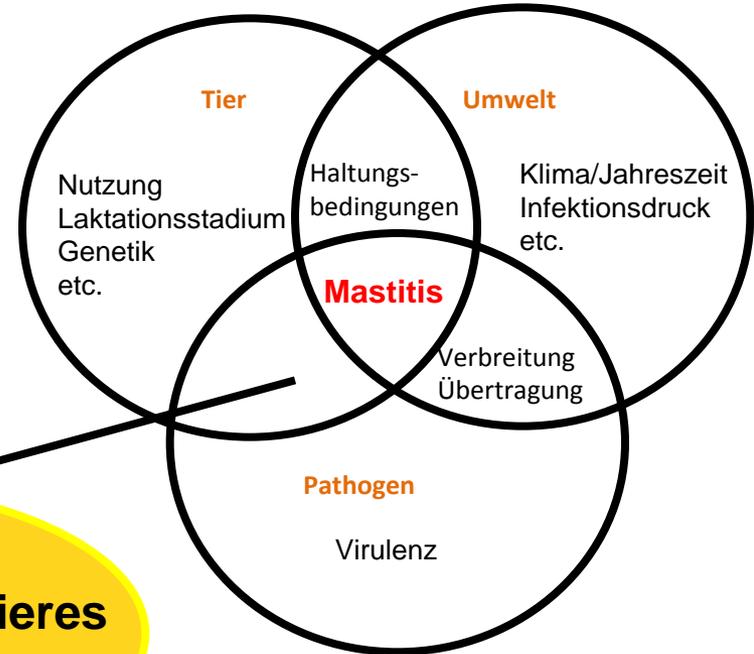


Pathogen-spezifische Immunantwort: neue Erkenntnisse zur Rolle der Blut-Milch-Schranke

Olga Wellnitz

Veterinär-Physiologie, Vetsuisse Fakultät, Universität Bern

Einflussfaktoren des Mastitisverlaufs:



Immunantwort des Tieres auf das Pathogen

Pathogenspezifische Reaktionen

=> schnellere Erkennung

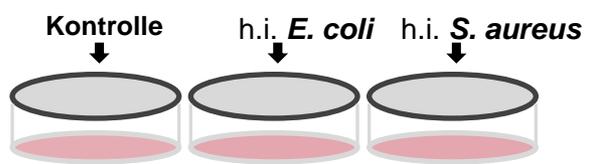
=> Optimierung der Therapie

Pathogenspezifität: Unterschiedliche Bakterien

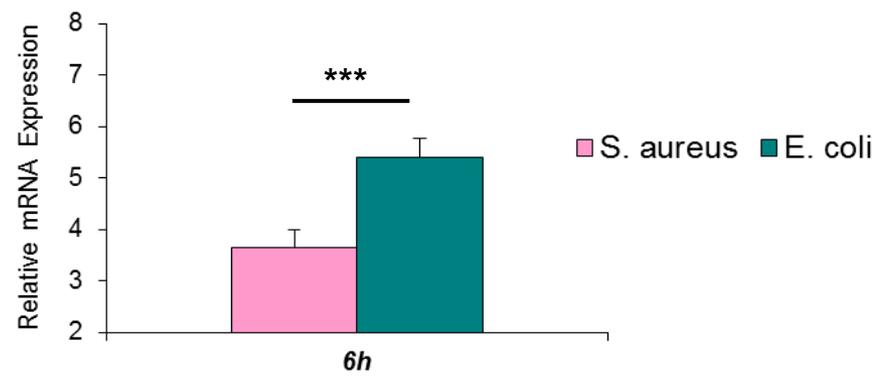
E. coli (akute Mastitis) vs *S. aureus* (chronische Mastitis)

Milchdrüsenepithel

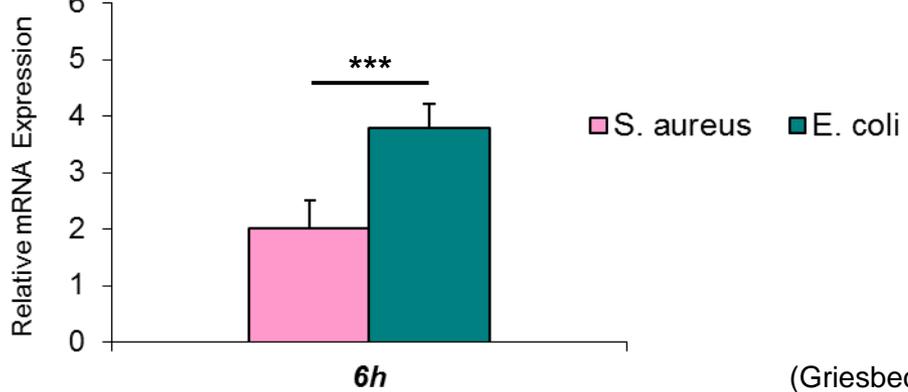
Stimulation mit inaktivierten Bakterien:



TNF α (proinflammatorischer Faktor)

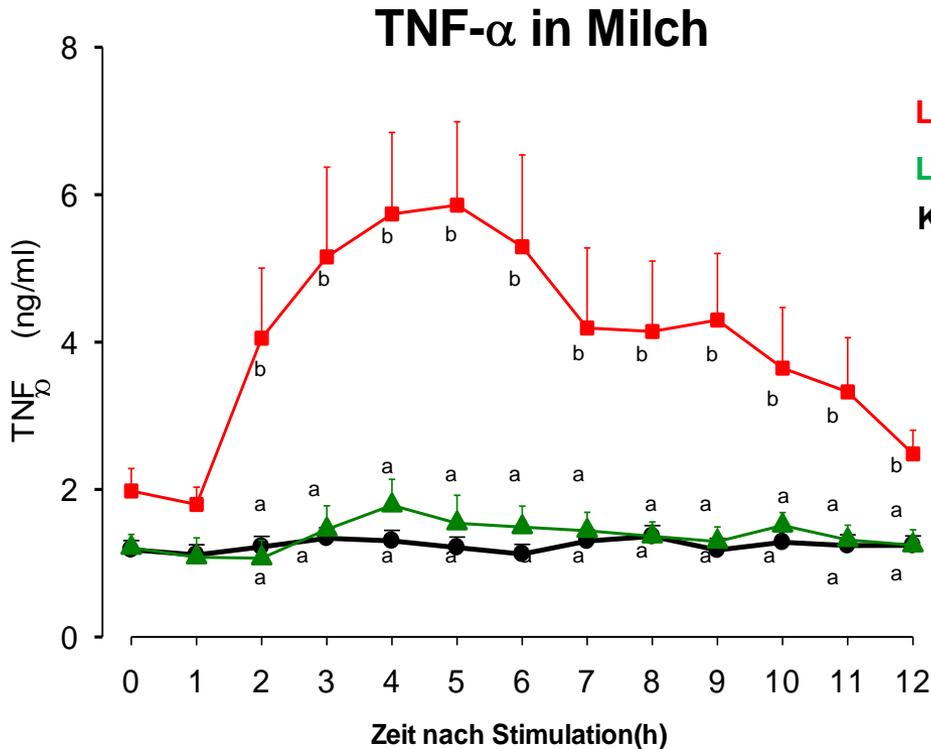


Interleukin-8 (Chemokin, Rolle in Zellzahlanstieg)

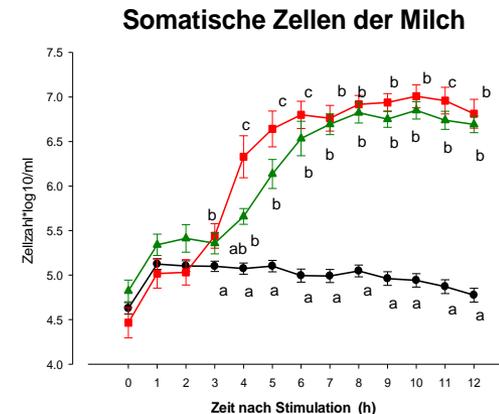


Pathogenspezifität: Unterschiedliche Bakterien

LPS (*E. coli*) vs (LTA) (*S. aureus*)



LPS (*E. coli*) stimulierte Viertel
 LTA (*S. aureus*) stimulierte Viertel
 Kontrollviertel



Unterschiedliche Bakterienstämme:

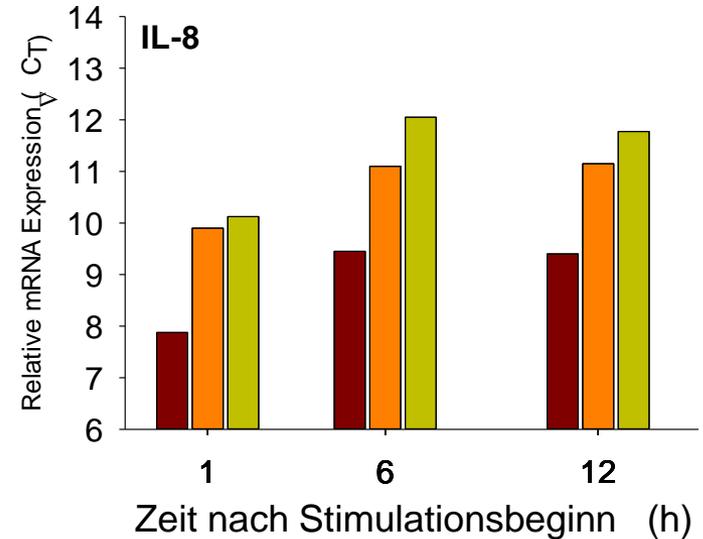
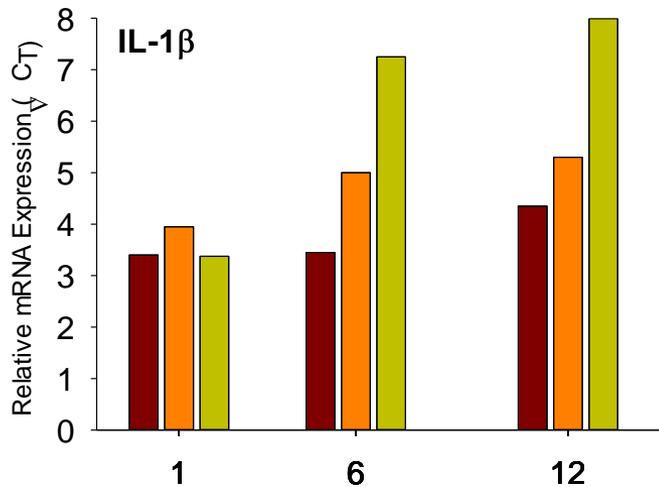
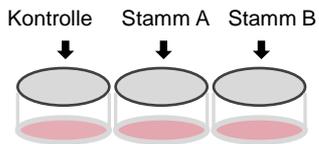
S. uberis

Stamm A: chronische Mastitis;

persistierend trotz Antibiotikabehandlung;
wiederholt isoliert innerhalb von 8 Monaten

Stamm B: akute Mastitis; nicht mehr isoliert
nach Antibiotikabehandlung;

Milchdrüsen-
epithelzellen

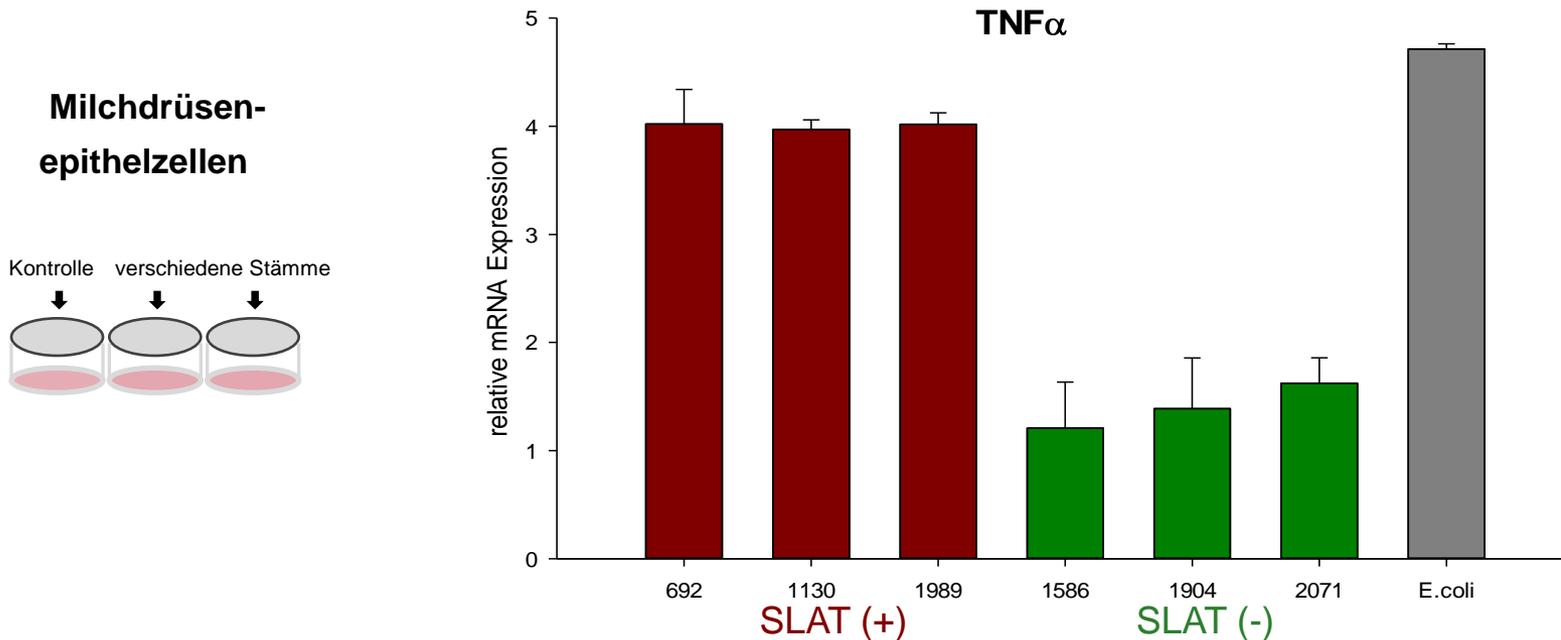


Unterschiedliche Bakterienstämme:

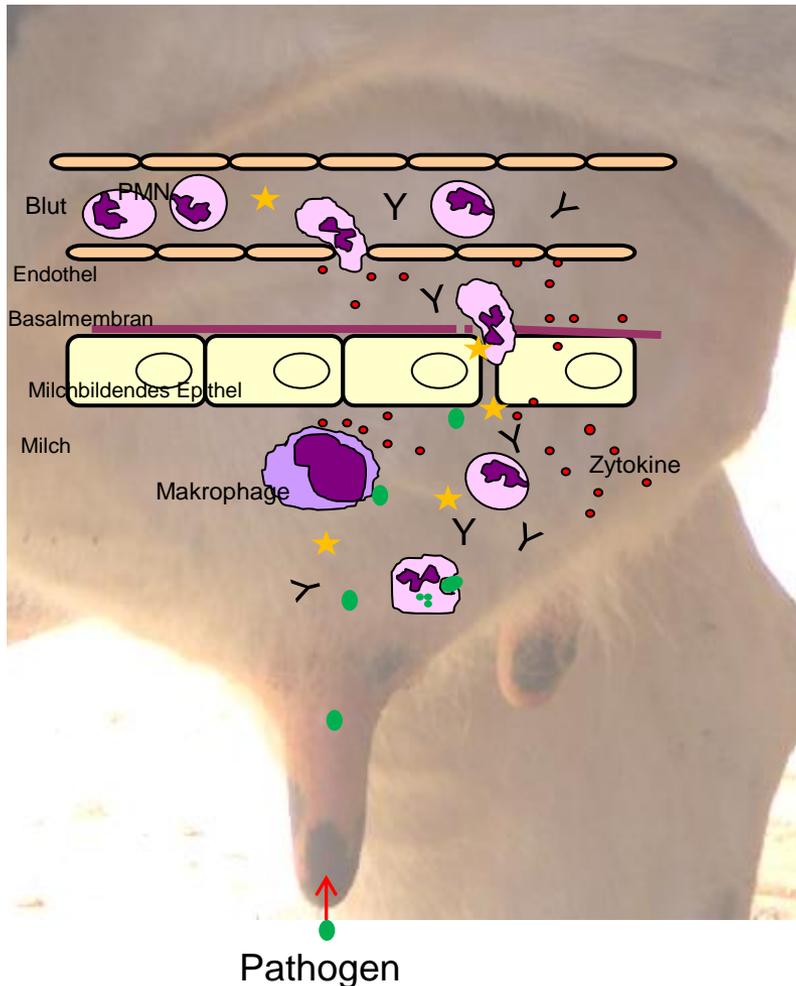
S. aureus

genetische Charakterisierung von S. aureus

Hypothese → SLAT (-): weniger virulent als **SLAT (+)** (Latexagglutinationstest: Staphaurex[®])



Ablauf einer Immunreaktion im Euter:



- Bildung/Freisetzung von Immunfaktoren
- Einwanderung von Immunzellen
(↑ Zellzahl der Milch)

- Öffnung der Blut-Milch-Schranke

=> vereinfachter Transfer von

Blutkomponenten in die Milch

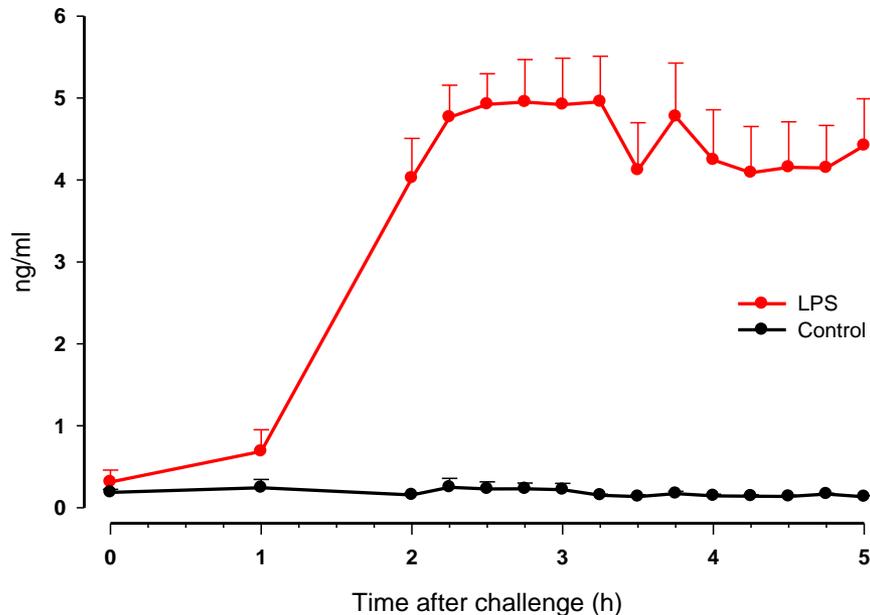
+ Veränderungen der Sekretion

=> Veränderung der Milch

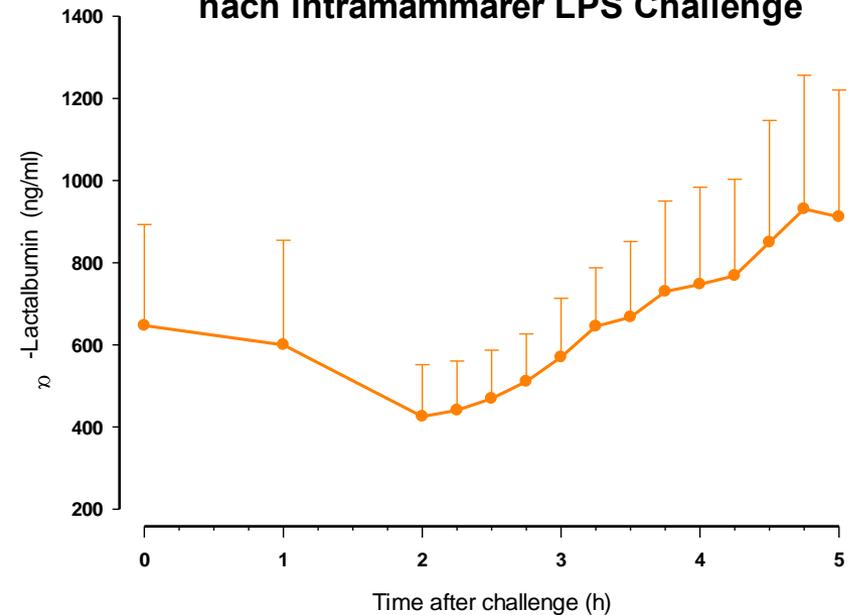
- Charakter der Immunantwort
- Mastitisedektion

Intramammäre E. coli LPS Stimulation: => Öffnung der Blut-Milch Schranke

Serum Albumin

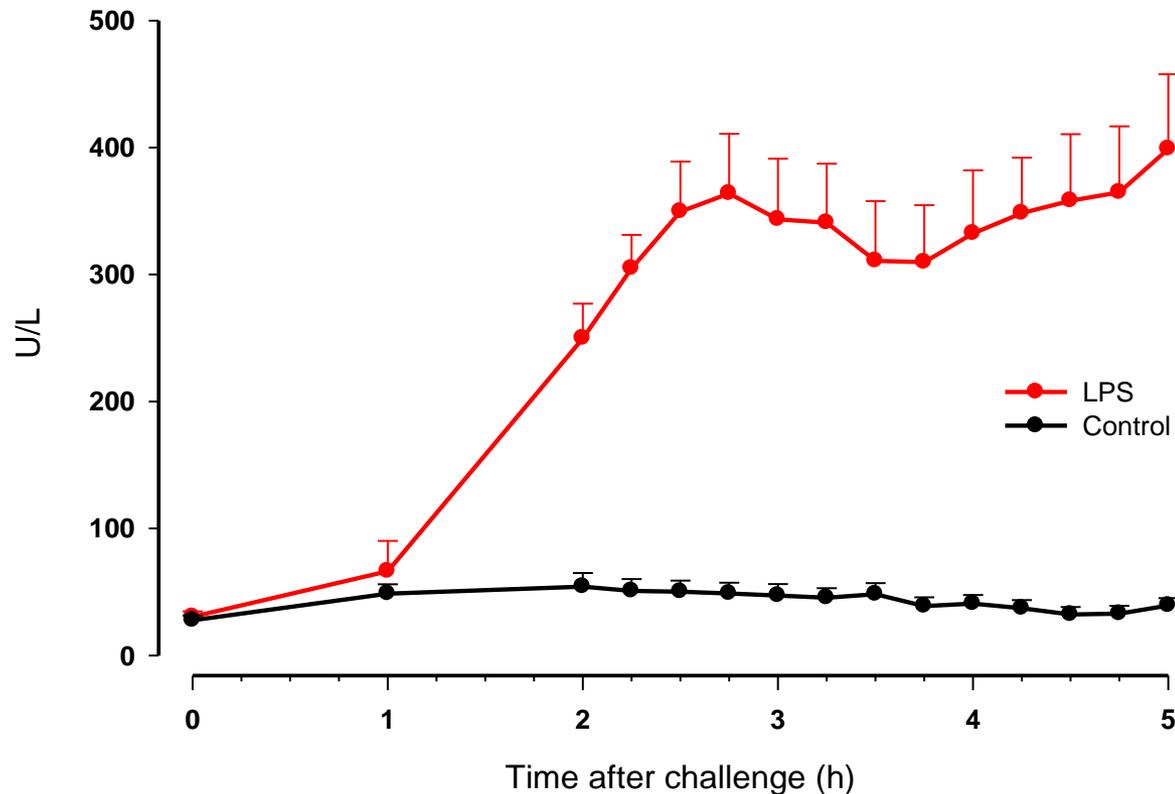


α -Lactalbumin im Blut nach intramammärer LPS Challenge

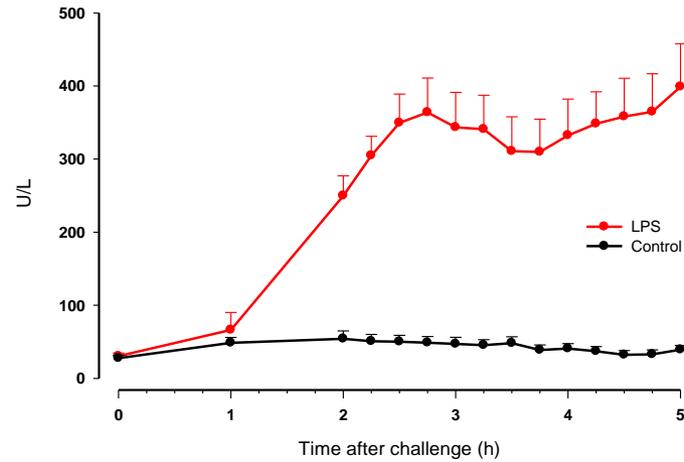


Intramammäre E. coli LPS Stimulation: => Öffnung der Blut-Milch-Schranke

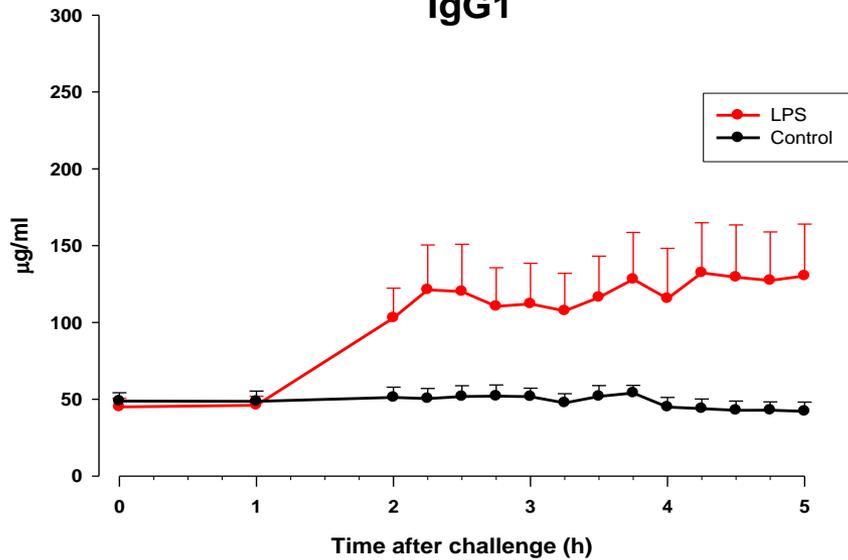
LDH



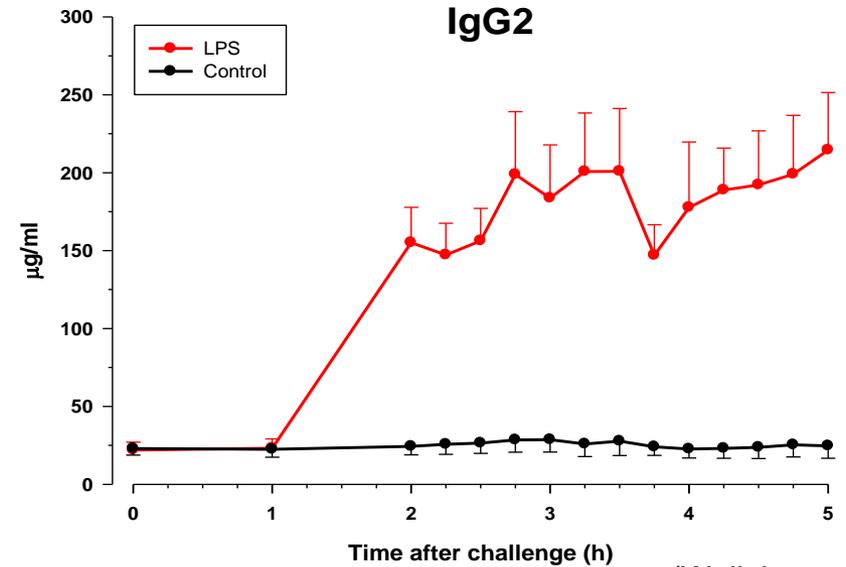
LDH



IgG1

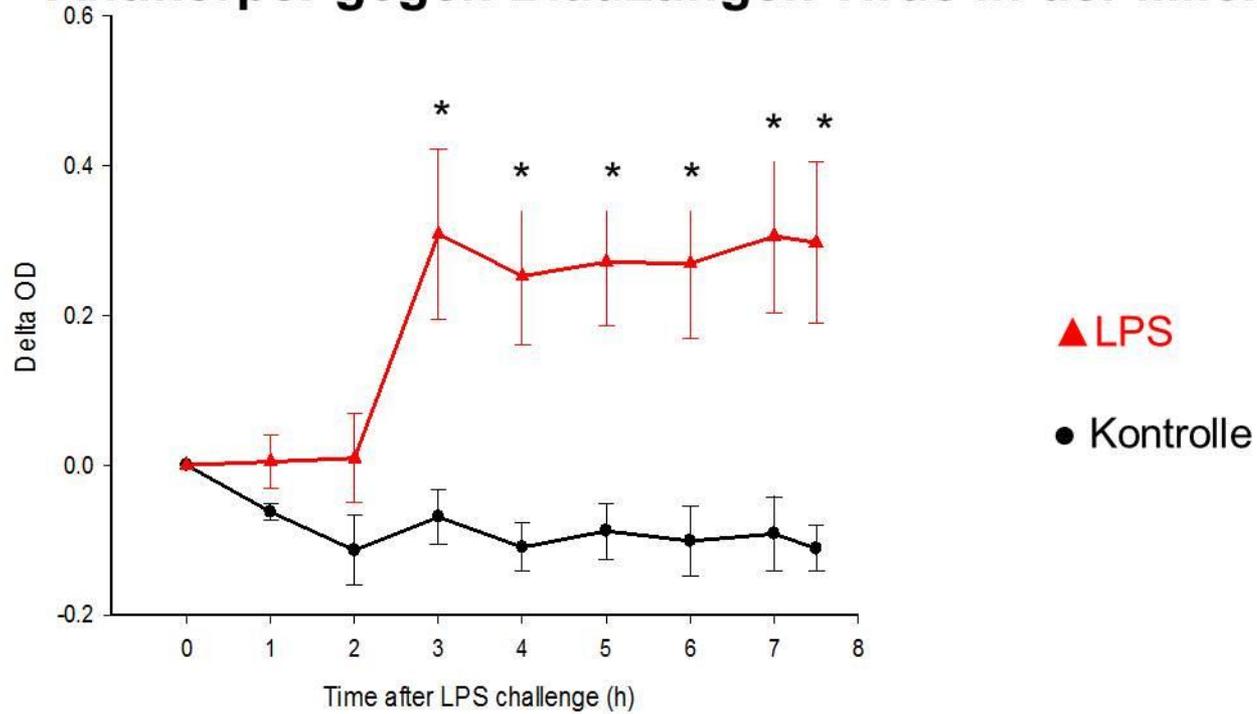


IgG2



Intramammäre LPS Stimulation in Kühen die gegen Blauzungenvirus geimpft wurden:

Antikörper gegen Blauzungenvirus in der Milch



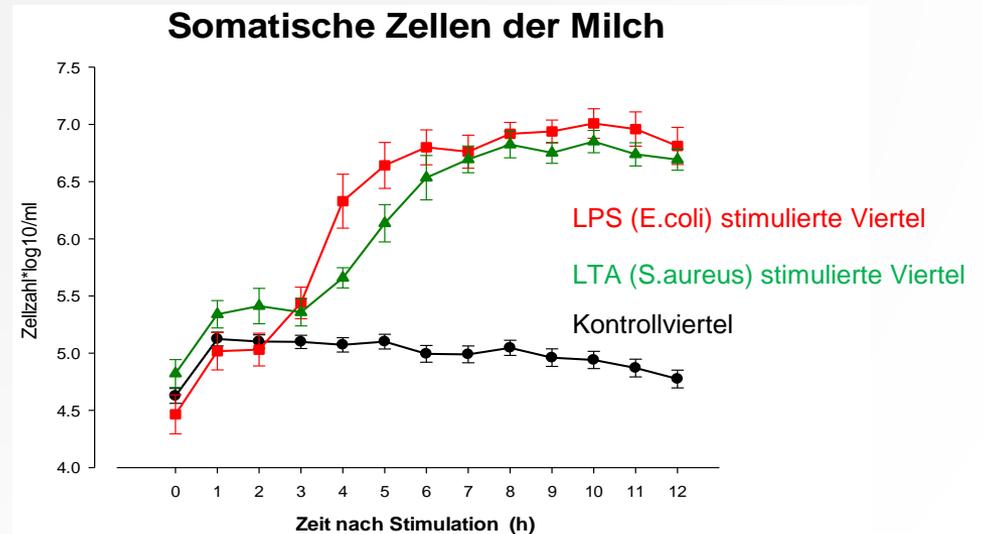
*, LPS vs control quarter: P<0.05

Pathogenspezifische Öffnung der Blut-Milch-Schranke

intramammäre Stimulation mit **LPS** aus *E. coli*

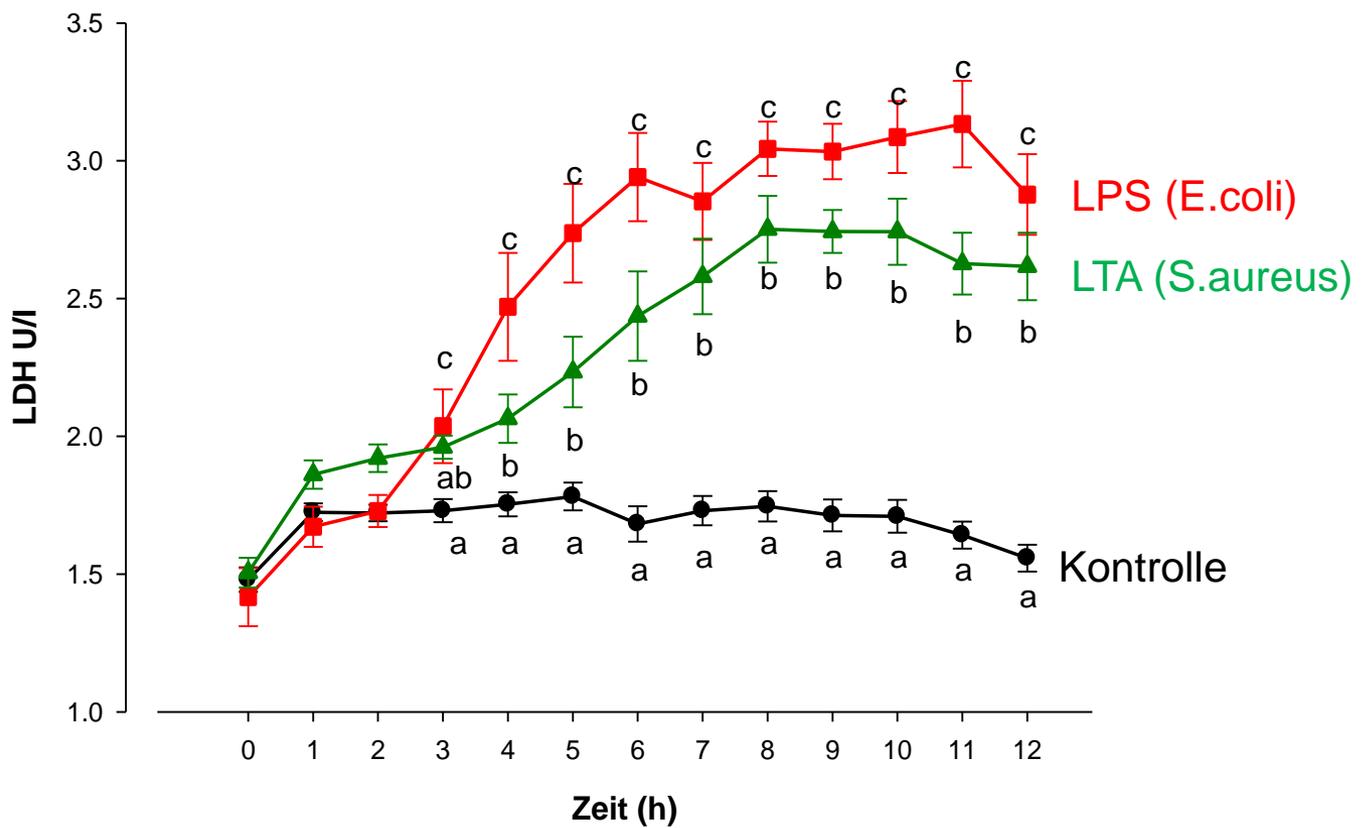
und **LTA** aus *S. aureus*

⇒ Induktion einer vergleichbaren Zellzahlhöhe der Milch
(= Bezugsgrösse)

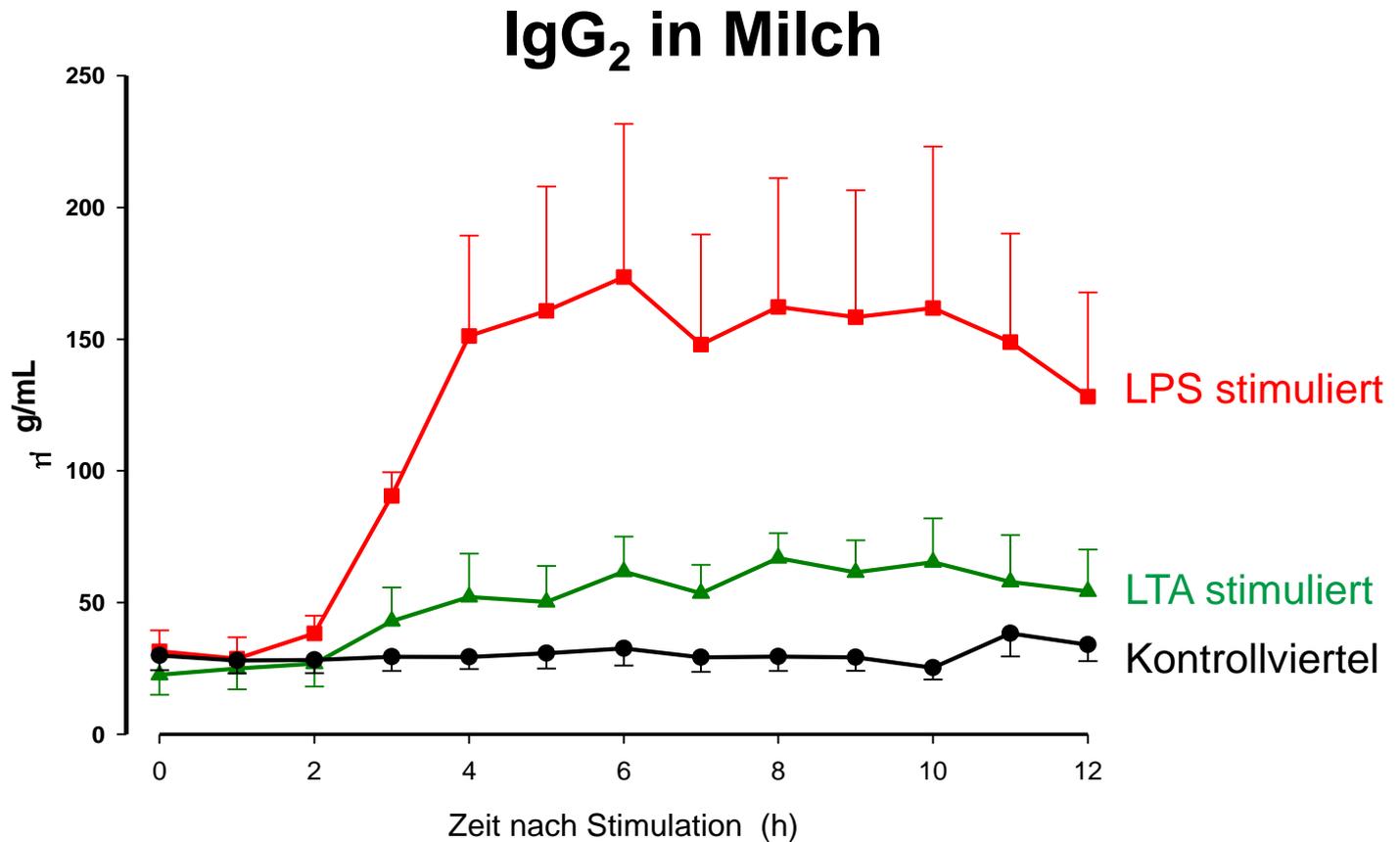


Pathogenspezifische Öffnung der Blut-Milch-Schranke

LDH in Milch



Pathogenspezifische Öffnung der Blut-Milch-Schranke



Pathogenspezifität:

LDH als Marker für IgG-Gehalt in Milch bei Mastitis:

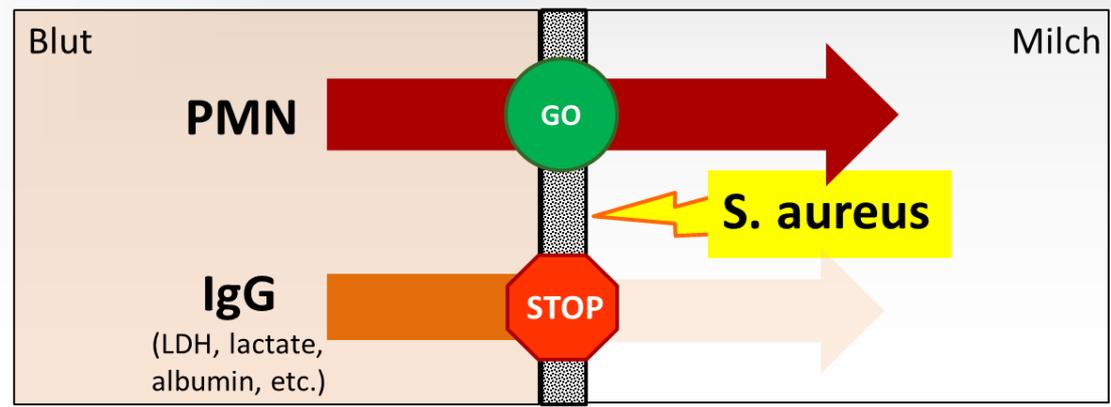
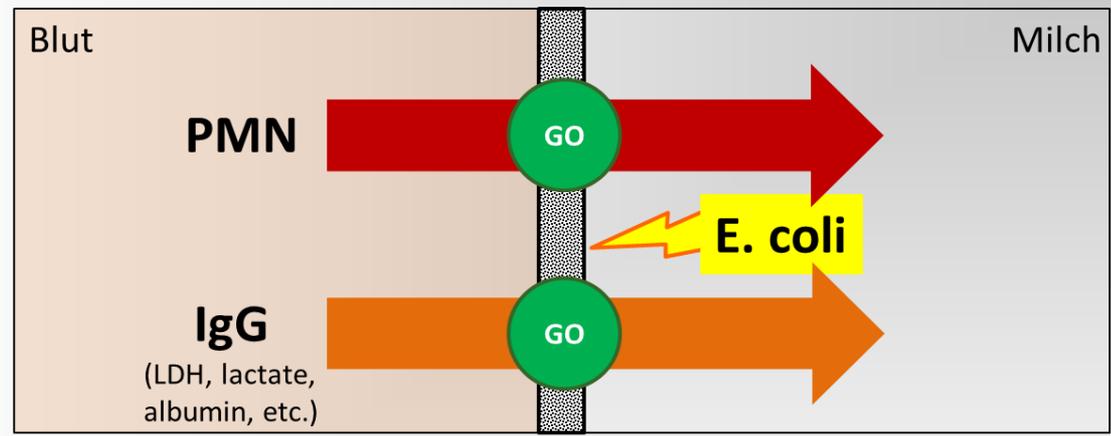
Studie auf zwei schweizer Betrieben:

	Control [†] (n = 23)	<i>E. coli</i> [‡] (n = 3)	<i>C. bovis</i> (n = 34)	CNS [§] (n = 35)	<i>S. aureus</i> (n = 43)	<i>S. uberis</i> (n = 14)
SCC (log ₁₀ SC/mL)	4.6±0.08 ^a	6.34±0.33 [*]	5.63±0.10 ^b	5.56±0.12 ^b	5.35±0.09 ^b	5.77±0.20 ^b
LDH (log ₁₀ U/L)	1.77±0.30 ^a	2.68±0.29 [*]	2.07±0.47 ^{ab}	2.19±0.44 ^b	2.14±0.42 ^b	2.81±0.76 ^c
IgG (mg/mL)	0.22±0.02 ^a	1.35±0.43 [*]	0.53±0.08 ^{ab}	0.51±0.09 ^{ab}	0.46±0.07 ^{ab}	0.79±0.19 ^b

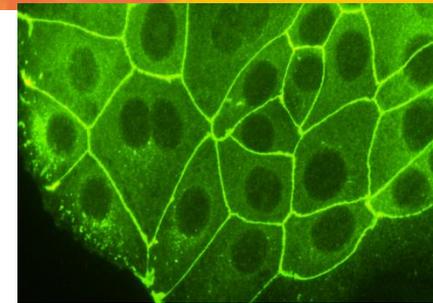
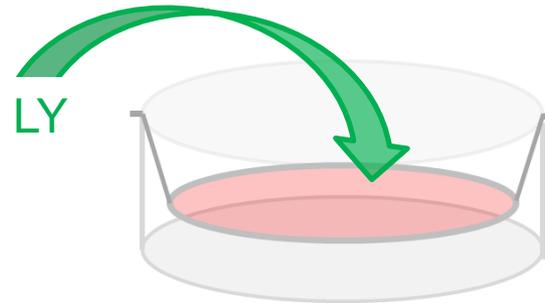
- grösster Unterschied zwischen gram-negativen und gram-positiven Pathogenen
- Die Beziehung zwischen SCC und LDH könnte als Marker für die Unterscheidung von gram-positiven und gram-negativen Infektionen dienen
- Unterscheidung zwischen verschiedenen gram-positiven Bakterien erscheint nicht möglich

Zusammenfassung

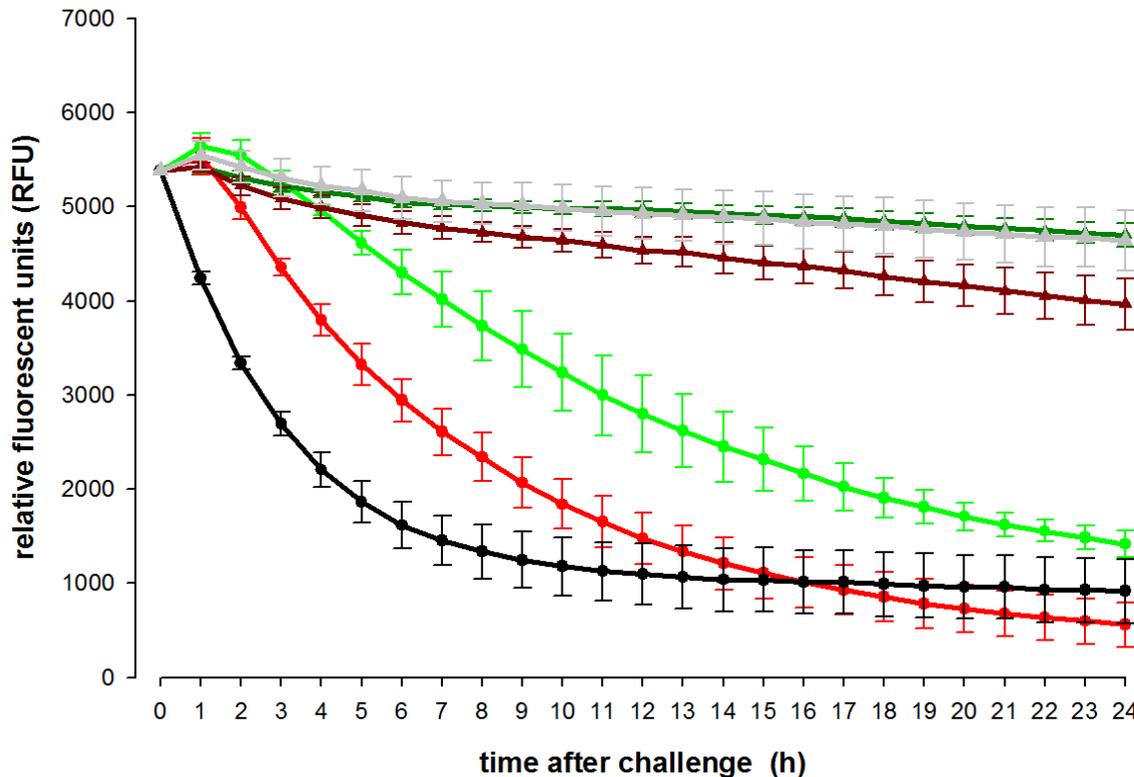
Blut-Milch-Schranke



Epithelzellbarriere boviner Milchdrüsenzellen: Einfluss von LPS (*E. coli*) und LTA (*S. aureus*)

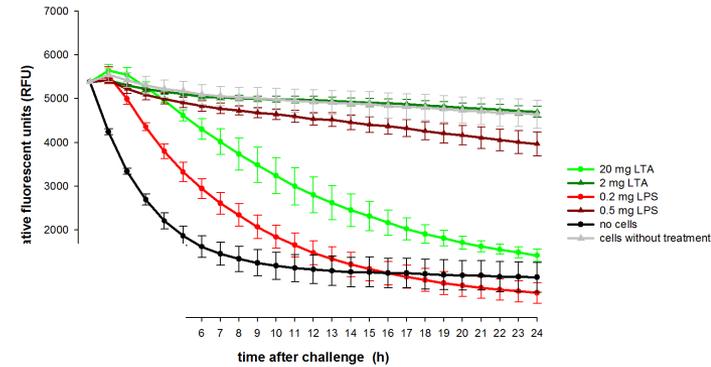
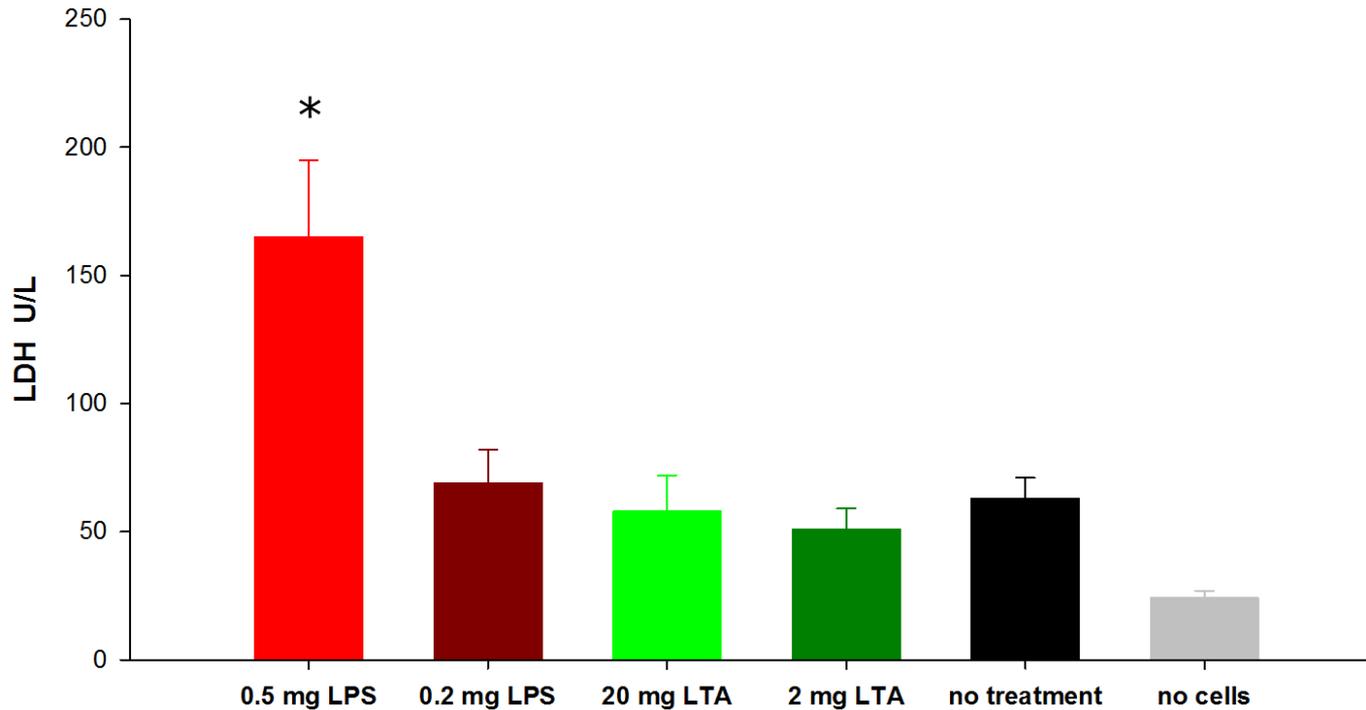


ICC tight junctions



- Keine Behandlung
- 2mg LTA (*S. aureus*)
- 0.2mg LPS (*E. coli*)
- 20mg LTA (*S. aureus*)
- Keine Zellen
- 0.5mg LPS (*E. coli*)

Zelldegeneration bei Öffnung der Epithelzellbarriere mit LPS und LTA:



Beeinflussung der Blut-Milch-Schranke

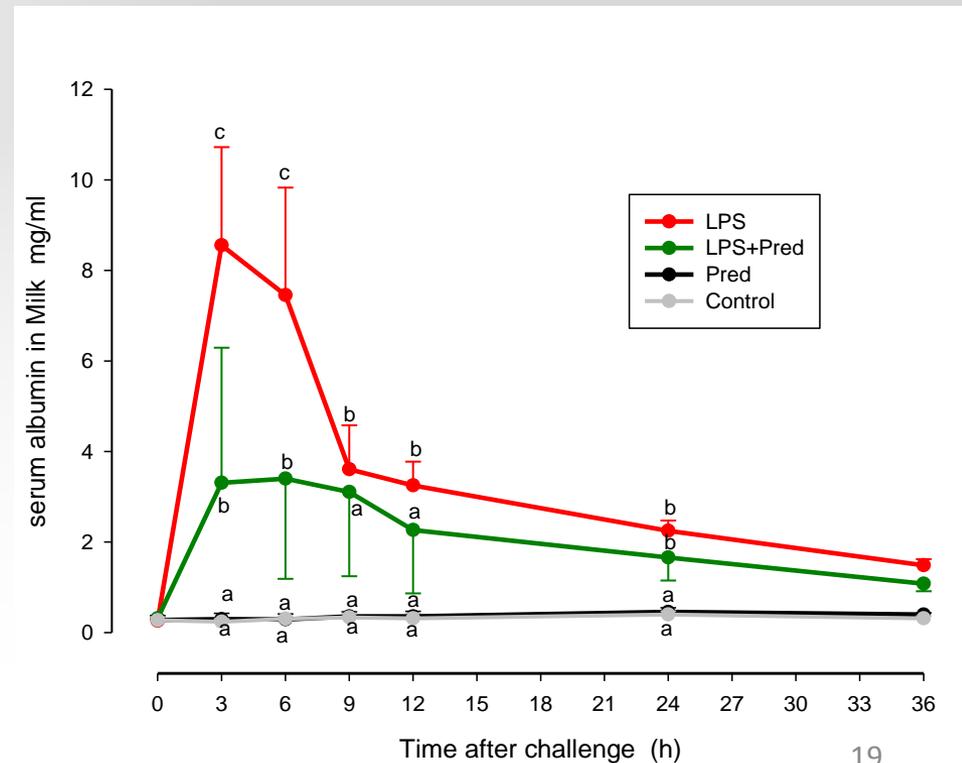
Erhöhung der Integrität:

- Intramammäre Glucocorticoide:

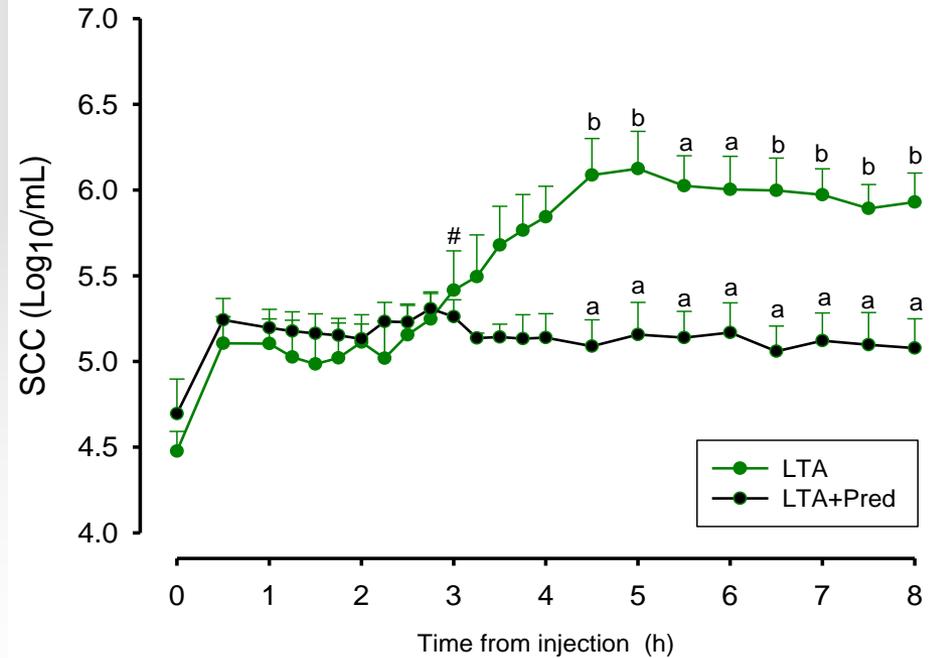
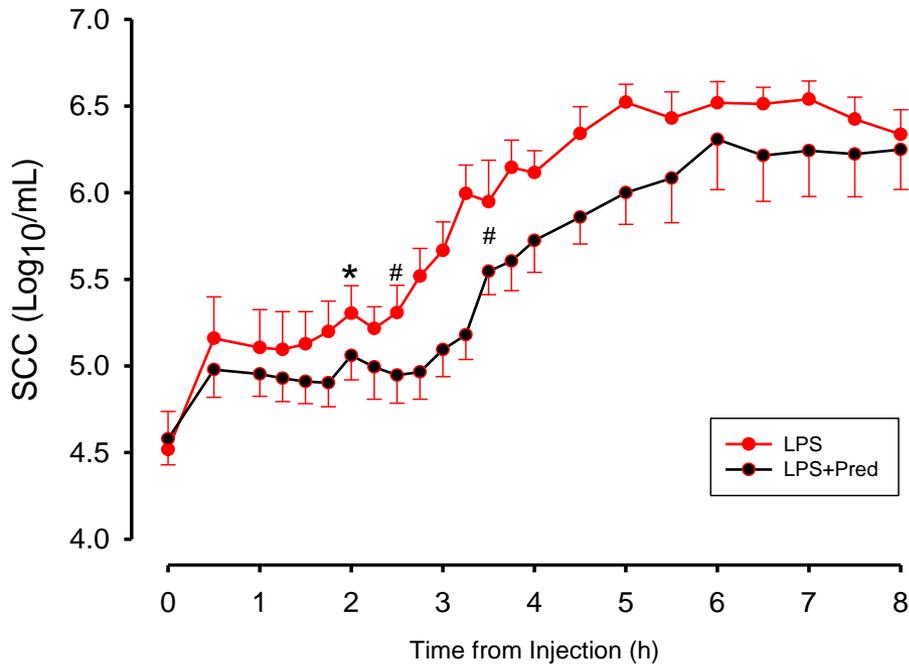
z.B. Prednisolon

- antiinflammatorische Effekte

- erhöhen die Stabilität der Blut-Milch Schranke

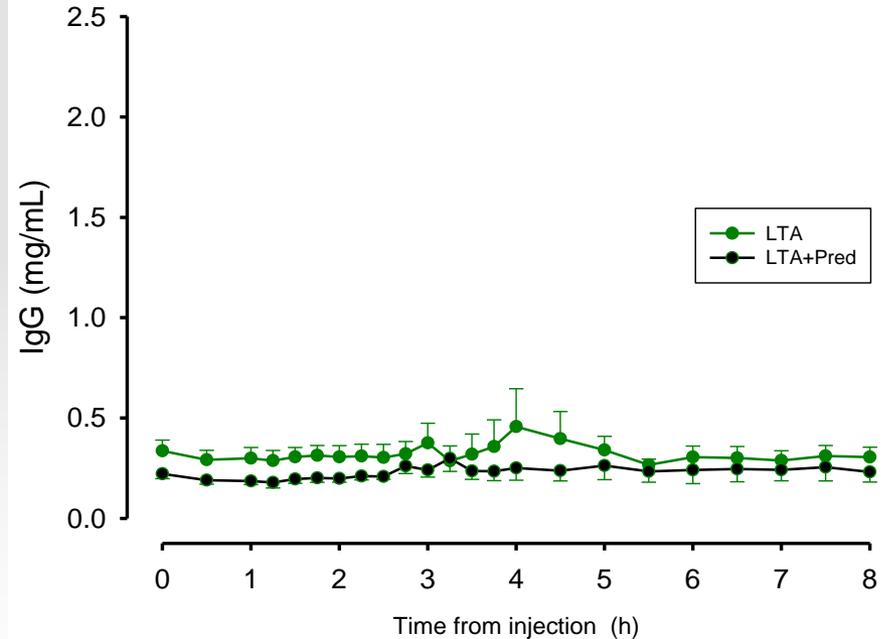
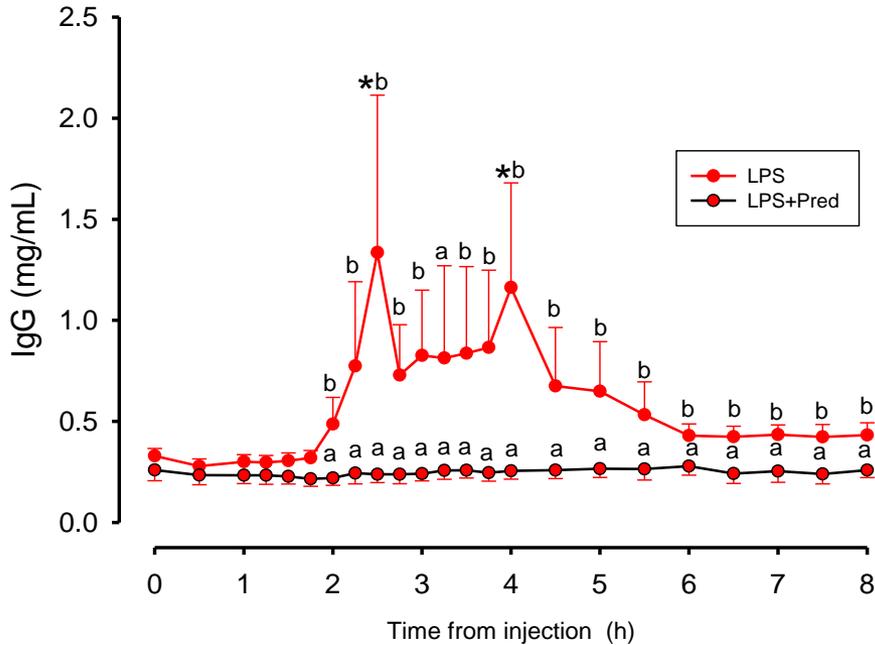


Zellzahl der Milch nach LPS Stimulation mit und ohne intramammäre Prednisolon Administration



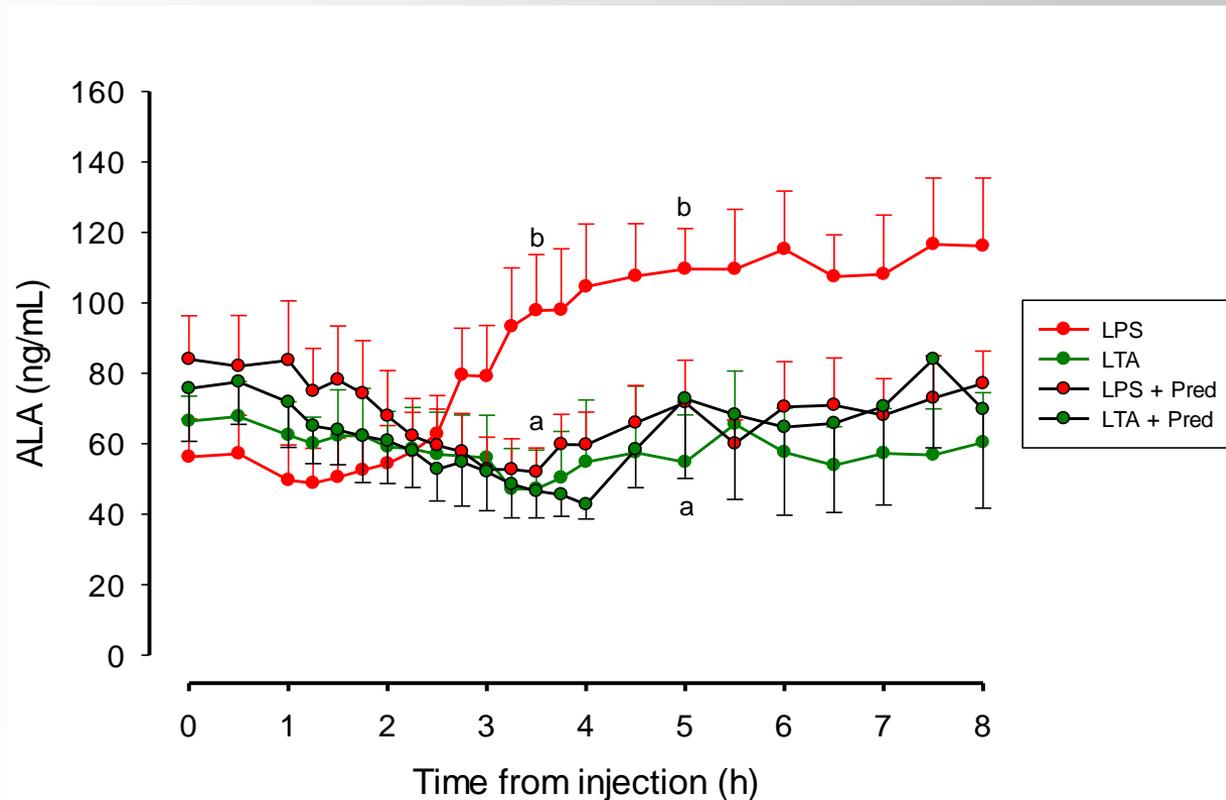
a,b Within a time point, differing letters indicate significance between groups; *Indicates significant elevation compared to time point 0; #Indicates time point of significant elevation (compared to time point 0) until the end of the experiment.

IgG Gehalt der Milch nach LPS Stimulation mit und ohne intramammäre Prednisolon Administration



^{a,b}Within a time point, differing letters indicate significance between groups; *Indicates significant elevation compared to time point 0.

α-Lactalbumin in plasma (Öffnung der Blut-Milch-Schranke) in Milch nach LPS und LTA Stimulation mit und ohne Prednisolon Administration



^{a,b}Within a time point, differing letters indicate significance between groups .

Intramammäres Prednisolon

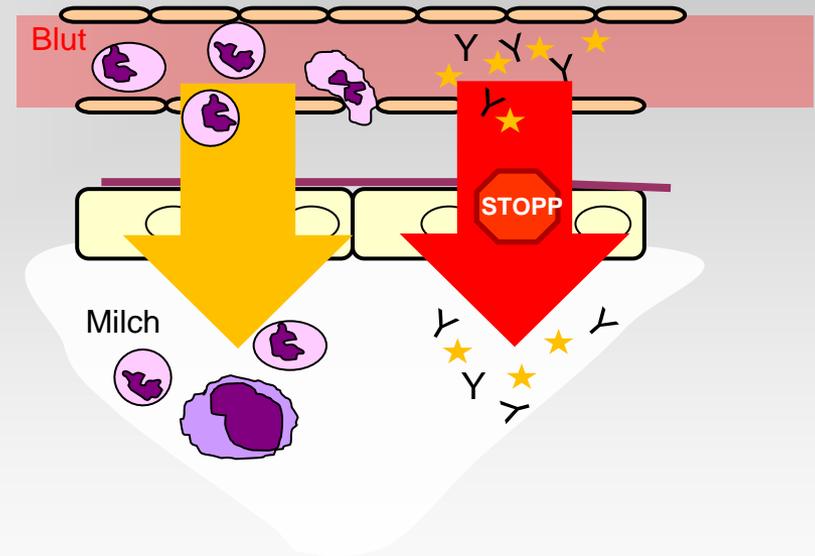
(Glucocorticoid) reduziert deutlich die
Öffnung der Blut-Milch-Schranke während
einer Entzündung

⇒ v.a. bei Mastitis durch

Gram-negative Bakterien reduziert dies

den Antikörpertransfer

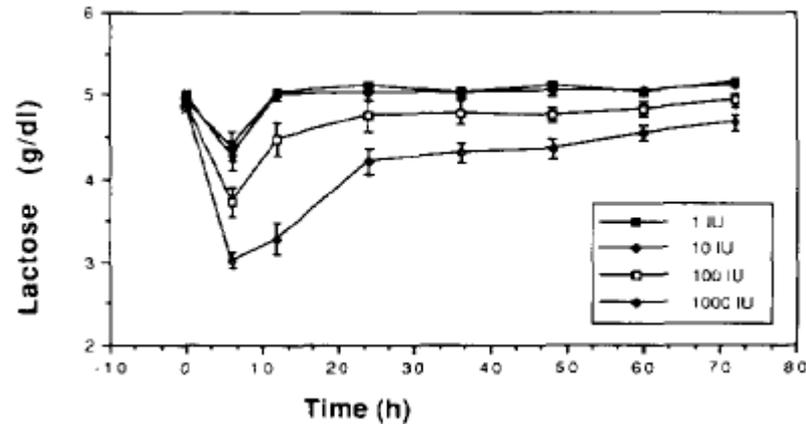
intramammäres Prednisolon:



Beeinflussung der Blut-Milch-Schranke

Erhöhung der Permeabilität:

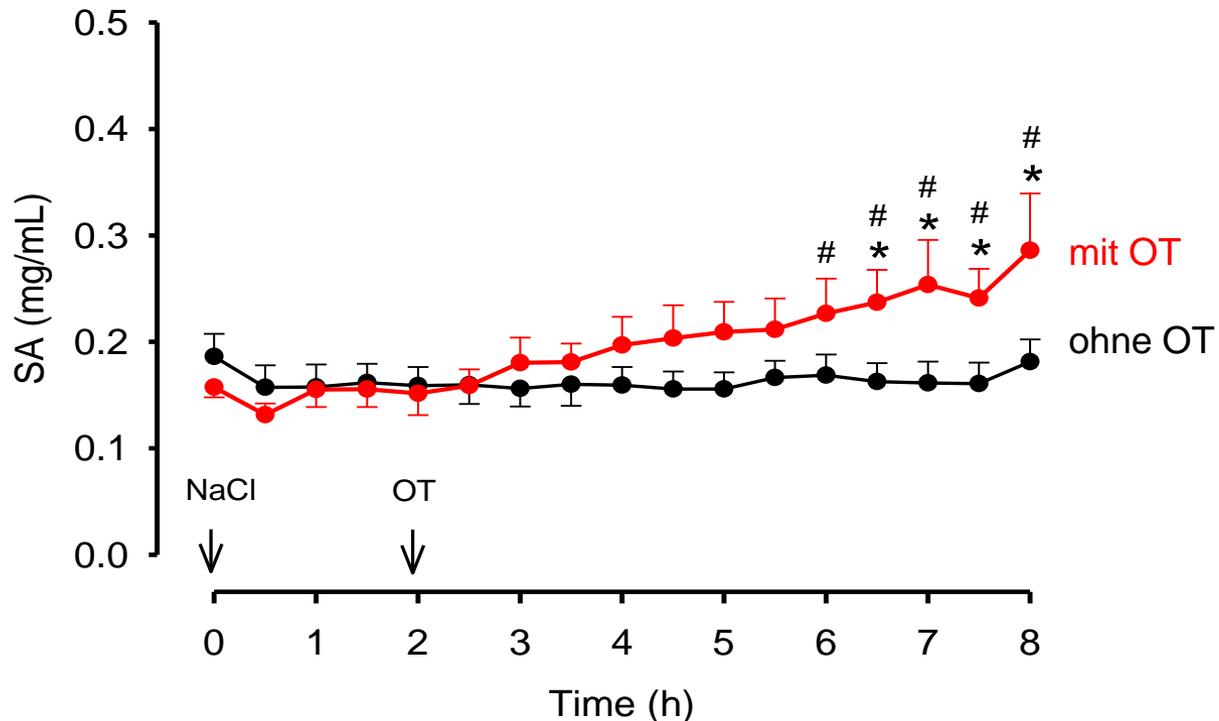
Hohe Dosen Oxytocin (i.v.) (Allen, 1990)



Beeinflussung der Blut-Milch-Schranke

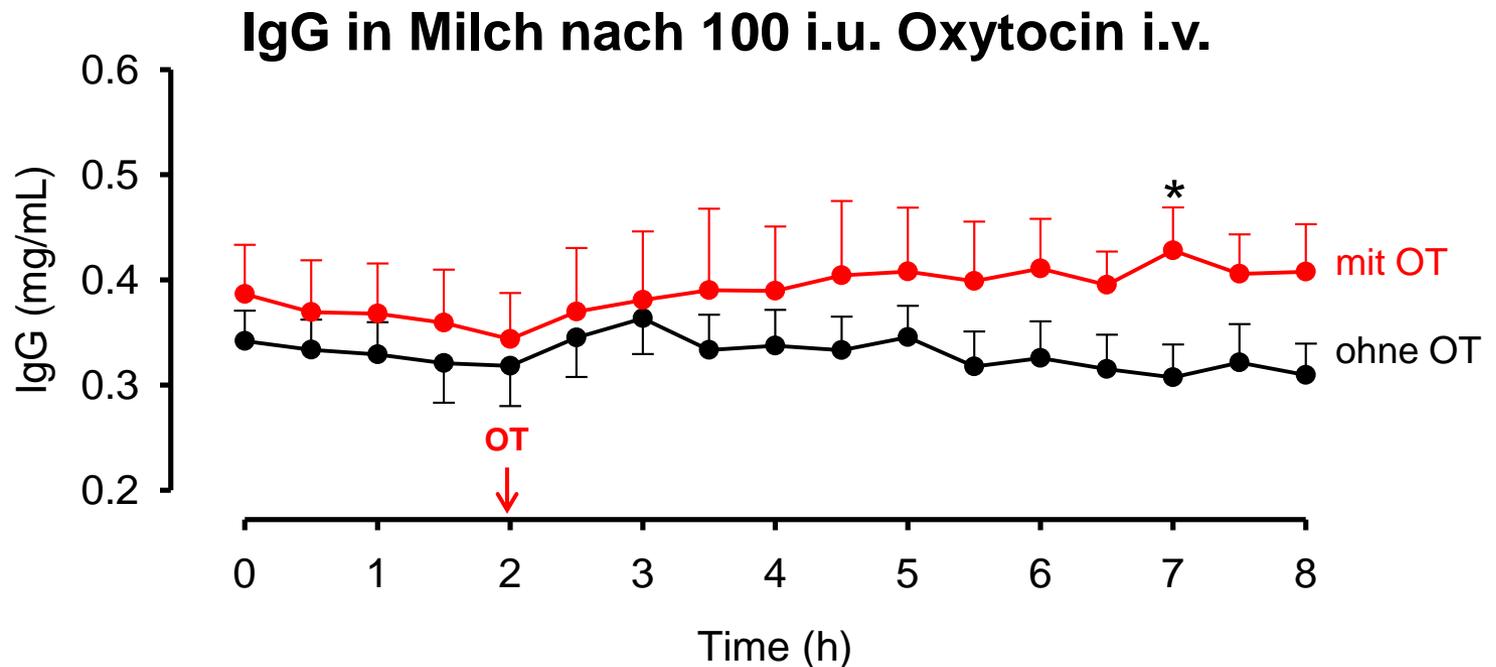
Erhöhung der Permeabilität:

Serumalbumin in Milch nach 100 i.u. Oxytocin i.v.

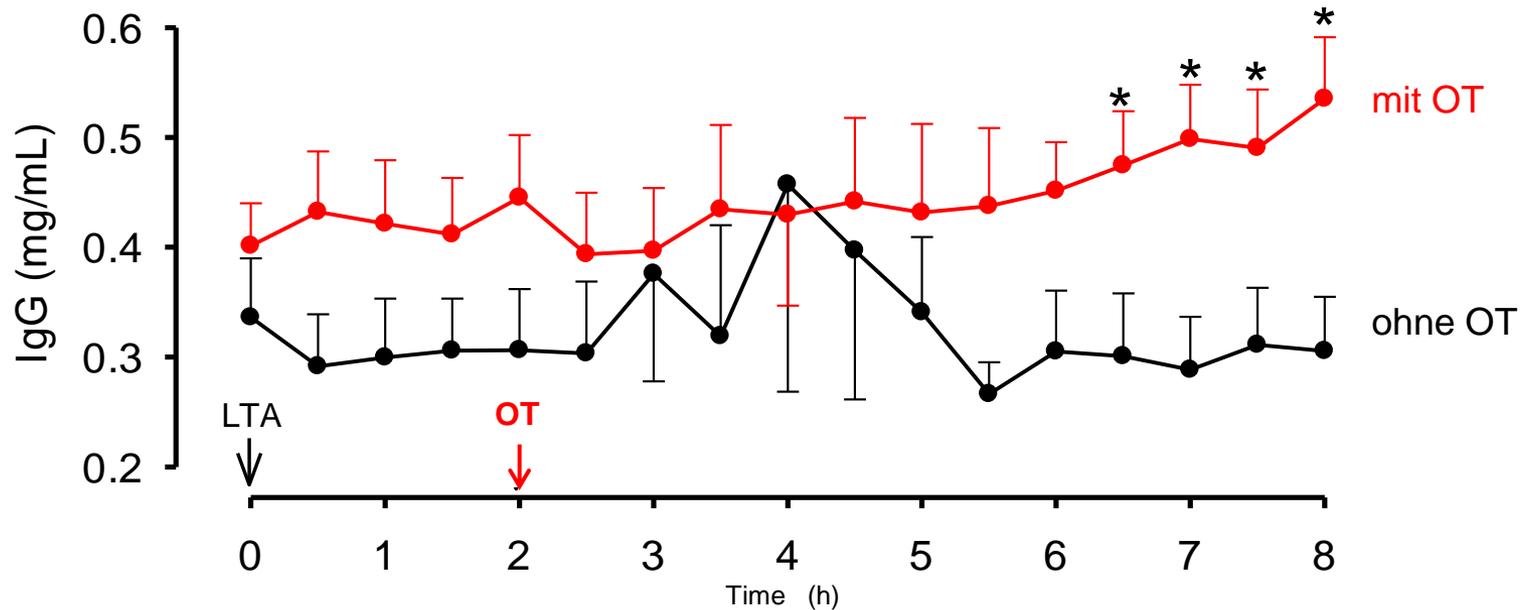


Beeinflussung der Blut-Milch-Schranke

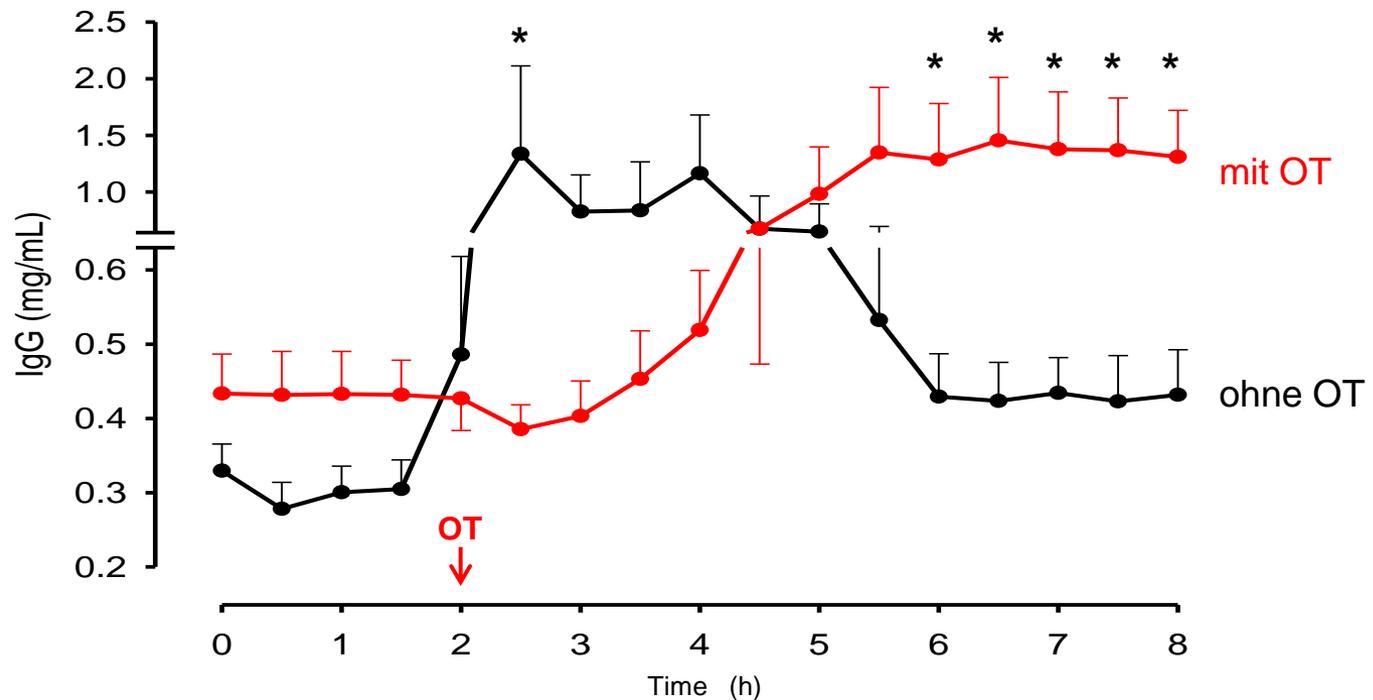
Erhöhung der IgG durch Erhöhung der Permeabilität der Blut-Milch Schranke:



IgG in Milch nach LTA Stimulation und 100 i.u. Oxytocin i.v.



IgG in Milch nach LPS Stimulation und 100 i.u. Oxytocin i.v.



Zusammenfassung

Die Milchdrüse reagiert auf **unterschiedliche Erreger** mit einer **unterschiedlich ausgeprägten Immunantwort** und einer **unterschiedlichen Öffnung der Blut-Milch-Schranke** => unterschiedlicher IgG Gehalt bei Mastitis aufgrund unterschiedlicher Erreger

Ausblick

- **pathogenspezifische Therapie/** Prophylaxe bei Mastitis für besseren Heilungserfolge ?
- Veränderung der **Gehalte an Antikörpern in der Milch** während einer Mastitis durch gezielte Manipulation der **Blut- Milch-Schranke**
 - ⇒ Einfluss auf den Krankheits- und Heilungsverlauf ?

