

Antikörpertiter gegen Streptomyces-Sporen in Serum, Tracheobronchialesekret und Bronchoalveolär- Lavage-Flüssigkeit von gesunden Pferden und von Pferden mit chronischer Lungenkrankheit

Gabriele Grünig¹, Katalin Zlinszky¹, M. Hermann²,
N. Christine Winder¹ und R. von Fellenberg¹

¹ Abteilung für angewandte Physiologie
des Veterinär-Physiologischen Instituts
(Direktor: Prof. Dr. med. vet. E. Scharrer) und

² Veterinärmedizinische Klinik
(Direktor: Prof. Dr. med. vet. P. F. Suter)
Universität Zürich

Einleitung

Chronische Lungenkrankheiten (CLK) des Pferdes sind sehr häufig und histologisch durch eine chronische Bronchiolitis charakterisiert (Winder und von Fellenberg, 1986). Der Schweregrad der klinischen Symptome (Lowell, 1964; Schatzmann und Gerber, 1972) und die Häufigkeit der Krankheit (Clarke et al., 1987; McPherson et al., 1979 a) ist mit der Menge organischen Staubs im Stallmilieu der Tiere korreliert. In dieser Beziehung weist die CLK des Pferdes Ähnlichkeiten mit der Hyperimmunkrankheit der Lunge des Menschen auf, zu der auch die Farmerlunge zählt (Cormier et al., 1985; Gump et al., 1979). Im Unterschied zur typischen (durch chronische Bronchiolitis charakterisierte) CLK der Pferde ist die Hyperimmunkrankheit durch eine interstitielle Pneumonie gekennzeichnet. Diese kommt sehr selten auch bei Rindern und Pferden vor (Pauli et al., 1972). Thermophile Aktinomyceten und Pilze werden als eine Ursache der Hyperimmunkrankheit und der CLK bei Mensch und Pferd angesehen (Lawson et al., 1979; McPherson et al. 1979 a und b; Halliwell et al., 1979; Asmundsson et al., 1983). Die Sporen dieser Mikroorganismen könnten entweder als Allergene wirken oder unspezifische Entzündungen durch Komplementaktivierung auf dem Alternativweg (Marx et al., 1980) oder durch Freisetzung ihrer proteolytischen Enzyme (Roberts et al., 1983; Schällibaum et al., 1977) bewirken. Unsere früheren Untersuchungen (Grünig et al., 1986) zeigten, daß Heu-, Stallstaub- und Tracheobronchialesekretproben von Pferden Elastase produzie-

Zusammenfassung

Serum-, Tracheobronchialesekret- und Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben von Pferden enthielten unabhängig vom Schweregrad der chronischen Lungenkrankheit Antikörper gegen Oberflächenantigene auf Sporen von *Streptomyces* (*Strep.*) *collinus*/*diastatochromogus* und von *Strep. griseus*. Antikörpertiter gegen Sporen von *Strep. collinus*/*diastatochromogus* waren höher als die gegen Sporen von *Strep. griseus*. In Serumproben wurden Antikörpertiter der IgG-, IgA- und IgM-Klasse gegen die *Streptomyces*-Sporen im Bereich von 80 bis 5120 bestimmt, in Tracheobronchialesekretproben reichten IgA- und IgG-Titer von 20 bis 5120, IgM-Titer waren nur in der Hälfte der Sekrete vorhanden. In Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben wurden IgG- und IgA-Titer im Bereich von 10 bis 640 gemessen, IgM-Titer konnten nicht nachgewiesen werden. Die Höhe der Antikörpertiter war entweder gar nicht oder nur schwach mit dem Schweregrad der chronischen Lungenkrankheit korreliert. Das häufige Auftreten sowie die Höhe der Antikörpertiter könnten durch die weite Verbreitung der *Streptomyces*-Sporen in der Stallumgebung von Pferden bedingt sein. Allerdings scheint sich eine klinisch bedeutsame, mittel- oder hochgradige chronische Lungenkrankheit nur dann zu entwickeln, wenn andere prädisponierende Faktoren, wie z. B. eine Influenzainfektion, das Lungengewebe vorschädigen.

Antibody titers against spores of streptomyces species in sera, respiratory secretions and bronchopulmonary lavage fluids of normal horses and of horses affected with chronic pulmonary disease

Antibodies of the IgG, IgA and IgM classes against spore wall antigens of *Streptomyces* (*Strep.*) *collinus*/*diastatochromogus* and of *Strep. griseus* were determined by direct and indirect immunofluorescence. Sera and respiratory secretions were obtained from 62 horses with mild (20 horses), mild to moderate (6 horses), moderate (21 horses), and severe (15 horses) chronic pulmonary disease. Bronchoalveolar lavage fluid samples were obtained from 3 normal horses and from 6 horses with moderate to severe chronic pulmonary disease. Antibody titers were present in every sample tested and ranged from 80 to 5120 in sera in which titers were of the IgG, IgA, and IgM classes. In respiratory secretion specimens IgG and IgA titers ranged from 20 to 5120, and IgM titers were only present in half of the secretions tested. Bronchoalveolar lavage fluid samples contained IgG and IgA titers in the range of 10 to 640. Titers to spores of *Strep. collinus*/*diastatochromogus* were higher than to spores of *Strep. griseus*. Antibody titers were either not or only weakly correlated with the severity of chronic pulmonary disease. The high incidence of antibody titers might reflect the wide distribution of these *Streptomyces* spores in the stable environment of horses. Conceivably, some local production might have taken place as indicated by the IgA antibody titers against *Strep. collinus*/*diastatochromogus* in respiratory secretions which were equal or higher than serum IgA antibody titers. However, moderate or severe chronic pulmonary disease may develop only when other factors, e.g. influenza infection, predispose the lung to injury.

rende Mikroorganismen enthalten. Elastasen sind spezielle Proteasen, die Elastin verdauen können. Weiterhin wiesen 80 % der untersuchten Lungengewebsproben von Pferden Elastase produzierende Mikroorganismen auf, die hauptsächlich zur Spezies *Streptomyces* gehörten. Zwei Arten wurden näher charakterisiert: a) *Streptomyces* (*Strep.*) *collinus*/*diastatochromogus*, dessen Wachstum durch frisches, nicht aber durch dekomplementiertes Pferdeserum gehemmt wird, und b) *Strep. griseus*, dessen Elastase(n) durch Pferdeserum nicht gehemmt werden (Grünig et al., 1986). Wir wollten nun wissen, ob bei Pferden eine immu-

nologische Auseinandersetzung mit diesen Mikroorganismen stattgefunden hat, die zur Bildung von Antikörpern führte. Wir bestimmten deshalb Antikörpertiter der verschiedenen Immunglobulin-(Ig-)Klassen in Serum- und Sekretproben des Respirationstrakts. Bei dem Nachweis eventuell vorhandener Antikörper sahen wir uns dem Problem gegenübergestellt, welche Antigene – ganze Sporen, bakterielle Kulturüberstände, Bruchstücke und Zellinhalt von Sporen bzw. Mycelien – für das Immunsystem des Pferdes wichtig und somit für die Diagnostik relevant sind. Da für Streptomycesarten keine standardisierte Methode zur Herstellung löslicher Antigene besteht (Kurup et al., 1987), entschlossen wir uns, Antikörper gegen ganze Sporen mittels Immunfluoreszenz nachzuweisen.

Material und Methode

Pferde, Serum- und Sekretproben

Serum- und Tracheobronchialsekretproben stammten von 62 Pferden mit CLK; 20 Pferde waren leichtgradig, 6 leicht- bis mittelgradig, 21 mittelgradig und 15 hochgradig erkrankt. Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeit wurde von 3 gesunden Pferden und von 6 mittel- bzw. hochgradig an CLK erkrankten Pferden gewonnen. Die Einteilung des Schweregrads der CLK erfolgte wie andersorts bereits beschrieben (Grünig et al., 1985). Aus technischen Gründen wurden teilweise nicht alle Untersuchungen an jeder Probe durchgeführt.

Die Seren wurden in Portionen von 1 ml bei -70°C eingefroren. Die Tracheobronchialsekrete wurden mittels Sonde und Endoskop aspiriert, wie beschrieben (Grünig et al., 1985). Die Sekrete wurden 60 Minuten bei 50 000 g zentrifugiert und der Überstand in 500- μl -Portionen bei -70°C eingefroren. Die Methode der Bronchoalveolär-Lavage wurde nach Viel (1986) adaptiert und ist genau bei Grünig et al. (1989) beschrieben. Beide Lungenhälften wurden jeweils zweimal mit 250 ml 37°C warmer physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Dabei wurden durchschnittlich 67 % des infundierten Volumens zurückgewonnen. Die Waschflüssigkeit wurde durch eine Lage Gaze filtriert, bei 400 g während 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand in Portionen von 1 ml bei -20°C eingefroren. In Vorversuchen wurden Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben vor dem Einfrieren mittels Ultrafiltration (YM 2 Membran, Amicon, Wallisellen), bei der Moleküle, die größer als 1000 Daltons waren, zurückgehalten wurden, ca. $20\times$ konzentriert. Da konzentrierte Waschflüssigkeitsproben zwar höhere Titer aufwiesen als nicht konzentrierte Proben, die Verteilung der Titer zwischen den verschiedenen Ig-Klassen jedoch ähnlich war, wurden im weiteren unkonzentrierte Proben untersucht. Es wurde keine Korrektur vorgenommen, um die Verdünnung des bronchoalveolären Sekrets auszugleichen.

Bakterien

Stämme von *Strep. griseus* und von *Strep. collinus/diastatochromogus* waren ursprünglich aus Lungengewebe von Pferden isoliert worden (Grünig et al., 1986). Sie wurden taxonomisch von Prof. Dr. R. Hütter, ETH Zürich, identi-

fiziert. Die Sporenisolierung wurde nach Hirsch und Ensign (1976) adaptiert. Die Bakterien wurden auf Bacto-Yeast-Malt-extract-agar-Platten (YM) (Difco, Vertrieb in der Schweiz Chemie Brunschwig AG, Basel) bei 35°C während 2 Tagen angezüchtet. Von jeder Platte wurden 10 neue YM-Platten beimpft, die 12 bis 14 Tage bei 35°C bebrütet wurden. Jede Platte wurde auf kontaminierende Bakterien durch Subkultur eines kleinen Teils des Bakterienrasens geprüft. Die Sporen wurden durch Abreibung mittels Glaskügelchen geerntet, indem auf jeder Platte ca. 200 sterile Glaskügelchen mit einem Durchmesser von ca. 4 mm hin und her gerollt wurden. Die Kügelchen wurden in eine Glasflasche geschüttet und bei -20°C aufbewahrt. Die Sporen wurden von den Glaskügelchen durch zweimaliges Waschen mit je 30 ml 4°C kaltem 50-mmol/l-Tris/HCl-Puffer, der 0,001 % Triton X-100 enthielt (TX-Puffer), gelöst. Danach wurden die Sporen bei 50 000 g während 30 Minuten zentrifugiert und die Waschung mit TX-Puffer dreimal wiederholt. Die Sporen wurden in ungefähr 7 ml TX-Puffer suspendiert. Eventuell vorhandene Klumpen wurden mittels 3stündiger Ultraschallbehandlung (Branson 200, Bender and Hohbein AG, Zürich) aufgelöst. Die durch Zählung in einer Bürker Kammer bestimmte Sporendichte betrug $1\times 10^6/\text{ml}$ für *Strep. griseus* und $1\times 10^9/\text{ml}$ für *Strep. collinus/diastatochromogus*. Die Sporensuspensionen wurden bei 4°C während einiger Monate aufbewahrt.

Antiseren

Die direkte Immunfluoreszenz wurde mit Fluoreszein konjugiertem Anti-Pferde-IgG (ganzes Molekül) vom Kaninchen (Miles, Kat. Nr. 65-168, Vertrieb in der Schweiz Streuli AG, Zürich) durchgeführt. Für die indirekte Immunfluoreszenz benutzten wir Fluoreszein konjugiertes Antiserum gegen Kaninchen-Immunglobuline vom Schwein (Dakopatts, Kat. Nr. F 205, Vertrieb in der Schweiz Instrumenten Gesellschaft Zürich) als Indikator. Antiseren gegen die verschiedenen Pferde-Ig-Klassen wurden im Kaninchen produziert. Die Antiseren gegen IgA (Fc) und IgM (Fc) wurden von der Fa. Nordic (Vertrieb in der Schweiz: Biogenzia Lemania SA, Lausanne) bezogen, und das Antiserum gegen IgG wurde selber nach einer Prozedur von Hudson und Hay (1980) hergestellt. Die Immunelektrophorese ergab, daß das resultierende Antiserum mit IgG und IgG-T reagierte.

Alle Antiseren wurden mit Sporen von *Strep. griseus* und von *Strep. collinus/diastatochromogus* absorbiert, um die unspezifische Fluoreszenz zu vermindern. Dazu wurde 1 ml der jeweiligen Sporensuspension bei 50 000 g während 30 Minuten zentrifugiert, der Überstand verworfen, und die Sporen wurden in 1 ml Antiserum resuspendiert. Die Mischung aus Sporen und Antiserum wurde über Nacht bei 4°C auf einem Roller Rack inkubiert. Danach wurden die Sporen abzentrifugiert bei 50 000 g während 30 Minuten, und das Antiserum (Überstand) wurde zurückgewonnen. Auf diese Weise wurden die Kaninchenantiseren gegen Pferde-IgA, -IgM und -IgG dreimal mit Sporen von *Strep. collinus/diastatochromogus* und einmal mit Sporen von

Strep. griseus absorbiert. Die mit Fluoreszein konjugierten Antiseren vom Schwein gegen Kaninchen-Immunglobuline und vom Kaninchen gegen Pferde-IgG wurden jeweils einmal mit Sporen von *Strep. griseus* und mit Sporen von *Strep. collinus/diastatochromogus* absorbiert. Nach der Absorption wurden die Antiseren durch einen Einmalfilter mit einem Porendurchmesser von $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore AG, Kloten) filtriert und in $100\text{-}\mu\text{l}$ -Portionen bei -20°C eingefroren.

Bestimmung der Antikörpertiter

Immunfluoreszenz: Im Prinzip geht man so vor, daß im ersten Schritt das Probematerial mit auf Objektträgern fixiertem Antigen (Sporen) inkubiert wird. Die Probe wird abgespült. Bei der direkten Immunfluoreszenz wird das mit Fluoreszein konjugierte Indikatorantiserum gegen Pferde-IgG dazugegeben, inkubiert und abgespült. Waren Antikörper der IgG-Klasse gegen die Sporen in der Probe vorhanden, leuchten diese im Fluoreszenzmikroskop. Bei der indirekten Immunfluoreszenz wird im 2. Schritt ein nicht markiertes Kaninchenantiserum, das entweder gegen Pferde-IgG oder -IgA oder -IgM gerichtet ist, dazugegeben, inkubiert und abgespült. Waren an Sporen Antikörper aus der Probe gebunden, die der Klasse angehören, gegen die das Kaninchenantiserum gerichtet ist, werden im 3. Schritt die Kaninchen-Ig mit Fluoreszein markierten Antikörpern aus Schweineantiserum gegen Kaninchen-Ig gekoppelt; die Sporen leuchten im Fluoreszenzmikroskop. Die indirekte Immunfluoreszenz hat den Vorteil, daß sie empfindlicher ist als die direkte Immunfluoreszenz, da ein weiterer Antikörper im „Sandwich“ vorhanden ist. Allerdings kann auch die unspezifische Fluoreszenz erhöht sein.

Damit die Menge des Probenmaterials verarbeitet werden konnte, wurden Objektträger mit aufgedruckten Plastikmasken verwendet, in die 10 runde Löcher mit einem Durchmesser von 6 mm und einer Tiefe von $0,03 \text{ mm}$ geschnitten waren (Semadeni, Ostermundigen). Um eventuell vorhandenes, die Haftung der Sporen vermindernes Material zu entfernen, wurden die Objektträger vor jedem Versuch mit Neodischer Septo SF (Semadeni, Ostermundigen) gewaschen, mit Aqua dest. gespült, über Nacht in 70 % Methanol eingelegt, darauf noch einmal mit Aqua dest. gespült und getrocknet.

Die Sporensuspensionen wurden mit einem Puffer (aus 1 Teil Phosphat gepufferter Kochsalzlösung, pH 8,0 = PBS, und 1 Teil TX-Puffer) im Verhältnis 2 : 1 verdünnt. Je $3 \mu\text{l}$ der verdünnten Sporensuspension wurden pro Loch aufgetragen. Die Objektträger wurden 2 h bei 37°C getrocknet, durch die Flamme gezogen, 10 Minuten in 70 % Methanol inkubiert und 10 Minuten mit PBS gespült. Danach wurden $10 \mu\text{l}$ der mit PBS verdünnten Probe aufgetragen, die über Nacht bei 4°C in einer geschlossenen Kammer mit gesättigter Luftfeuchtigkeit (feuchte Kammer) inkubiert wurde. Die Objektträger wurden danach 3mal 5 Minuten in PBS eingelegt. Nun wurden jeweils $10 \mu\text{l}$ Antiserum aufgetragen. Die Antiserumverdünnungen (mit PBS) waren 1 : 50 für das mit Fluoreszein konjugierte Antiserum gegen Pferde-IgG vom Kaninchen, 1 : 100 für das Kaninchenantiserum gegen Pferde-IgA und 1 : 200 für die Kanin-

chenantiseren gegen Pferde-IgM oder -IgG. Die Antiseren ließ man bei 37°C in einer feuchten Kammer während 1 h einwirken. Danach wurden die Objektträger, wie oben beschrieben, gewaschen. Nun wurden je $10 \mu\text{l}$ mit Fluoreszein konjugiertem Schweineantiserum (1 : 50 verdünnt mit PBS) gegen Kaninchen-Ig auf die Löcher aufgetragen, die nicht konjugierte Kaninchenantiseren enthielten. Die Objektträger wurden 1 h in der feuchten Kammer bei 37°C inkubiert und wie oben beschrieben gewaschen. Als Kontrollen wurden jeweils mitgeführt: a) Sporen, inkubiert mit Fluoreszein konjugiertem Antiserum vom Kaninchen gegen Pferde-IgG oder vom Schwein gegen Kaninchen-Ig, b) Sporen, inkubiert mit der niedrigsten Verdünnung der Serum-, Tracheobronchialsekret- oder Waschflüssigkeitsprobe, c) Sporen, inkubiert zuerst mit Serum-, Tracheobronchialsekret- oder mit Waschflüssigkeitsprobe und dann mit Fluoreszein konjugiertem Schweineantiserum gegen Kaninchen-Ig, d) Sporen, zuerst inkubiert mit einem der unkonjugierten Kaninchenantiseren gegen IgG, IgA oder IgM und dann mit Fluoreszein konjugiertem Schweineantiserum gegen Kaninchen-Ig.

Die Objektträger wurden mit einer Lösung, bestehend aus 10 % PBS/90 % Glycerol (Decklösung), bedeckt, und das Deckglas wurde mit Nagellack versiegelt. Bei den zur Photographie bestimmten Objektträgern wurde der Decklösung p-phenylenediamine (Aldrich, Bender Hohbein, Zürich) beigegeben (100 mg/100 ml Decklösung), um das Verblasen der Fluoreszenz beim Belichten zu vermindern (Johnson und Araujo, 1981). Die Objektträger wurden mit 1000facher Vergrößerung unter einem Fluoreszenzmikroskop (Olympus BH-2, BH-RFL-W5, Olympus Zollikon) ausgewertet. Die Immunfluoreszenz der Sporen wurde in 4 Abstufungen beurteilt (vergleiche auch Abbildung 1): +++ = intensiv grün, ++ = grün-gelb, + = gelbe Fluoreszenz (die Sporenwände sind etwas weniger stark dargestellt, aber immer noch eindeutig sichtbar), - = keine Fluoreszenz. Die Kontrollen zeigten keine Fluoreszenz.

Antikörpertiter: Jede Serum-, Tracheobronchialsekret- oder Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsprobe wurde in mindestens 5 Verdünnungen geprüft, so daß ein Bereich von intensiver bis negativer Fluoreszenz beurteilt werden konnte. Der Antikörpertiter ergab sich aus dem reziproken Wert der Verdünnung, die noch eine Fluoreszenz von + ergab. Die geringsten Verdünnungen, die getestet wurden, war 1 : 10 für Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben und 1 : 20 für die Serum- bzw. Tracheobronchialsekretproben, da bei diesen Verdünnungen die unspezifische Fluoreszenz keine wesentliche Rolle mehr spielt.

Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit dem Chiquadrat-Kontingenztest nach Pearson auf mögliche Zusammenhänge zwischen Antikörpertitern und dem Schweregrad der CLK (vergl. mit Tab. 2) bzw. auf Zusammenhänge zwischen Antikörpertitern der verschiedenen Ig-Klassen (Tab. 7) geprüft (Essl, 1987).

Resultate

Antikörpertiter in Serumproben: Alle Serumproben wiesen Antikörpertiter gegen Sporen von Strep. collinis/diastatochromogus und gegen Sporen von Strep. griseus auf (Tab. 1). Die indirekte Immunfluoreszenz ergab höhere

Titer als die direkte Immunfluoreszenz. Gegen Sporen von Strep. collinis/diastatochromogus wurden höhere Titer gemessen als gegen Sporen von Strep. griseus. Die höchsten Titer gegen Sporen von Strep. collinis/diastatochromogus fanden sich in der IgG-Klasse, dagegen wurden Antikörpertiter gegen Strep. griseus in der IgG-, IgA- bzw. IgM-Klasse

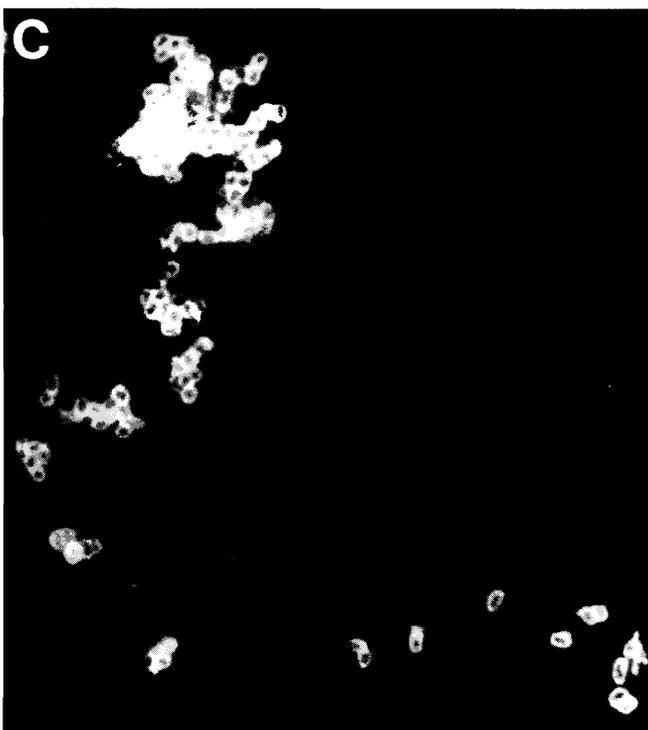
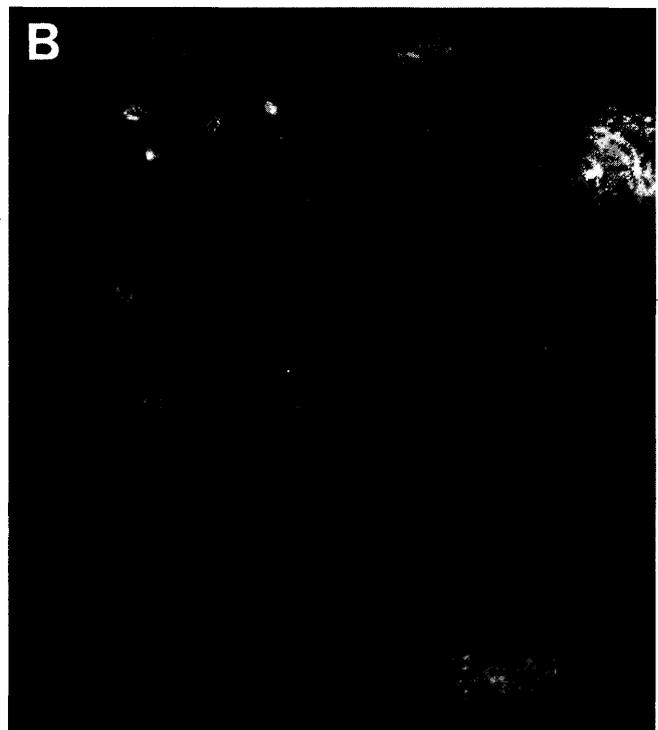
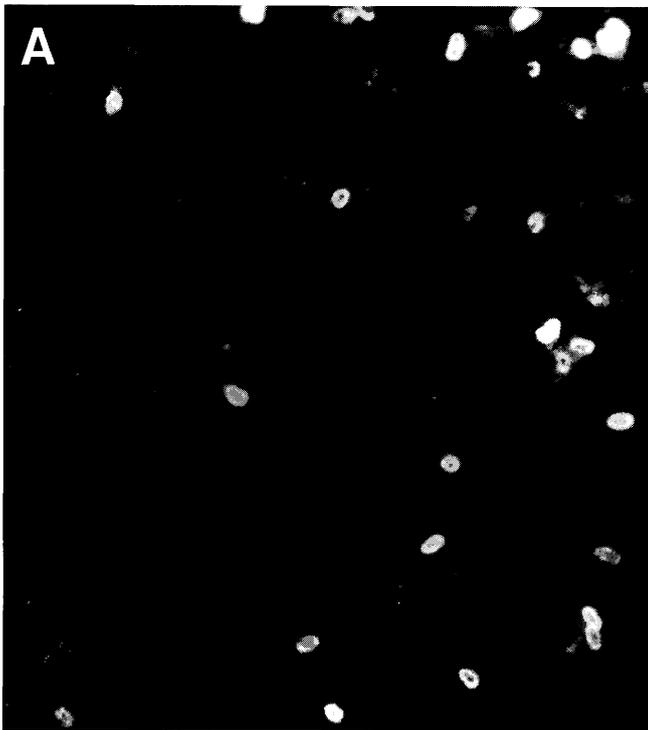


Abb. 1: Mittels Immunfluoreszenz bestimmte Antikörper in Serum- (A, B) bzw. Tracheobronchialsekretproben (C, D) gegen Sporen von Streptomyces collinis/diastatochromogus (A, B) und gegen Sporen von Streptomyces griseus (C, D).

A und C zeigen die intensive Fluoreszenz der Sporen, die mit +++ beurteilt wurde, B und D stellen die schwache Fluoreszenz der Sporen dar, die mit + beurteilt wurde, bei der aber die Sporenwände immer noch eindeutig sichtbar sind. Vergrößerung 1000x.

Tab. 1: Antikörpertiter in Serumproben gegen Sporen von *Streptomyces collinus*/diastatochromogus und von *Streptomyces griseus*

Titer	Anzahl der Pferde mit Antikörper gegen <i>Streptomyces collinus</i> /diastatochromogus				Anzahl der Pferde mit Antikörper gegen <i>Streptomyces griseus</i>			
	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²
80				1				
160				2	8	1	1	1
320			4	4	21	8	14	4
640	7		11	12	22	24	24	24
1280	36	33	10	17	9	29	20	27
2560	11		34	25			2	5
5120	1	29	2	1			1	1
nicht bestimmt	7	0	1	1	1	0	0	0

¹ und ² Die Titer wurden entweder mittels direkter¹ oder mittels indirekter² Immunfluoreszenz bestimmt.

in ähnlichen Größenordnungen gemessen (Tab. 1). Wie Tabelle 2 zeigt, bestand nur ein schwacher Zusammenhang ($p < 0,05$) zwischen dem Schweregrad der CLK und den mittels indirekter Immunfluoreszenz ermittelten Antikörpertitern gegen *Strep. griseus* von der IgG- bzw. IgA-Klasse. Die übrigen Antikörpertiter, die in den Serumproben bestimmt wurden (vergl. mit Tab. 1), zeigten keinen Zusammenhang mit dem Schweregrad der CLK.

Antikörpertiter in Tracheobronchialsekretproben: Fast alle Tracheobronchialsekretproben wiesen bei Verwendung der indirekten Immunfluoreszenz Antikörpertiter der Klassen IgA und IgG gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus und gegen Sporen von *Strep. griseus* auf (Tab. 3). IgM-Titer wurden in der Hälfte der Proben nachgewiesen, und mittels direkter Immunfluoreszenz gemessene IgG-Titer fanden sich in $\frac{2}{3}$ der untersuchten Proben. Im allgemeinen waren die Antikörpertiter der Serumproben höher als die der Tracheobronchialsekretproben. Eine Ausnahme bildeten die IgA-Titer gegen *Strep. collinus*/diastatochromogus, die in 21 von 56 Tracheobronchialsekretproben höher oder gleich hoch waren wie im Serum. Wie in Tabellen 4 und 5 dargestellt, bestanden zwischen dem Schweregrad der CLK und den in Tracheobronchialsekretproben bestimmten Antikörpertitern schwache Zusammenhänge ($p < 0,05$), und zwar galt das für mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmte IgA-Titer bzw. für mittels direkter Immunfluoreszenz bestimmte IgG-Titer gegen *Strep.-griseus*-Sporen und für sowohl mittels direkter als auch mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmte IgG-

Tab. 2: IgG- und IgA-Titer¹ in Serumproben gegen Sporen von *Streptomyces griseus*: Zusammenhang mit dem Schweregrad der chronischen Lungenerkrankung (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$)

Klinische Diagnose	Anzahl der Pferde mit Antikörpertitern der IgG-Klasse bzw. der IgA-Klasse					
	160-320	640	1280	160-320	640	1280-5120
hochgradig	0	3	12	0	6	9
mittelgradig	6	7	8	9	4	8
leichtgradig	2	10	8	6	10	4

¹ Antikörpertiter wurden mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmt.

Tab. 3: Antikörpertiter in Tracheobronchialsekretproben gegen Sporen von *Streptomyces collinus*/diastatochromogus und von *Streptomyces griseus*

Titer	Anzahl der Pferde mit Antikörpertitern gegen <i>Streptomyces collinus</i> /diastatochromogus				Anzahl der Pferde mit Antikörpertitern gegen <i>Streptomyces griseus</i>			
	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²
< 20	6			35	9	1	1	23
20	7			6	10	6	2	10
40	6	2		10	4	12	10	7
80	14	1		4	20	16	6	14
160	2	5	11		15	2	21	1
320	17	7		1		18	1	
640		27	32				15	1
1280	5	9		1		2		
2560		6	15				1	
5120	1		1				1	
nicht bestimmt	4	5	3	5	4	5	4	6

¹ und ² Die Titer wurden entweder mittels direkter¹ oder mittels indirekter² Immunfluoreszenz bestimmt.

Titer gegen *Strep.-collinus*-/diastatochromogus-Sporen. Alle übrigen Titer in den Tracheobronchialsekretproben (vergl. mit Tab. 3) waren nicht mit dem Schweregrad der CLK korreliert.

Antikörpertiter in Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben: Wie Tabelle 6 zeigt, wurden mittels direkter Immunfluoreszenz bestimmte Antikörpertiter der IgG-Klasse sowohl gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus als auch gegen Sporen von *Strep. griseus* in allen Lavage-Proben nachgewiesen. Erstaunlicherweise waren mit indirekter Immunfluoreszenz gemessene IgG-Titer gegen *Strep. collinus*/diastatochromogus in $\frac{2}{3}$ der Proben und gegen *Strep. griseus* nur in $\frac{1}{3}$ der Proben vorhanden. Dieses könnte auf Unterschiede der verwendeten IgG-Antisera in bezug auf ihre Subklassenspezifität zurückzuführen sein. Beim Pferd sind 4 verschiedene IgG-Subklassen bekannt (McGuire et al., 1973). Antikörper der IgA-Klasse waren gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus in jeder Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsprobe und gegen Sporen von *Strep. griseus* in $\frac{2}{3}$ der Proben enthalten. Antikörper der IgM-Klasse waren weder gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus noch gegen Sporen von *Strep. griseus* in den Waschflüssigkeitsproben vorhanden. Wie weiter aus Tabelle 6 hervorgeht, bestand kein

Tab. 4: IgA-Titer¹ und IgG-Titer² in Tracheobronchialsekretproben gegen Sporen von *Streptomyces griseus*: Zusammenhang mit dem Schweregrad der chronischen Lungenerkrankung (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$)

Klinische Diagnose	Anzahl der Pferde mit Antikörpertitern der IgA-Klasse bzw. der IgG-Klasse							
	<20-80	160-300	640-5120	bzw. der	<20-80	20-40	80	160
hochgradig	0	4	7		0	0	8	4
mittelgradig	8	10	3		5	5	5	5
leichtgradig	9	5	5		3	8	4	4

¹ und ² Die Antikörpertiter wurden entweder mittels indirekter¹ oder mittels direkter² Immunfluoreszenz gemessen.

Tab. 5: IgG-Titer in Tracheobronchialsekretproben gegen Sporen von *Streptomyces collinus*/diastatochromogus; Zusammenhang mit dem Schweregrad der chronischen Lungenkrankheit (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$)

Klinische Diagnose	Anzahl der Pferde mit IgG-Titern bestimmt mittels							
	direkter				bzw. indirekter Immunfluoreszenz			
	<20- 20	40	80- 160	320- 5120	40- 320	640	1280- 2560	
hochgradig	0	0	5	7	1	10	1	
mittelgradig	6	1	8	5	7	8	4	
leichtgradig	4	5	2	8	5	6	8	

Anhaltspunkt für einen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der CLK und den Antikörpertitern in den Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben.

Beziehungen zwischen den Antikörpertitern in den Serum- und Tracheobronchialsekretproben: Bei der Analyse der Daten fiel auf, daß die Antikörpertiter in den einzelnen Serum- und Tracheobronchialsekretproben für alle geprüften Ig-Klassen entweder hohe oder niedrige Werte aufwiesen. Deshalb analysierten wir die Beziehungen zwischen den Antikörpertitern der verschiedenen Klassen wie am Beispiel der Tabelle 7 gezeigt. Die IgG-, IgA- und IgM-Antikörpertiter gegen Sporen von *Strep. griseus* waren innerhalb der Serum- und Tracheobronchialsekretproben voneinander abhängig (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,01$). Weiterhin bestand ein Zusammenhang zwischen den Antikörpertitern gegen *Strep. griseus* aus den Serumproben mit denen aus den Tracheobronchialsekretproben ($p < 0,01$). Der Chi-Quadrat-Test ergab auch einen Zusammenhang ($p < 0,01$) zwischen mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmten Antikörpertitern gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus und Titern gleicher Klasse gegen Sporen von *Strep. griseus* sowohl im Serum (IgA- und IgM-Titer) als auch im Tracheobronchialsekret (IgG- und IgM-Titer).

Tab. 6: Antikörpertiter in unkonzentrierten Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben gegen Sporen von *Streptomyces collinus*/diastatochromogus und von *Streptomyces griseus*

Pferd Nr.	Antikörpertiter gegen							
	<i>Streptomyces collinus</i> / diastatochromogus				<i>Streptomyces griseus</i>			
	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²	IgG ¹	IgG ²	IgA ²	IgM ²
3 ³	320	<10	20	<10	640	<10	10	<10
7 ³	640	40	40	<10	40	10	<10	<10
8 ³	640	<10	40	<10	640	<10	10	<10
4 ⁴	80	40	40	<10	80	10	10	<10
5 ⁴	640	10	40	<10	40	<10	10	<10
6 ⁴	40	10	40	<10	160	10	10	<10
1 ⁵	320	40	80	<10	80	<10	<10	<10
2 ⁵	320	40	80	<10	160	<10	10	<10
9 ⁵	640	<10	10	<10	10	<10	<10	<10

¹ und ² Die Titer wurden entweder mittels direkter¹ oder mittels indirekter² Immunfluoreszenz bestimmt.

³ bis ⁵ Die klinischen Diagnosen lauteten: gesund³, mittelgradig⁴ bzw. hochgradig⁵ chronisch lungenkrank.

Tab. 7: Antikörpertiter¹, bestimmt in Tracheobronchialsekretproben; Zusammenhang zwischen IgM- und IgG-Titern gegen *Streptomyces griseus* und zwischen IgG-Titern gegen *Streptomyces griseus* und *Streptomyces collinus*/diastatochromogus (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,01$)

IgG-Titer gegen <i>Strep. griseus</i>	IgM-Titer gegen <i>Strep. griseus</i>			IgG-Titer gegen <i>Strep. collinus</i> /diastatochromogus				
	<20	20-40	80- 640	gegen <i>Strep. griseus</i>	40- 160	320	640	1280- 2560
1280- 160	6	5	11	1280- 320	0	1	16	2
80	3	9	3	160- 80	3	1	8	6
40	11	1	0	40- <20	5	5	2	7
20- <20	4	2	1					

¹ Antikörpertiter wurden mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmt.

Diskussion

Serum-, Tracheobronchialsekret- und Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben von Pferden enthielten Antikörper gegen Oberflächenantigene von *Strep. collinus*/diastatochromogus und von *Strep. griseus*. Dabei bestand keine Beziehung zur Erkrankung der Pferde an CLK. Die Antikörpertiter könnten durch die weite Verbreitung dieser Mikroorganismen in der Stallatmosphäre bedingt sein. *Clarke et al.* (1987) wiesen in der Luft eines schlecht gelüfteten Stalls nach dem Ausmisten so viele Staubpartikel von einer Größe nach, die bis in die kleinen Luftwege und in die Alveolen gelangen können, daß ein Pferd ca. 1 Million Staubpartikel pro Atemzug einatmen würde. Der Staub bestand teilweise aus *Streptomyces*-Sporen. Wir konnten leider keine Vergleichsgruppe aus Pferden, die nie im Stall gehalten wurden, untersuchen, da eine solche Haltungsform in der Schweiz fast nicht vorkommt. Der Kontakt zwischen den *Streptomyces*-Sporen und dem Immunsystem könnte einerseits in der Lunge, andererseits aber auch im Magen-Darm-Trakt durch Aufnahme der Sporen mit der Nahrung stattfinden. Wird das gastrointestinale und das pulmonale Immunsystem stimuliert, könnte das eine verstärkte Immunantwort sowohl lokal an der Schleimhaut des Atem- und Verdauungsapparats als auch systemisch bewirken (*Wallace et al.*, 1989). Antikörper können in den Atemtrakt des Pferdes entweder durch Transsudation aus dem Plasma oder durch lokale Produktion gelangen. Eine Kombination beider Möglichkeiten wäre ebenfalls denkbar. Zumindest ein gewisser Teil der Antikörper könnte im Atemtrakt gebildet worden sein, da die IgA-Antikörpertiter gegen *Strep. collinus*/diastatochromogus in ungefähr der Hälfte der Tracheobronchialsekretproben höher oder gleich hoch waren wie die Seruntiter. In unkonzentrierten Bronchoalveolär-Lavage-Flüssigkeitsproben waren die Antikörpertiter gegen Sporen von *Strep. collinus*/diastatochromogus sowie gegen Sporen von *Strep. griseus* in der IgG-Klasse höher als in der der IgA-Klasse. Dieses Resultat überrascht nicht, da IgA das wichtigste Ig im Nasensekret ist, wohingegen im Bronchial- und Alveolaresekret IgG vorherrscht (*Mair et al.*, 1987).

Die Antikörpertiter der verschiedenen Ig-Klassen gegen die Streptomyces-Sporen waren entweder nicht oder nur sehr schwach mit dem Schweregrad der CLK korreliert. Für diesen Befund sind verschiedene Erklärungen denkbar:

1. Obwohl der Körper eine Immunantwort auf die Oberflächenantigene bildet, entsteht beim Einatmen dieser Sporen nur dann eine klinisch bedeutsame Lungenkrankheit, wenn eine durch andere Faktoren bedingte Schädigung des Lungengewebes vorliegt, die als prädisponierender Faktor wirkt. Die Gewebsschädigung könnte z. B. zu einer erhöhten Permeabilität der Schranke, die aus alveolärem Epithel und kapillärem Endothel besteht, führen und somit die Konzentration von Komplementfaktoren in den Alveolen und Bronchioli erhöhen. Durch Sporen aktivierte Komplementfaktoren können sowohl selber als Entzündungsmediatoren wirken als auch diese freisetzen. Frühere Untersuchungen an Pferden (Schatzmann und Gerber, 1972; Halliwell et al., 1979; Eyre, 1972; McPherson et al., 1979 a und b) und Menschen (Cormier et al., 1984; Solal-Céligny et al., 1982) unterstützen diese Hypothese. So reagierten gesunde Pferde mit positiven Hauttests, wenn ihnen Extrakte verschiedener Pilze und Bakterien aus dem Heustaub injiziert wurde. Auch Seren gesunder Pferde wiesen präzipitierende Antikörper gegen diese mikrobiellen Antigene auf. Außerdem gibt es klinisch gesunde Menschen, die präzipitierende Antikörper gegen thermophile Aktinomyceten im Serum aufweisen. Möglicherweise ist ein gewisser Teil dieser „Gesunden“ subklinisch lungenkrank. Dafür sprechen Untersuchungen, die bei mehr als der Hälfte der präzipitinpositiven, klinisch gesunden Landwirte (Solal-Céligny et al., 1982; Cormier et al., 1984) und bei ca. 50 % der Pferdepopulation in der Schweiz (Bracher et al., 1989) eine subklinische Lungenkrankheit nachwies. Eine Ursache dafür könnte beim Pferd wie beim Menschen (Cormier et al., 1984; Solal-Céligny et al., 1982) die immunologische Auseinandersetzung mit Sporenantigenen sein. Auch das vermehrte Auftreten von „dämpfigen“ Pferden nach Ausbrüchen einer Influenzainfektion (Schatzmann und Gerber, 1972) könnte vielleicht dadurch zustande kommen, daß aufgestallte Pferde hohe Antikörpertiter gegen Sporenantigene haben, die häufig im Heu- und Strohstaub vorkommen.

2. Die Methode zum Nachweis der Antikörper war ungenügend. Das ist ziemlich unwahrscheinlich, da ähnliche Methoden in der Humanmedizin zur Darstellung von Antikörpern gegen thermophile Aktinomyceten (Kurup et al., 1977; Gump et al., 1979) und gegen Pilzmyzelien und -sporen (Kurup und Fink, 1978; Schönheyder et al., 1982; Soda et al., 1986) angewendet wurden. Die mittels Immunfluoreszenz bestimmten Antikörpertiter beim Menschen waren mit den präzipitierenden Antikörpern gegen thermophile Aktinomyceten (Kurup et al., 1977; Gump et al., 1979) bzw. mit den mittels ELISA gemessenen Titern gegen Pilze (Soda et al., 1986) korreliert. Schönheyder et al. (1982) hingegen fanden keine Korrelation zwischen den Titern der präzipitierenden Antikörper und den mittels Immunfluoreszenz bestimmten Titern.

3. Die Sporenoberfläche von Strep. collinus/diastatochromogus und von Strep. griseus hat Antigen determinanten, die mit Antigenen anderer Bakterien identisch sind, und es kommt deshalb zu Kreuzreaktionen. Diese Möglichkeit würde die biologische Relevanz der Antikörper, die unter Punkt 1 beschrieben wurde, nicht verändern. Des Weiteren wäre denkbar, daß sich Immunglobuline unspezifisch an die Streptomyces-Sporenoberfläche binden sowie an Protein A aus der Zellwand von Staphylokokken. Über diese besondere Eigenschaft von Streptomyces-Sporen ist unseres Wissens nichts bekannt.

Auf Grund der mangelnden Beziehung zwischen dem Schweregrad der CLK und den Antikörpertitern ist die Titerbestimmung gegen Sporen von Strep. collinus/diastatochromogus und gegen Sporen von Strep. griseus für die Diagnose und Prognose der CLK nicht geeignet.

Literatur

- Asmundsson, T., Gunnarsson, E., und Johannesson, T. (1983): Haysickness in icelandic horses – Precipitin tests and other studies. *Equine vet. J.* 15, 229–232.
- Bracher, V., Fellenberg, R. von, Winder, N. Christine, Grünig, Gabriele, Hermann, M., und Krähenmann, A. (1989): An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in a random population of swiss horses. *Equine vet. J.* (in press).
- Clarke, A. F., Madelin, T. M., und Allpress, R. G. (1987): The relationship of air hygiene in stables to lower airway disease and pharyngeal lymphoid hyperplasia in two groups of thoroughbred horses. *Equine vet. J.* 19, 524–530.
- Cormier, Y., Bélanger, J., Beaudoin, J., Laviolette, M., Beaudoin, R., und Hébert, J. (1984): Abnormal bronchoalveolar lavage in asymptomatic dairy farmers. Study of lymphocytes. *Am. Rev. Respir. Dis.* 130, 1046–1049.
- Cormier, Y., Bélanger, J., und Durand, P. (1985): Factors influencing the development of serum precipitins to farmer's lung antigen in Quebec dairy farmers. *Thorax* 40, 138–142.
- Essl, A. (Hrsg.) (1987): Statistische Methoden in der Tierproduktion. Eine anwendungsorientierte Einführung. Verlagsunion Agrar, DLG-Verlag, Frankfurt (Main).
- Eyre, P. (1972): Equine pulmonary emphysema – A bronchopulmonary mould allergy. *Vet. Rec.* 91, 134–140.
- Grünig, Gabriele, Hermann, M., Jorisch, Sophie, Schärer, Cornelia, und Fellenberg, R. von (1985): Proteaseaktivität im Tracheobronchialsekret von Pferden mit COPD – Pathophysiologische Bedeutung. *Pferdeheilkunde* 1, 55–63.
- Grünig, Gabriele, Fellenberg, R. von, Maier, R., und Corboz, L. (1986): Elastase-producing microorganisms in horse lungs – Their possible role in the pathogenesis of chronic pulmonary disease in the horse. *Equine vet. J.* 18, 396–400.
- Grünig, Gabriele, Hulliger, C., Hermann, M., Winder, N. Christine, und Fellenberg, R. von (1989): Separation of equine bronchopulmonary lavage cells by density gradient centrifugation and expression of procoagulant activity (PCA) in unpurified cells and in cell subpopulations. *Res. Vet. Science* (in press).
- Gump, D. W., Babott, F. L., Holly, C., und Sylwester, D. L. (1979): Farmer's lung disease in Vermont. *Respiration* 37, 52–60.
- Halliwell, K. E. W., Fleischman, J. B., Mackay-Smith, M., Beech, J., und Gunson, D. E. (1979): The role of allergy in chronic pulmonary disease of horses. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 174, 277–281.
- Hirsch, C. F., und Ensign, J. C. (1976): Nutritionally defiened conditions for germination of Streptomyces viridochromogenes Spores. *J. Bacteriol.* 126, 13–23.
- Hudson, L., und Hay, R. C. (1980): Isolation and structure of immunoglobulins. Ion exchange chromatography. In Hudson, L., und Hay, R. C. (Hrsg.): *Practical Immunology* (2. Aufl.), Blackwell Scientific Publications, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, 169–177.

- Kurup, V. P., Barboriak, J. J., und Fink, J. N. (1977): Indirect immunofluorescent detection of antibodies against thermophilic actinomycetes in patients with hypersensitivity pneumonitis. *J. Lab. Clin. Med.* 89, 533-539.
- Kurup, V., und Fink, J. (1978): Evaluation of methods to detect antibodies against *Aspergillus fumigatus*. *J. Clin. Pathol.* 69, 414-417.
- Kurup, V. P., Mäntyjärvi, R. A., Terho, E. O., Ojanen, T. H., und Kalbfleisch, J. H. (1987): Circulating IgG antibodies against fungal and actinomycete antigens in the sera of farmer's lung patients from different countries. *Mycopathol.* 98, 91-99.
- Lawson, G. H. K., McPherson, E. A., Murphy, J. R., Nicholson, J. M., Wooding, P., Breeze, R. G., und Pirie, H. M. (1979): The presence of precipitating antibodies in the sera of horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Equine vet. J.* 11, 172-176.
- Lowell, F. C. (1964): Observation on heaves. An asthma-like syndrome in the horse. *J. Allergy* 35, 322-330.
- Mair, T. S., Stokes, C. R., und Bourne, F. J. (1987): Quantification of immunoglobulins in respiratory tract secretions of the horse. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 14, 197-203.
- Marx, J. J., Motzko, C., und Roberts, R. C. (1980): Antibody-independent complement consumption by *Micropolyspora faeni*. *Int. Archs. Allergy Appl. Immunol.* 62, 133-141.
- McGuire, T. C., Crawford, T. B., und Henson, J. B. (1973): The isolation, characterisation and functional properties of equine immunoglobulin classes and subclasses. *Proc. 3rd Int. Conf. Equine Infect. Dis., Paris 1972*, 364-391, Karger, Basel.
- McPherson, E. A., Lawson, G. H. K., Murphy, J. R., Nicholson, J. M., Breeze, R. G., und Pirie, H. M. (1979a): Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) - Factors influencing the occurrence. *Equine vet. J.* 11, 167-171.
- McPherson, E. A., Lawson, G. H. K., Murphy, J. R., Nicholson, J. M., Breeze, R. G., und Pirie, H. M. (1979b): Chronik obstructive pulmonary disease (COPD) in horses - Aetiological studies - Responses to intradermal and inhalation antigenic challenge. *Equine vet. J.* 11, 159-166.
- Pauli, B., Gerber, H., und Schatzmann, U. (1972): Farmer's lung beim Pferd. *Path. Microbiol.* 38, 200-214.
- Roberts, R. C., Nelles, L. P., Treubhaft, M. W., und Marx, J. J. (1983): Isolation and possible relevance of *Thermoactinomyces candidus* proteinaes in farmer's lung disease. *Infect. Immunol.* 40, 553-562.
- Schällibaum, M., Hess, M. W., Nicolet, J., und König, H. (1977): Histopathological and immunohistological changes in the rabbit lung after experimental exposure to a purified enzyme of *Micropolyspora faeni*. *Clin. exp. Immunol.* 28, 535-541.
- Schatzmann, U., und Gerber, H. (1972): Untersuchungen zur Aetiologie chronischer Lungenkrankheiten des Pferdes. *Zbl. Vet. Med. A* 19, 89-101.
- Schenheyder, H., Andersen, P., und Stenderup, A. (1982): Serum antibodies to *Aspergillus fumigatus* in patients with pulmonary aspergillosis detected by immunofluorescence. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. B* 90, 273-279.
- Soda, K., Ando, M., Shimazu, K., Sakata, T., Yoshida, K., und Araki, S. (1986): Different classes of antibody activities to trichosporon cutaneum antigen in summer-type hypersensitivity pneumonitis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. Rev. Respir. Dis.* 133, 83-87.
- Solal-Céligny, P., Lavolette, M., Hébert, J., und Cormier, Y. (1982): Immune reactions in the lungs of asymptomatic dairy farmers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 126, 964-967.
- Viel, L. (1986): Structural-functional correlations of the lung in horses with small airway disease. In Deegen, E., und Beadle, R. E. (Hrsg.): Lung function and respiratory diseases in the horse. Intern. Symp. Hannover, 27. bis 29. Juni 1985. Calw, Hippatrika Verlagsgesellschaft, 41-45.
- Wallace, F. J., Clancy, R. L., und Cripps, A. W. (1989): An animal model demonstration of enhanced clearance of nontypable *Haemophilus influenzae* from the respiratory tract after antigen stimulation of gut-associated lymphoid tissue. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140, 311-316.
- Winder, N. Christine, und Fellenberg, R. von (1986): Immunofluorescent evaluation of the lower respiratory tract of healthy horses and of horses with chronic bronchiolitis. *Am. J. Vet. Res.* 47, 1271-1274.

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds, Projekt Nr. 3.872-0.86, unterstützt.

Die Autoren danken Herrn H. R. Zweifel für die Herstellung des Antiserums gegen Pferde-IgG, dem Institut für Veterinär-Bakteriologie (Direktor: Prof. Dr. med. vet. H. U. Bertschinger), Universität Zürich, für die Unterstützung der bakteriologischen Arbeiten, Frau A. Hug für die Hilfe bei der Photographie und Herrn Dr. med. vet. S. Wolfram für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Dr. med. vet. Gabriele Grünig
Vet.-Phys. Inst.
Winterthurerstr. 260
CH-8057 Zürich

Kurzreferat

Der Einfluß von Bewegung auf die Heilung von Defekten des Gelenkknorpels am Karpus von Pferden

(The effect of exercise on the healing of articular cartilage defects in the equine carpus)

D. A. French, S. M. Barber, D. H. Leach
und C. E. Doige (1989)

Vet. Surgery, 18, 312-321

Bei 12 Pferden wurden während einer Arthroskopie distal am Os carpi radiale und gegenüberliegend am Os carpalae tertium 7 × 14 mm² große, bis auf die subchondrale Kno-

chenplatte reichende Knorpeldefekte gesetzt. 6 der Pferde verbrachten die postoperative Phase in einem kleinen Paddock, die anderen 6 wurden einem leichten, sich über 13 Wochen steigenden Bewegungsprogramm unterzogen.

Nach 6 Wochen wurden die Knorpeldefekte arthroskopisch kontrolliert, bei allen waren Anzeichen der Heilung festzustellen. In der 13. Woche wurden die Pferde euthanasiert. Der Heilungsprozeß war bei allen weiter fortgeschritten.

Bei den Pferden mit Bewegung war das gebildete Reparationsgewebe signifikant dicker, jedoch war kein Unterschied in der Qualität erkennbar. Histologisch bestand das Reparationsgewebe aus fibrösem Bindegewebe und Faserknorpel. Aus diesen Ergebnissen schlossen die Autoren, daß Knorpelläsionen am Os carpi radiale und Os carpalae tertium die gleiche Heilungstendenz haben und daß früh postoperativ begonnene Bewegung keinen schädigenden Einfluß auf die Heilung von Knorpeldefekten im Karpalgelenk hat.

Edith Robs