

# NACHWEIS DES ORALEN INFEKTIONSWEGES VON ANAPLASMA MARGINALE BEI KÄLBERN

Walter Baumgartner, Dr.med.vet., Univ.Prof., Josef Stöger, Dr.med.vet., Werner Marktl, Dr.med.vet.

II. Medizinische Universitätsklinik für Klauentiere  
 Veterinärmedizinische Universität Wien  
 Linke Bahngasse 11, A-1030 WIEN, AUSTRIA

## Einleitung

Die wichtigste Rolle in der Übertragung der Anaplasrose spielen blutsaugende Vektoren.<sup>1</sup> In Frage kommen vor allem verschiedene Spezies von Arthropoden, wie Zecken, Stechfliegen und Moskitos. Den iatrogenen Infektionen kommt ebenfalls eine wesentliche Bedeutung zu. Eine weitere Möglichkeit der Ansteckung besteht in der intrauterinen Übertragung.<sup>2</sup> Werden Kalbinnen oder Kühe während des zweiten oder dritten Drittels der Trächtigkeit infiziert, so besteht die Möglichkeit einer Ansteckung der Kälber.<sup>3</sup>

In der vorliegenden Arbeit wird überprüft, ob neben den bekannten Infektionswegen auch die orale Infektion, über die bisher in der Literatur noch keine Berichte vorliegen, für die Krankheitsübertragung bei der Anaplasrose eine Rolle spielt.

## Material und Methode

Für die Infektionsversuche in den Wintermonaten 1989/90 standen insgesamt 6 Kälber zur Verfügung. 5 Kälber gehörten der Rasse Braunvieh und 1 Kalb der Rasse Fleckvieh an; alle Tiere waren weiblichen Geschlechts. Zum Zeitpunkt des Ankaufs wiesen die Tiere ein Alter von 2 - 4 Monaten auf und waren auf Rauhfutter umgestellt. Zur seuchensicheren Unterbringung stand ein abgetrennter Raum an der II. Medizinischen Universitätsklinik für Klauentiere zur Verfügung. Auf den mit reichlich Stroh eingestreuten Standplätzen wurden die Tiere mit Metallketten einzeln angebanden. Während des ganzen Versuchs hatten die Versuchskälber keinen Kontakt zu anderen Tieren. Es konnten niemals Fliegen noch andere Vektoren, die die Anaplasrose übertragen hätten können, beobachtet werden. Zur besseren Demonstration der klinischen Erscheinungen wurden 5 Tiere jeweils 1 Woche vor Versuchsbeginn entmilzt. Mit den vorhandenen Tieren wurden 2 Versuchsgruppen (VG I, II) gebildet. Pro Gruppe wurden jeweils 2 Tiere infiziert, und je 1 Tier wurde als Kontrolltier verwendet (Tabelle 1).

TABELLE 1. Daten der verwendeten Versuchstiere in den VG I u. II

VG	Nr.	R	E	IA	AB	DI
I	13	BV	+	p.o.	0,5 %	20 ml
I	14	BV	+	keine Infektion		
I	15	BV	+	p.o.	0,5 %	20 ml
II	21	BV	+	keine Infektion		
II	22	BV	+	p.o.	0,5 %	80 ml
II	28	FV	-	p.o.	0,5 %	80 ml

Legende zu Tabelle 1:

VG = Versuchsgruppe                      E = Entmilzung  
 Nr. = Nummer des Tieres                + = Entmilzung wurde durchgeführt  
 R = Rassen                                    - = keine Entmilzung  
 BV = Braunvieh                              IA = Infektionsart  
 FV = Fleckvieh                                p.o. = per os  
 AB = Anaplasmenbefall des verabreichten Blutes in %  
 DI = Menge des verabreichten infektiösen Blutes in ml

Das Blut für die Infektion wurde aus der Vena jugularis eines latent infizierten Tieres entnommen. Zum Zeitpunkt der Injektion wies dieses Blut einen 0,5 %igen Befall der Erythrozyten mit Anaplasmen einschlußkörperchen auf. Den Kälbern Nr. 13 und 15 der VG I wurde je 20 ml infektiöses Blut in das Maul gespritzt, und anschließend mit der flachen Hand (Handschuh) in der gesamten Mundhöhle verteilt. Die Tiere Nr. 22 und 28 der VG II wurden mit einer Dosis von 80 ml Blut auf dieselbe Art infiziert (Tabelle 1).

Um eine latente Infektion bei den Kälbern auszuschließen, wurden alle angekauften Tiere vor Versuchsbeginn 3 x im Abstand von 1 Woche serologisch als auch im Blutaussstrich auf Anaplasmosenfreiheit untersucht.

Neben der klinischen Untersuchung wurde der Blutstatus (Zellanalyser CA 580 A der Fa. MEDONIC, Stockholm, Schweden), verschiedene Enzyme und Stoffwechselprodukte (GGT, GLDH, GOT, CK, AP, LDH, UREA, TBIL, CREA, TP, ALB, CA, P, MG) und die Befallsintensität der Erythrozyten mit Anaplasmen bestimmt. Eine Harnanalyse sowie eine Sektion verendeter Tiere erfolgte zusätzlich. Das aus dem Vollblut gewonnene Serum wurde zur KBR-Untersuchung verwendet. Behandlungsversuche wurden mit 20 mg Tetracyklin/kg LM an 5 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt.<sup>4, 5</sup>

### Ergebnisse

Alle 4 infizierten Kälber erkrankten an Anaplasrose. Beim Kalb 22 wurden bereits nach 30 Tagen Einschlußkörperchen im Blutaussstrich nachgewiesen, bei den anderen Kälbern (13, 15 und 28) einen Tag später.

Kalb 13 wies ab dem 36. Tag nach der Infektion 7 Tage lang eine innere Körpertemperatur von über 40,0°C auf. Ab dem 39. Tag kam es zu einer Verminderung des Allgemeinverhaltens. Am Tag darauf zeigte das Tier keine Freßlust. Hochgradig anämische und ikterische Schleimhäute waren einige Tage zu beobachten, die Pulsfrequenz stieg bis auf 148 Schläge/min, systolische Herzgeräusche waren 2 Tage lang hörbar. Die Atemfrequenz erreichte 60 Züge/min. Gleichzeitig mit dem Auftreten der Anaplasmen am 31. Tag p.i. wurde eine positive serologische Reaktion beobachtet. Am 38. und am 39. Tag nach der Infektion wurden dem Tier jeweils 20 mg Tetracykline pro kg LM verabreicht. Ca. 1 Woche nach Behandlungsbeginn erreichten die veränderten Werte wieder die Normalbereiche.

Kalb 14 wurde als Kontrolltier eingesetzt. Es erkrankte nicht an Anaplasrose. Alle im Rahmen dieser Untersuchung erhobenen Werte lagen während des gesamten Versuchszeitraumes im Bereich der Norm.

Die Innere Körpertemperatur lag bei Kalb 15 ab dem 34. Tag nach der Infektion 4 Tage lang über 40,0°C. Am Tag vor dem Tode sank diese auf 39,7°C, das Allgemeinverhalten war hochgradig vermindert, das Tier zeigte keine Freßlust. Die Pulsfrequenz stieg auf 136 Schläge/min, systolische Herzgeräusche waren am Tag vor dem Tode hörbar. Die erste positive serologische Reaktion trat erst am zweiten Tag nach Erscheinen der Anaplasmen im Blutaussstrich auf. Am Tag vor dem Verenden lag die Erythrozytenzahl bei 1,9 Mio./mm<sup>3</sup>, die Hämoglobinkonzentration bei 23 g/l und der Hämatokritwert bei 7 %. Die Leukozytenzahl befand sich um 25.000/mm<sup>3</sup>. Eine am 6. Tag nach Auftreten der Anaplasmen durchgeführte Harnuntersuchung ergab keinen besonderen Befund. Ebenso verhielt es sich mit der Untersuchung der dem Kadaver entnommenen Harnprobe. Am 39. Tag nach der Infektion verendete das Kalb. Die Sektion ergab eine hochgradige Anämie, einen mittelgradigen Ikterus, ein hochgradiges alveoläres Lungenemphysem und vereinzelt Blutungen an Epi- und Endocard. Eine mittelgradige Leberschwellung und eine vermehrte Füllung der Gallenblase wurden zusätzlich nachgewiesen. Die pathologisch-histologische Untersuchung ergab eine mittelgradige Glomerulonephritis, zentrolobuläre Nekroseherde in der Leber und eine geringgradige, herdförmige Myokarditis.

Das als Kontrolltier verwendete Kalb 21 erkrankte bis zum Versuchsende nicht. Alle erhobenen Parameter lagen während der gesamten Untersuchungszeit im physiologischen Bereich.

Der klinische Verlauf und die Veränderungen der einzelnen untersuchten Blutparameter verhielten sich beim Kalb 22 ähnlich wie beim Kalb 13. Am Höhepunkt der Parasitämie wurde dieses Tier mit 20 mg Tetracykline pro kg LM an 5 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt.

Bei Tier 28 konnte nur ein geringgradiger Befall der Erythrozyten mit Einschlußkörperchen festgestellt werden. Der höchste Wert wurde mit 2 % vom 37. bis zum 40. Tag p.i. ermittelt. An den Schleimhäuten konnte am 36. Tag p.i. eine geringgradige Anämie beobachtet werden, am 38. und 39. Tag waren die Schleimhäute ikterisch verfärbt. Zum Zeitpunkt der höchsten Befallsrate konnte eine geringgradige Erhöhung der Puls- und Atemfrequenz nachgewiesen werden. Am Beginn der Erkrankung konnte ein KBR-Titer von 1:40 nachgewiesen werden, der ab dem 38. Tag p.i. bei 1:320 lag.

## Diskussion

Aufgrund des Vorkommens der Anaplasrose in Österreich wurden Infektionsversuche mit Kälbern durchgeführt.<sup>6, 7</sup> Neben dem klinischen Verlauf wurde den verschiedenen Übertragungsmöglichkeiten besonderes Interesse geschenkt. Die natürliche Infektion erfolgt über blutsaugende Insekten und Zecken. Um den klinischen Verlauf besser beobachten zu können, wurden die Kälber entmilzt. Die Krankheit verlief dann ähnlich akut wie bei erwachsenen Tieren. Jüngere Tiere sind nämlich in der Lage, ihre gegen die Anaplasrose gerichtete Abwehr früher in Gang zu setzen, während ältere Tiere dafür einen längeren Zeitraum benötigen.<sup>8</sup>

Da während des Versuchs auch ein Kontrolltier erkrankte, kamen wir zum Schluß, daß neben den herkömmlichen in der Literatur beschriebenen Übertragungsmöglichkeiten noch eine weitere Möglichkeit besteht, diese Krankheit zu übertragen. Da dieses Kontrolltier mit Vorliebe während der Blutabnahme verschmutzte Stellen ableckte, wurde die Möglichkeit einer oralen Infektion überprüft.

Vier Versuchstieren wurde infektiöses Blut in das Maul gespritzt und mit der flachen Hand verstrichen. Nach einer Inkubationszeit von 30 bzw. 31 Tagen erkrankten alle 4 Tiere. Die beiden in denselben Quarantänestellungen gehaltenen Kontrolltiere zeigten dagegen keine Krankheits Symptome. Bei den entmilzten Tieren verlief die Krankheit ähnlich wie bei erwachsenen Tieren. Innerhalb einer Woche stieg der Befall der Erythrozyten mit *Anaplasma marginale* auf bis zu 50 % an. Gleichzeitig mit dem Anstieg der Befallsstärke sank der Hämatokrit- und Hämoglobinwert und die Gesamterthrozytenzahl. Die niedrigsten Werte wurden beim Tier 15 erreicht. Dieses Tier wurde nicht therapiert und es verendete deshalb am 7. Tag der Erkrankung. In diesem Zeitraum stiegen auch die GLDH-, GOT- und CK-Aktivitäten sowie die TBIL-Konzentration im Blutsrum an. Bei den entmilzten Tieren wurde mit der Komplementbindungsreaktion die höchste Titerstufe mit 1:160 gemessen. Bei den Tieren 13 und 22, die auch entmilzt wurden, verlief die Krankheit ähnlich. Nur wurde bei diesen Tieren ab einem Hämatokrit von 10 % eine Therapie mit Tetrazyklinen eingeleitet. Alle beiden Tiere konnten dadurch die Krankheit überstehen. Ganz anders verlief die Erkrankung bei Tier 28, da dieses Tier nicht entmilzt wurde. Es konnte nur ein geringgradiger Befall der Erythrozyten mit Einschlußkörperchen festgestellt werden. Der höchste Wert wurde mit 2 % am 6. Tag der Erkrankung festgestellt. Alle weiteren erhobenen Parameter veränderten sich auch nur geringgradig. Im Gegensatz zu den entmilzten Tieren konnte hier ein höherer Anstieg der KBR-Titerstufe gemessen werden. Mit einer Titerstufe von 1:320 wurde der höchste Wert erreicht.

Durch diese Versuchsergebnisse konnte der orale Infektionsweg als mögliche Ansteckungsquelle bewiesen werden. Die Ansteckung dürfte über Mikroläsionen in der Mundschleimhaut oder des vorderen Verdauungstraktes erfolgt sein. Eine künstliche Infektion konnte schon mit 0,001 ml infektiösem Blut ausgelöst werden, wobei diese Menge aber parenteral verabreicht wurde.<sup>9</sup>

Die Art, wie die Infektion durchgeführt wurde, scheint den Verlauf und den Ausgang der Erkrankung wenig zu beeinflussen. Alle splenektomierten Tiere, die an Anaplasrose erkrankten, zeigten unabhängig von der Art der Infektion ein ähnliches Krankheitsbild.<sup>10</sup>

Bedeutung erlangt diese Erkenntnis dahingehend, daß bei Blutentnahmen neben der Verwendung von sterilen Einmalnadeln bei jedem einzelnen Tier eine iatrogene Übertragung möglich ist, sofern nicht auch Einmalspritzen oder ähnliches Anwendung finden. Bei Blutentnahmen ohne Auffanggefäß werden nämlich immer Flächen mit Blut verschmutzt, die von anderen Tieren abgeleckt werden können. Da nicht nur die Anaplasrose, sondern auch andere Krankheiten mittels Blut übertragen werden können, wird man die Blutentnahme durch Punktion der Vena jugularis in Zukunft kritisch überdenken müssen.

## Zusammenfassung

An Hand von Infektionsversuchen mit *Anaplasma marginale* wurde neben dem klinischen Krankheitsverlauf den verschiedenen Übertragungsmöglichkeiten besonderes Interesse geschenkt. In mehreren Versuchsreihen konnte die Anaplasrose durch eine intravenöse, intramuskuläre und subkutane Infektion übertragen werden.

Während der Versuche erkrankten 2 Kälber an Anaplasrose, die nicht infiziert wurden. Der Verdacht lag nahe, daß sich diese beiden Tiere durch orale Aufnahme von infektiösem Blut angesteckt haben. In der Folge wurden 4 Kälber per os experimentell infiziert, 2 Kälber dienten als Kontrolltiere. Nach einer Inkubationszeit von durchschnittlich 30 Tagen konnten bei allen 4 Tieren Anaplasmen im Blutausschrieb nachgewiesen und positive KBR-Titer ermittelt werden.

## Summary

### **Demonstration of the oral Path of Infection with Anaplasma Marginale in Calves.**

By means of experimental infections with *Anaplasma marginale* special attention was paid to the various possibilities of transmission apart from the clinical course of the illness. In several strings of experiment anaplasmosis could be transmitted by intravenous, intramuscular and subcutaneous infection.

During the experiment 2 calves which had not been infected fell ill with anaplasmosis. The assumption presented itself that these two animals had infected themselves by oral intake of contagious blood. As a result, 4 calves were experimentally infected per os, while 2 calves served as controls. After an average incubation period of 30 days all 4 animals presented anaplasmosis in blood films as well as positive CFT-titers.

## Résumé

### **Epreuve de la voie d'infection orale de Anaplasma marginale des veaux.**

Lors des essais d'infection avec *Anaplasma marginale*, on a - outre le déroulement de la maladie - porté de l'intérêt particulier aux différentes possibilités d'infection. Au cours de plusieurs séries d'expériences on a réussi à transmettre l'Anaplasmosé par des infections intraveineuses, intramusculéuses et sous-cutanéés.

Pendant les expériences, deux veaux qui n'avaient pas été infectés, ont été atteints d'Anaplasmosé. On supposait que ces deux veaux s'étaient contaminés oralement par du sang infectieux. Puis, quatre veaux ont été infectés oralement par expérience, deux veaux ont servi comme animaux de contrôle. Après une période d'incubation de 30 jours en moyenne, on a pu détecter des Anaplasmes aux frottis de sang de tous les quatre animaux et trouver des titres KBR positifs.

## References

1. Seifert, H.S., Die Anaplasmosé, Ätiologie, Behandlung und Verhütung. Verlag Scharper, Hannover. 1971.
2. Zaug, J.L., Bovine anaplasmosis: Transplacental transmission as it relates to stage of gestation. *Am. J. Vet. Res.* 46:570-572. 1985.
3. Norton, J.H., Parker, R.J., Forbes-Faulkner, J.C., Neonatal anaplasmosis in a calf. *Austr. Vet. J.* 60:348. 1983.
4. Marktl, W., Verlaufsuntersuchungen mit *Anaplasma marginale* bei Kälbern. Diss., Vet. Med. Univ. Wien. 1990.
5. Stöger, J., Infektionsversuche mit *Anaplasma marginale* bei Kälbern. Diss., Vet. Med. Univ. Wien. 1990.
6. Baumgartner, W., Schlerka, G., Stöger, J., Fumicz, M., Awad-Masalmeh, M., Schuller, W., Weber, P., Seroprevalence Survey for *Anaplasma marginale*-Infection of Austrian Cattle. *J. Vet. Med. B*, im Druck. 1992.
7. Schuller, W., persönliche Mitteilung. 1989.
8. Ristic, M., Anaplasmosis. *Adv. Vet. Sci.* 6:11-192. 1960.
9. Roby, T.O., Natural transmission of Bovine Anaplasmosis. *Southwest. Vet.* 16:17-22. 1962.
10. Ristic, M., Bovine Anaplasmosis. In: Kreier, J.P. (Hrsg.): Parasitic Protozoa. Vol. IV, Academic Press, New York, S. 100-104. 1977.