

## **5. Zusammenfassung**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Anzahl und Verteilung verschiedener Leukozytenpopulationen in der Dickdarmwand bei einer experimentellen Infektion mit *Oesophagostomum (O.) dentatum* zu charakterisieren und histometrisch zu objektivieren. Zu diesem Zweck wurden sechzehn vier Monate alte Schweine einmalig mit einer Dosis von 50.000 infektiösen Larven von *O. dentatum* infiziert und 2, 7, 14 und 35 bzw. 49 Tage p. i. getötet. Vier klinisch gesunde Tiere aus dem gleichen Bestand bildeten die Vergleichsgruppe. Bei der Sektion der Tiere wurde Gewebe aus dem Zäkum, dem proximalen Kolon, der Ansa centralis und dem Kolon descendens entnommen. CD4<sup>-</sup>, CD6<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten, IgA<sup>+</sup> Plasmazellen und Makrophagen bzw. neutrophile Granulozyten wurden in Kryostatschnitten immunhistochemisch dargestellt. Eosinophile Granulozyten und Mastzellen wurden in formalinfixierten Paraplastschnitten mit Giemsa- bzw. Toluidinblaulösung angefärbt. Die Zählung der verschiedenen Leukozytenpopulationen innerhalb der Granulome sowie außerhalb der Granulome in Mukosa und Submukosa wurde mit einem halbautomatischen Bildanalysesystem durchgeführt.

Wurmknötchen kamen fast ausschließlich am 2. und 7. Tag p. i. vor und wurden primär im Zäkum und vorderen Abschnitt des proximalen Kolons gefunden. Im Vergleich zum 2. Tag p. i. war es am 7. Tag p. i. zu einer deutlichen Größenzunahme der Wurmknötchen gekommen, was sowohl die Größe der Larve als auch die Ausdehnung des Zellinfiltrats betraf. Das die Larve umgebende Zellinfiltrat setzte sich sowohl am 2. als auch am 7. Tag p. i. hauptsächlich aus Makrophagen bzw. neutrophilen Granulozyten, T-Lymphozytensubtypen und eosinophilen Granulozyten zusammen. Der zahlenmäßige Anteil der an der Granulomformation beteiligten Zelltypen war großen Schwankungen unterworfen, die einzelnen Zelltypen waren aber innerhalb des Wurmknötchens typisch verteilt. Die makroskopischen und mikroskopischen Befunde der Auswirkungen einer *O. dentatum*-Infektion entsprachen weitgehend den in der Literatur beschriebenen Verhältnissen. Die Zellzusammensetzung der Granulome, die durch *O. dentatum* ausgelöst werden, weist deutliche Ähnlichkeit mit Beschreibungen anderer Granulome, die durch Nematoden verursacht werden, auf.

In der Mukosa und Submukosa der Kontrolltiere zeigten die verschiedenen Leukozytensubpopulationen eine typische Verteilung. Während  $CD4^+$  T-Lymphozyten sowie Makrophagen bzw. neutrophile Granulozyten gleichmäßig in der Lamina propria verteilt waren, kamen  $CD8^+$  T-Lymphozyten bevorzugt im Kryptalsbereich und häufig intraepithelial vor.  $IgA^+$  Plasmazellen lagen überwiegend im Kryptbasisbereich der Lamina propria und kamen wie die T-Lymphozytensubtypen und Makrophagen bzw. neutrophilen Granulozyten nur sehr selten in der Submukosa vor. Mastzellen und eosinophile Granulozyten waren bei den Kontrolltieren nur vereinzelt zu finden. Außerhalb der Wurmknötchen zeigten  $CD4^+$ -,  $CD6^+$ - und  $CD8^+$  T-Lymphozyten sowie Makrophagen bzw. neutrophile Granulozyten sehr ähnliche Veränderungen in Anzahl und Verteilung im Verlauf der *O. dentatum*-Infektion. So kam es hauptsächlich am 7. Tag p. i. zu einem signifikanten Anstieg der genannten Zelltypen in der Submukosa, in der Mukosa hingegen ergaben sich keine signifikanten Veränderungen. Die Anzahl der Mastzellen war am 7. und 14. Tag p. i. vor allem im Kryptbasisbereich der Lamina propria der betroffenen Darmabschnitte erhöht. Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten stieg ab dem 2. Tag p. i. im Kryptbasisbereich und in der Submukosa bis zum Ende der Beobachtungsperiode an. Ab dem 14. Tag p. i. war diese Entwicklung auch in der Ansa centralis zu beobachten. Die Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zu den klinischen Beobachtungen, erlauben aber keine Aussage bezüglich der Entwicklung einer protektiven Immunität bei einer Infektion des Schweines mit *O. dentatum*.

## **6. Summary**

**Monika Häubler**

### **Immunohistological investigations of alterations in the large intestinal mucosa of pigs during infection with *Oesophagostomum dentatum* at different times after experimental infection**

The objective of this study was to characterize number and distribution of different leucocyte populations in the wall of the large intestine during an experimental infection with *Oesophagostomum* (*O.*) *dentatum*. To this end sixteen pigs aged four months were inoculated orally with a single dose of 50.000 infective larvae of *O. dentatum* and killed 2, 7, 14 and 35 or 49 days post inoculation (p. i.). Four additional clinically healthy pigs of the same stock served as uninfected controls. At necropsy, tissues from the cecum, proximal colon, central flexure and descending colon were collected. CD4<sup>+</sup>, CD6<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes, IgA<sup>+</sup> plasma cells and macrophages or neutrophils were demonstrated by immunohistochemical methods in cryostat sections. Eosinophils and mast cells were stained in paraplast sections of formalin fixed tissue with Giemsa solution and Toluidin blue, respectively. The different cell types associated with the granulomas and in the mucosa and submucosa outside the granulomas were enumerated with a semiautomatic image analysis system.

Parasitic nodules were found predominantly in the cecum and proximal colon at days 2 and 7 p. i. Compared with the second day p. i. the parasitic nodules of the seventh day p. i. were markedly increased in size, due to the enlargement of the larva and the cellular infiltrate. The cellular infiltrate surrounding the larvae consisted mainly of macrophages or neutrophils, T-lymphocyte-subtypes and eosinophils. Although the number of the cell types, which contributed to the granuloma formation, varied considerably, the different cell types were typically distributed within the parasitic nodules. The macroscopic and microscopic results of the effects of an infection with *O. dentatum* were largely in accordance with reported data. The cellular composition of the granulomas induced by *O. dentatum* resembles descriptions of other granulomas, induced by nematodes.

In the control animals the different cell types were typically distributed in the mucosa and submucosa. While CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes and macrophages or neutrophils were evenly distributed within the lamina propria, CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes were more frequent in the luminal part of the mucosa and often occurred within the epithelium. IgA<sup>+</sup> plasma cells were found predominantly in the basal mucosa and, together with T-lymphocyte-subtypes and macrophages or neutrophils were only rarely seen in the submucosa. Mast cells and eosinophils were only rarely found in control animals. Outside the parasitic nodules, there were very similar changes in the number and distribution of T-lymphocyte-subsets and of macrophages or neutrophils during infection with *O. dentatum*. Mainly on the 7th day p. i. there was a significant increase in the submucosa of the cells mentioned, but there were no significant changes in the mucosa. On days 7 and 14 p. i. the number of mast cells was increased predominantly in the basal mucosa in the cecum and proximal colon. The number of eosinophils was increased in the basal mucosa and submucosa, beginning on the second day p. i., up to the end of the observation period. At day 14 p. i. this increase occurred also in the central flexure. These results are not contrary to the clinical observations, but they do not allow a definitive statement to be made regarding the development of a protective immunity during the *O. dentatum*-infection of pigs.