert von 0,21 mg IgG pro ml Serum war die mittlere IgG-Konzentration bei den Kälbern vor der ersten Kolostrumaufnahme erwartungsgemäß sehr niedrig. Zwölf Stunden nach der dritten Kolostrummahlzeit stiegen die IgG-Werte auf Maximalkonzentrationen von 10,1 mg pro ml Serum an. Im weiteren zeitlichen Verlauf sanken die IgG-Werte bis Tag 28 post natum kontinuierlich auf das signifikant niedrigere Niveau von im Schnitt 5,6 mg/ml Serum ab. Im Verlauf des sich daran anschließenden Wiederanstiegs verdoppelte sich die mittlere IgG-Konzentration bis zum 77. Lebenstag auf den signifikant höchsten Wert von annähernd 10,2 mg/ml Serum. Die Konzentrationen der IgG-Subklassen im zeitlichen Verlauf der Versuchsperiode von 11 Wochen sind in der Abbildung 1 dargestellt.

Abbildung 1: Serum Immunglobulin G1 (IgG1)- und G2 (IgG2)-Konzentrationen bei neugeborenen Kälbern in der postnatalen Periode

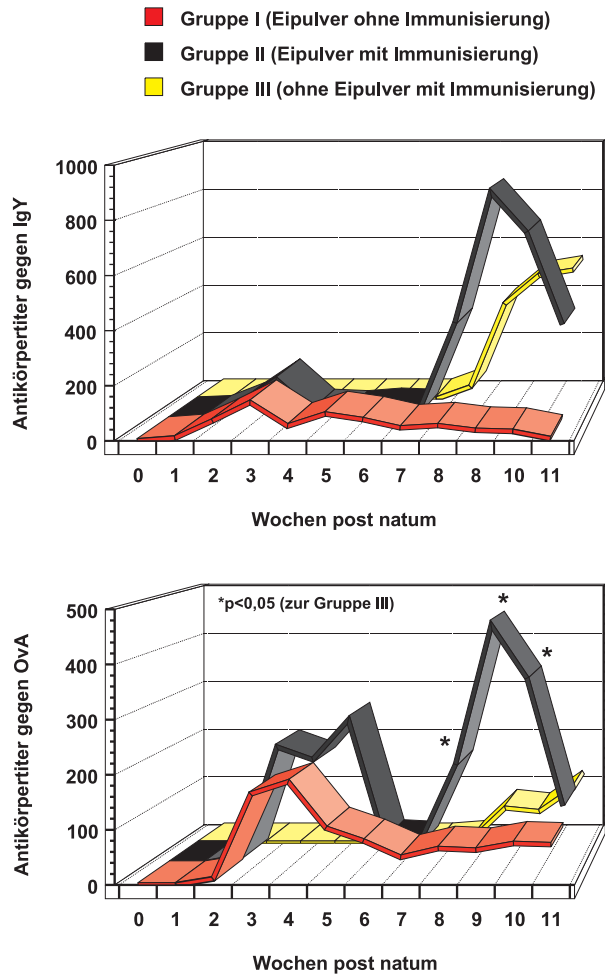


2. Spezifische Titer

Aus der Literatur ist bekannt, daß eine Reihe von Antigenen beim neugeborenen Kalb nach parenteraler Applikation am ersten Lebenstag eine Immunreaktion auslösen kann (z.B. Kerr, 1956; Schulz, 1973). Husband und Lascelles (1975) beschrieben auch eine humorale Immunantwort neugeborener Kälber innerhalb der ersten 14 Lebenstage nach parenteraler Antigenpräsentation von Ovalbumin am ersten Lebenstag. Wird dagegen neugeborenen Kälbern zusätzlich Kolostrum verabreicht, das spezifische Antikörper gegen die applizierten Antigene aufweist, bleibt eine entsprechende Immunantwort aus.

Unter den Bedingungen der Verfütterung von Eipulver in den ersten Stunden post natum bildeten die Kälber ab der 1. bis 2. Lebenswoche ebenfalls spezifische Antikörper gegen die darin enthaltenen Eipulverproteine IgY und OvA (Abb. 2a, 2b).

Abbildung 2: Antikörpertiter (ELISA-Einheiten/ml Serum) gegen die Eiroteine Immunglobulin Y (IgY, Abb. 2a) und Ovalbumin (OvA, Abb. 2b) nach der Fütterung von Eipulver (Gruppe I und II) an neugeborene Kälber



Die höchsten Antikörpertiter wurden 3 Wochen (IgY) bzw. 4 bis 5 Wochen (OvA) post natum ermittelt. Nach erneutem Kontakt mit dem jeweiligen Antigen infolge einer parenteralen Immunisierung (Tag 49 post natum) zeigte sich ein besonders ausgeprägter Boostereffekt darin, daß maximale Titerwerte bei dieser Gruppe von Kälbern im Mittel um zwei Wochen früher erreicht wurden und bis zu viermal höher lagen (OvA, p<0,05) als bei Kälbern ohne vorherige Eipulverfütterung. Dabei war nach der Immunisierung mit Hühner-IgY im Vergleich zur Immunisierung mit Ovalbumin ein weitaus stärkerer Anstieg des spezifischen Titers zu beobachten. Somit konnte gezeigt werden, daß neugeborene Kälber auch nach oraler Antigenverabreichung eine systemische humorale Immunantwort zeigen. Voraussetzung dafür scheint die intestinale Absorption von Eipulverbestandteilen in den ersten Lebensstunden zu sein (Erhard et al., 1995 und 1997).

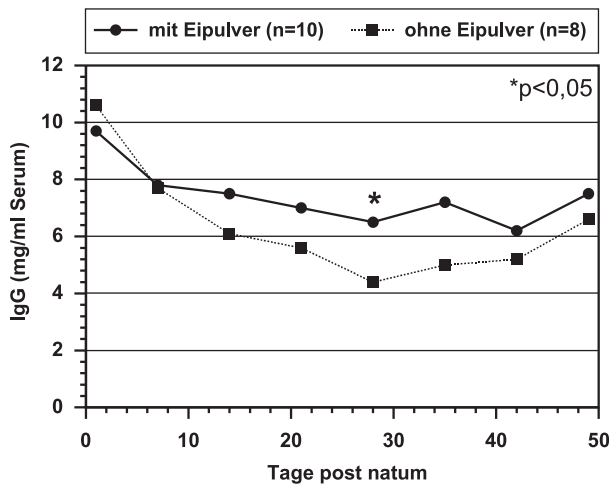
3. Einflüsse der Eipulverfütterung

Infolge der Fremdproteinfütterung lag die Serum-IgG-Konzentration auf einem höheren Niveau, was zum Zeitpunkt 28. Tag post natum signifikant war (Abb. 3). Ausgehend von annähernd gleichen mittleren Serumkonzentrationen von 9,7

In der 7. Lebenswoche wurden die Kälber der Gruppen II und III subkutan mit IgY und OvA immunisiert (n = 5 pro Gruppe, t-Test)

bzw. 10,6 mg IgG pro ml zum Zeitpunkt 12 Stunden nach der dritten Kolostrummahlzeit reduzierten sich die IgG-Werte bei den ohne Eipulver ernährten Tieren bis zum Tag 28 post natum kontinuierlich auf signifikant niedrigere Konzentrationen, während die Zufütterung von Eipulver bereits ab Tag 14 post natum mit einem geringeren Abfall der IgG-Konzentration verbunden war. So hatten die Kälber mit Eipulverzulage am Tag 28 post natum 6,5 mg IgG/ml Serum und Kälber, denen kein Eipulver appliziert wurde, zeigten zu diesem Zeitpunkt nur 4,4 mg IgG/ml Serum.

Abbildung 3: Serum Immunglobulin G (IgG)-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Eipulverfütterung bei neugeborenen Kälbern (t-Test)



Das Körpergewicht aller 18 Kälber stieg im Versuchszeitraum ausgehend von einem Geburtsgewicht von durchschnittlich 42,5 kg bis zur 11. Lebenswoche auf 93,1 kg an. Im Hinblick auf die Eipulverfütterung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kälbergruppen gefunden werden (Abb. 4).

Unter Berücksichtigung der erhobenen Körpergewichtsentwicklung und der gemessenen IgG-Konzentrationen wurde der zeitliche Verlauf des körpergewichtskorrigierten Serum-IgG-Pools abgeschätzt (Abb. 5, Erhard et al., 1999). Aus der Rückextrapolation des Wiederanstiegs des Serum-IgG-Pools ergibt sich, daß der Zeitpunkt des Beginns der Eigensynthese der Immunglobuline deutlich vor dem Sichtbarwerden dieser Konzentrationszunahme der Immunglobuline im Serum (um den 35. Tag post natum) liegen muß. Der Beginn der Eigensynthese würde danach bereits in der ersten bis zweiten Lebenswoche des Kalbes einsetzen.

Demzufolge war auch der Serum-IgG-Pool bei den Kälbern mit Eipulverfütterung gegenüber den Kälbern ohne diesen Zusatz ab dem Tag 14 post natum zwischen 18,3 % (Tag 49) und 45,7 % (Tag 28, $p < 0,10$) erhöht.

Abbildung 4: Körpergewichtsentwicklung der neugeborenen Kälber in Abhängigkeit von der Eipulverfütterung

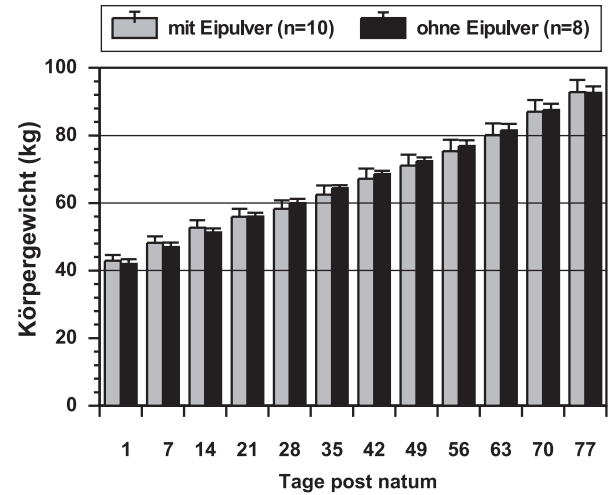
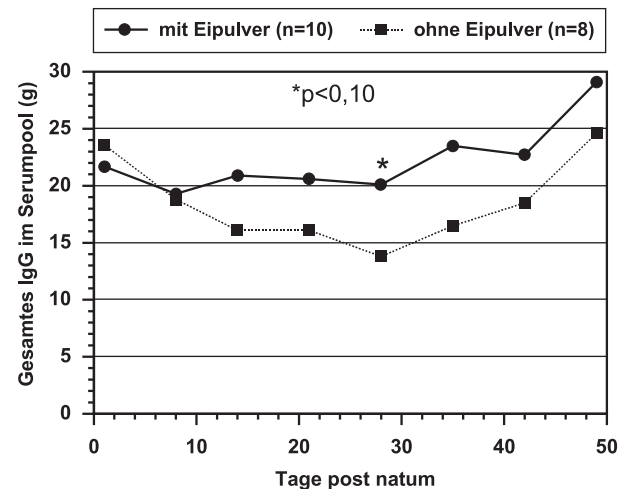


Abbildung 5: Errechnete Gesamtmenge an IgG im Serum unter Berücksichtigung eines konstanten Blutvolumens von 8 % des Körpergewichts und eines Hämatokritwertes von 0,35 in Abhängigkeit von der Eipulverfütterung (t-Test)



Fazit

Die Eipulverfütterung ab der ersten Kolostrumtränke führte demnach zu einer Stimulierung der humoralen Immunantwort bei den neugeborenen Kälbern. Welche Bedeutung eine derartig frühe Stimulierung des Immunsystems des sich entwickelnden Organismus für die spätere Immunität hat, bedarf der Klärung in weiteren Studien.

Literatur

- Banks, K. L. (1982): Host defence in newborn animals. *JAVMA* 181, 1053-1056.
- Besser, T. E. und C. C. Gay (1994): The importance of colostrum to the health of neonatal calf. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 10, 107-117.
- Blom, J. Y. (1982): The relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease and enteritis in calves. *Nord. Vet. Med.* 34, 276-281.
- Brambell, F. W. R. (1966): The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet*, 1097-1093.
- Bush, L. J. und T. E. Staley (1980): Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *Autr. J. Biol. Med. Sci.* 49, 629.
- Ehrlich, P. (1892): Über Immunität durch Vererbung und Saugung. *Z. Hyg. Infektionskr.* 12, 183.
- Erhard, M. H., J. Kellner, J. Eichelberger und U. Lösch (1993): Neue Möglichkeiten in der oralen Immunprophylaxe der Neugeborenenstuhldiarrhoe des Kalbes - ein Feldversuch mit spezifischen Eiantikörpern. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 106, 383-387.
- Erhard, M. H., U. Lösch und M. Stangassinger (1995): Untersuchungen zur Absorption von homologem und heterologem Immunglobulin G bei neugeborenen Kälbern. *Z. Ernährungswiss.* 34, 160-163.
- Erhard, M. H., J. Bergmann, M. Renner, A. Hofmann und K. Heinritzi (1996): Prophylaktische Wirkung von spezifischen Dotterantikörpern bei *Escherichia coli* K88 (F4)-bedingten Durchfallerkrankungen von Absatzferkeln. *J. Vet. Med. A* 43, 217-223.
- Erhard, M. H., E. Göbel, B. Lewan, U. Lösch und M. Stangassinger (1997): Zur systemischen Verfügbarkeit von bovinem Immunglobulin G und von Hühner-Immunglobulin Y aus gefüttertem Kolostrum bzw. Volleipulver bei neugeborenen Kälbern. *Arch. Anim. Nutr.* 50, 369-380.
- Erhard, M. H., P. Amon, S. Nüske und M. Stangassinger (1999): Studies on the systemic availability of maternal and endogeneously produced immunoglobulin G1 and G2 in newborn calves by using newly developed ELISA systems. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* in press.
- Gay, C. C. (1983): Failure of passive transfer of colostral immunoglobulin and neonatal disease in calves: a review. *Proc. 4th Intern. Symp. Neonatal Diarrhea, Saskatoon*, 346-364.
- Husband, A. J. und A. K. Lascelles (1975): Antibody response to neonatal immunisation in calves. *Res. Vet. Sci.* 18, 201-207.
- Ikemori, Y., M. Kuroki, R. C. Peralta, H. Yokoyama und Y. Kodama (1992): Protection of neonatal calves against enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 53, 2005-2008.
- Kellner, J., M. H. Erhard, M. Renner und U. Lösch (1994): Therapeutischer Einsatz von spezifischen Eiantikörpern bei Saugferkeldurchfall - ein Feldversuch. *Tierärztl. Umschau* 49, 31-34.
- Kerr, W. R. (1956): Active immunity experiments in very young calves. *Vet. Rec.* 68, 476-477.
- Kuroki, M., M. Ohta, Y. Ikemori, R. C. Peralta, H. Yokoyama und Y. Kodama (1994): Passive protection against bovine rotavirus in calves by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Arch. Virol.* 138, 143-148.
- Logan, E. F., C. H. McMurray, D. G. O'Neill, P. J. McParland und F. J. McRory (1978): Absorption of colostral immunoglobulins in neonatal calves. *Brit. Vet. J.* 134, 263.
- McGuire, T. C., N. E. Pfeiffer, J. M. Weikel und R. C. Bartsch (1976): Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. *JAVMA* 169, 713-718.
- Özpinar, H., M. H. Erhard, N. Aytug, A. Özpinar, C. Baklaci, S. Karamüptüoğlu, A. Hofmann und U. Lösch (1996): Dose-dependent effects of specific egg antibodies in diarrhea of newborn calves. *Prev. Vet. Med.* 27, 67-73.
- Rea, D. E., J. W. Tyler, D.D. Hancock, T. E. Besser, L. Wilson, D. S. Krytenberg und S. G. Sanders (1996): Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostral immunoglobulins. *JAVMA* 208, 2047-2049.
- Schulz, R. D. (1973): Comments on the immune response of the fetus and neonate. *Am. J. Vet. Res.* 163, 804-806.
- Smith, T. und R. B. Little (1922): The significance of colostrum in newborn calf. *J. Exp. Med.* 36, 181.
- Yokoyama, H., R. C. Peralta, R. Diaz, S. Sendo, Y. Ikemori und Y. Kodama (1992): Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infect. Immun.* 60, 998-1007.