

## F. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Lewis-Ratten mit verschiedenen, definierten *Mycoplasma (M.) pulmonis*-Klonen aus einem Nasenisolat einer an Muriner Respiratorischer Mykoplasmosen (MRM) erkrankten Ratte intranasal infiziert. Die infizierten Tiere wurden über einen Zeitraum von ca. vier Monaten in Abständen von 3 - 7 Tagen klinisch untersucht und das Vorkommen von *M. pulmonis* in der Nase regelmäßig überprüft. Der Infektionsversuch sollte

1. Aufschluß über den klinischen Verlauf einer *M. pulmonis*-Monoinfektion und die Virulenz der verwendeten Infektionsklone geben und
2. nachweisen, ob der Erreger *in vivo* der Antigenvariabilität unterliegt und das Phänomen der Antigenvariabilität einen Einfluß auf den klinischen Verlauf der Erkrankung nimmt.

Drei der sieben infizierten Ratten erkrankten klinisch an der MRM, davon zwei Tiere (infiziert mit Klon 4) mittelgradig und ein Tier (infiziert mit Klon 5) geringgradig. Die übrigen vier Ratten (infiziert mit Klonen 5, 12 bzw. 13) zeigten keine klinischen Symptome. Die Infektionsklone 12 und 13 (mit Einschränkung auch Infektionsklon 5) vermochten zwar keine klinische Erkrankung hervorzurufen, waren aber aufgrund ihres Potentials zur Persistenz im Wirt und Induktion geringgradiger, pathologisch-histologisch nachweisbarer Lungenveränderungen als schwach virulent einzustufen. Der Infektionsklon 4 besaß eine höhere Virulenz und konnte klinische Erkrankungen erzeugen.

Reisolate der Infektionsklone 4 und 12 wurden mit den im Infektionsversuch gewonnenen Rattenserum und mit einem gegen ein Epitop des variablen V-1-Antigens von *M. pulmonis* gerichteten monoklonalen Antikörper (mAk 7.1-2) im Westernblot auf *in-vivo*-Variabilität untersucht. *M. pulmonis* wies nur ein variables Protein auf, und zwar das bereits bekannte V-1-Antigen. Eine *in-vivo*-Antigenvariabilität des V-1 konnte mit den verwendeten Antikörpern nicht nachgewiesen werden, wohl aber eine gerichtete *in-vivo*-Größenvariabilität: Das V-1-Antigen wurde bei allen untersuchten infizierten Tieren mit fortschreitender Versuchsdauer größer. Bei den mit dem gleichen Klon infizierten Ratten traten zu denselben Zeitpunkten nach der Infektion gleich große Größenvarianten des V-1-Antigens auf.

Das V-1-Antigen nahm sowohl in den klinisch erkrankten als auch in den klinisch gesunden Ratten in der Größe zu. Das alleinige Auftreten von V-1-Größenvariabilität kann somit keinen Einfluß auf die klinische Erkrankung gehabt haben. Es zeigte sich auch keine Korrelation zwischen einzelnen V-1-Größenvarianten und der Virulenz des Erregers. In den erkrankten Tieren waren jedoch über den gesamten Infektionszeitraum zusätzlich zu den mit fortschreitender Zeit größer werdenden V-1-Varianten (ca. 180 - 300 kDa) stets auch einige V-1-Varianten mit niedrigen Molekulargewichten (ca. 63 - 111 kDa) nachweisbar, die bei den nicht erkrankten Tieren sechs Wochen nach der Infektion verschwanden. Es ist möglich, daß diese niedrigmolekularen V-1-Varianten eine Rolle in der Virulenz der *M. pulmonis*-Klone spielen.

## F. Summary

CONSTANZE DALLMANN:

Investigation of the antigenic variation of *Mycoplasma pulmonis* in the rat.

Lewis rats were infected intranasally with different defined *Mycoplasma (M.) pulmonis* clones originating from nasal washes of a rat with Murine Respiratory Mycoplasmosis (MRM). The rats were observed for clinical symptoms every 3 to 7 days up to 4 months post-infection and the nose was checked regularly for the occurrence of *M. pulmonis*. The purpose of the study was

1. to investigate the clinical course of a mono-infection with *M. pulmonis* and to test the virulence of the clones used for infection and
2. to determine if antigenic variation of *M. pulmonis* occurs *in vivo* and if this phenomenon has an influence on the clinical course of the disease.

Three of the seven rats infected showed clinical symptoms, two of them (infected with clone 4) a moderate and one (infected with clone 5) an insignificant disease. The other four rats (infected with clones 5, 12 or 13 respectively) showed no clinical symptoms. The clones 12 and 13 (and with some restriction clone 5) were unable to establish a clinical disease. Due to their potential to persist in the host and to induce minimal lung lesions shown by histopathology sections they had to be estimated as low virulent. Clone 4 was stronger virulent and able to establish a clinical disease.

The *in vivo* variability of clones 4 and 12 was investigated by western immunoblot analysis with sera from the infected rats as well as with the monoclonal antibody 7.1-2 which recognizes an epitope on the variable V-1 antigen of *M. pulmonis*. Only one variable protein of *M. pulmonis* could be detected, already known as the V-1 antigen. *In vivo* antigenic variation of the V-1 could not be shown with the antisera used but a directed *in vivo* size variability: The molecular weights of the V-1 size variants increased in all infected rats with time of infection. In addition, variants identical in size could be reisolated at the same time after infection from rats inoculated with the same clone.

The fact that the V-1 molecule increased in size in both clinically diseased as well as healthy rats shows that the mere occurrence of size variability *in vivo* could not have influenced the clinical course of the disease. There was no correlation between certain size variants and the virulence of *M. pulmonis*. The diseased rats showed, however, during the whole observation time in addition to size variants with increasing molecular weights (about 180 - 300 kDa) size variants with low molecular weights (about 63 - 111 kDa) which disappeared in the infected but healthy rats six weeks post-infection. These low molecular weight variants may play a role in the virulence of the *M. pulmonis* clones.