

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Untersuchungen waren Aussagen zu möglichen systemischen sowie lokalen Immunreaktionen von Pferden auf eine wiederholte Applikation eines schimmelpilz- und milbenreichen Feinstaubes via Atemmaske.

Hierzu wurde sechs jungen Trabern (2,5 – 4 Jahre) im direkten Anschluß an eine forcierte Belastung auf dem Laufband (im Wechsel 5 min Schritt bei 5 km/h und 15 min Trab bei 12 km/h über insgesamt 60 min) zehnmal in einem Zeitraum von 28 Tagen ein schimmelpilz- (*Aspergillus flavus* und *Penicillium viridicatum*) und milbenhaltiger (*Acarus siro*) Staub via Atemmaske über jeweils 20 min appliziert. Je m³ Atemluft inhalierten die Pferde im Durchschnitt 10,5 mg Staub (Basis: fein zermahlene Mischfutter; zugesetzt: 3 x 10⁷ Koloniebildende Einheiten von *Aspergillus* und von *Penicillium* sowie ca. 10.000 Milben pro g des inhalierten Staubes). 75% der Partikel dieses Staubes hatten eine Korngröße < 10 µm aerodynamischen Durchmesser (für Pferde als lungengängig anzusehen).

Untersucht wurden klinische Parameter (Atem- und Pulsfrequenz, Körpertemperatur, Lungenauskultation sowie -perkussion und Hustenauslösbarkeit), das Blutbild, im ELISA der Gesamtantikörpertiter (jeweils gegen *Aspergillus*, *Penicillium* oder Milben) mittels polyklonaler Detektionsantikörper und die Antikörperisotypen IgM, IgG_a und IgG_b mittels monoklonaler Detektionsantikörper im Serum sowie der Gesamtantikörpertiter und die Zytologie des Tracheobronchialsekretes (gewonnen als Trachealspülprobe) der Versuchspferde.

1. Trotz der vorgeschalteten körperlichen Belastung der Pferde wurde eine quantitative oder qualitative Veränderung der Blutzellen weder während, noch nach den zehn Inhalationen erreicht.
2. Im Serum wurden bei keinem der sechs Versuchspferde signifikante Veränderungen der Gesamtantikörpertiter sowie Variationen im Gehalt

der Isotypen IgM, IgGa und IgGb gegen die geprüften Antigene in der Phase der inhalativen Belastung nachgewiesen.

3. Das Vorkommen von phagozytierten Partikeln in den Makrophagen des Tracheobronchialsekrets bei allen Versuchspferden sowie von Makrophagen mit schaumiger Struktur bei zwei Pferden ist ein Indiz für eine weit distale Deposition des inhalierten antigenbeladenen Substrates in der Lunge bzw. für eine geringgradige Beeinträchtigung der Lungenfunktion.
4. Zur Berechnung der Gesamtantikörpertiter im Tracheobronchialsekret, das aufgrund der Entnahmetechnik in unterschiedlichen Konzentrationen gewonnen wurde, eignete sich die Harnstoffmarker-Methode, mit der gut reproduzierbare Ergebnisse erzielt wurden.
5. Ein transientser Anstieg der Gesamtantikörpertiter im Tracheobronchialsekret gegen einzelne Antigene belegt eine Reaktion des Immunsystems gegen die inhalierten Antigene ausschließlich auf pulmonaler Ebene, obwohl diese Ergebnisse nicht mit den Befunden von FREVEL (1997) aus klinischen Untersuchungen und auch nicht mit Veränderungen in der Reagibilität auf eine Histamininhalation korrelieren.
6. Erst ein veränderter Expositionsmodus, d.h. die subkutane Applikation der Antigene, führte zu einem Anstieg von schimmelpilz- und milbenspezifischen IgM-Antikörpern im Serum, jedoch kaum oder gar nicht von IgGa oder IgGb-Antikörpern. Dies spricht eindeutig für eine Primärreaktion der Versuchspferde gegen diese Antigene nach subkutaner Immunisierung, der trotz vorheriger wiederholter inhalativer Belastung keine Sekundärreaktion in Form von IgG-Antikörpern folgte. Welche Mechanismen für diese unerwarteten und neuen Ergebnisse verantwortlich sind, bleibt in zukünftigen Arbeiten zu klären.

7. SUMMARY

Herbert Paetkau:

Immunological reactions against moulds and mites in serum and tracheo-bronchial secretions in young trotters due to controlled inhalative antigenic challenge immediately after exercising

The aim of this study was to examine possible systemic and local immunological responses of horses to repeated application of moulds and storage mites from feedstuffs via inhalation mask.

Moulds (*Aspergillus flavus* and *Penicillium viridicatum*) and mites (*Acarus siro*) containing dust was applied to six young trotters (2,5 - 4 years) during 20 min respectively in ten sessions within 28 days directly after strenuous exercise on a treadmill (alternating 5 min pace at 5 km/h with trotting at 12 km/h over a 60 min time period). The horses inhaled an average of 20 mg of dust per m³ of air (base: finely grinded pellets with added 3 x 10⁷ colony forming units of *Aspergillus* and *Penicillium* as well as 10.000 mites per g of inhaled dust). 75% of the dust particles had an aerodynamic diameter < 10 µm (meaning that they have access to the lung alveoles of horses).

Clinical parameters (pulse, heartrate, body temperature, lung auscultation and percussion, and cough provocation), blood count, the ELISA derived total antibody content by polyclonal detection antibodies (against *Aspergillus*, *Penicillium* or mites) and the isotypes IgM, IgGa, and IgGb by monoclonal detection antibodies, as well as the total antibody content and the cytology of the tracheobronchial secretions (TBS, obtained by tracheal lavage) were examined in the tested horses.

1. In spite of a previous physical exercise of the tested horses it was not possible to recognise a quantitative or qualitative change of the blood cell counts during or after a tenfold repeated dust inhalation.

2. No significant variation of the antibody isotypes IgM, IgGa and IgGb against the employed antigens was found in the serum of the six tested horses.
3. The presence of phagocytosed particles in tracheobronchial secretion macrophages in all test horses and evidence of macrophages with foamy structures in two horses suggest a far distal deposition of the inhaled antigen loaded substrates in the lungs and a slight deterioration of the lung function.
4. To calculate the total antibody content of the tracheobronchial secretion which was obtained in different concentrations (due to the sampling technique) the use of the urea-marker-method was helpful to get well reproducible results.
5. A small and transient increase of the specific antibody titers in the horses tracheobronchial secretion during the inhalation period did not correlate with subtle pulmonary reactions observed by FREVEL (1997) in these subjects.
6. Non of the six horses showed a significant increase in the antigenspecific antibodytiters in serum, due to inhalative antigen challenge. However repeated subcutaneous application of those antigens revealed an increased primary type IgM response without any significant secondary IgG-reaction. The real reasons for those unexpected and new results remain to be elucidated in further studies.