

Invasive Pneumomykose beim Pferd. Ein Beitrag zur Pathologie und serologischen Diagnostik

H. Weiler¹, F. Zapf² und P. H. Hummel³

¹ Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin

² Institut für Veterinär-Parasitologie der Freien Universität Berlin

³ Landesuntersuchungsinstitut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen, Berlin

Einleitung

Unter dem Begriff Mykosen (Virchow 1856) versteht man heute allgemein sämtliche durch echte Pilze hervorgerufene Erkrankungen.

Aufgrund der permanenten Exposition gegenüber einer stark durch Pilzsporen belasteten Stallluft (Clark 1987) gilt der Respirationstrakt des Pferdes als einer der potentiellen Hauptmanifestationsorte von Pilzinfektionen (Sedlmeier und Schiefer 1971). Dennoch sind Berichte über mykotische Erkrankungen der Atemwege beim Pferd verhältnismäßig selten (Schiefer 1967, Siepelmeyer 1982).

Dies erklärt sich aus dem hohen Niveau der phylogenetisch entwickelten Abwehrmechanismen, die bei einem gesunden Organismus die weitgehend symptomlose Unschädlichmachung aerogen aber auch enterogen oder kutan aufgenommener vermehrungsfähiger Einheiten von Pilzen (Sporen) garantieren (Emmons et al. 1977). So bedürfen dann auch die in unseren klimatischen Breiten bedeutsamen mykotische Erkrankungen, die nahezu ausschließlich durch fakultativ-pathogene Pilze verursacht werden, immer prädisponierender Faktoren als Wegbereiter. Zu diesen zählen neben schweren Grundkrankheiten, wie z.B. Leukosen, aplastischen Anämien oder Parasitosen auch Störungen des Makroorganismus durch therapeutische Eingriffe in Form einer hochdosierten Applikation von Antibiotika oder einer längeren Verabreichung von Immunsuppressiva (Cortikosteroide) (Ainsworth 1954, Gedek 1980, Tomsikova und Novackova 1980, Jones und Hunt 1983).

Insbesondere die Immunsuppression scheint dabei die Entwicklung einer invasiv-disseminierenden Systemmykose zu begünstigen. Mit der vorliegenden Arbeit wird nun über einen derartigen Krankheitsverlauf beim Pferd berichtet, bei dem erstmals neben pathologisch-anatomischen und -histologischen sowie mikrobiologischen und mykologischen Befunden auch Ergebnisse einer serologischen Verlaufuntersuchung vorgestellt werden können.

Zusammenfassung

Ein 3-jähriges männliches Kleinpferd von 100 kg Gewicht wurde mit dem Ziel einer experimentellen Infektion mit *Babesia equi* im Institut für Veterinär-Parasitologie der Freien Universität Berlin eingestellt. Hierzu wurde zunächst eine iatrogene Immunsuppression durch intramuskuläre Applikation von 0,07 mg/kg/Tag Dexamethason-21-Isonicotinat über einen Zeitraum von 16 Tagen herbeigeführt. Die experimentelle Babesieninfektion wurde drei Tage nach Beginn der Corticosteroidgabe durch intravenöse Applikation eines Blutstabilisats induziert. Nach einer Präpatenz von 12 Tagen bildete sich 14 Tage p.i. eine erste ausgeprägte Parasitämie-Phase mit bis zu 10% mit Babesien befallenen Erythrozyten aus. Klinisch zeigte das Pferd zu diesem Zeitpunkt einen Anstieg der Körpertemperatur auf 41 °C, einen Abfall des Hämatokritwertes auf 17 Vol. Prozent, eine erhöhte Herz- (100/Min.) und Atemfrequenz (80/Min.) sowie blaß-gelbe Schleimhäute. Zur Begrenzung der Parasitämie wurde 14 Tage nach der Infektion eine Oxytetracyclinhydrochlorid-Therapie (3 mg/kg/Tag) über 4 Tage durchgeführt. Daraufhin nahm die Konzentration der Blutparasiten auf unter 1% mit Babesien befallenen Erythrozyten ab. Durch eine erneute Dexamethason-Gabe, 8 Tage nach Ende der ersten Corticosteroid-Gabe, in der oben angegebenen Dosierung, über 5 Tage, konnte 27 Tage p.i. eine zweite Parasitämie-Phase mit bis zu 7% mit Babesien befallenen Erythrozyten induziert werden, die mit einer vergleichbaren klinischen Symptomatik einherging, wie oben bereits beschrieben. Neun Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroid-Gabe entwickelte das Pferd eine plötzliche Somnolenz bei gleichzeitigem Auftreten eines intermittierenden Tremors und weitgehender Inappetenz. Achtundvierzig Stunden später mußte das Tier, nunmehr festliegend, in Agonie getötet werden. Im Rahmen der Sektion wurde eine ausgeprägte invasive Lungenaspergillose festgestellt mit Metastasierung in Lymphknoten, Nieren und Gehirn, wobei *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* und *A. niger* kulturell isoliert wurden. Durch eine daraufhin rückblickend durchgeführte Untersuchung von Blutproben, die über den gesamten Zeitraum des Experiments gesammelt worden waren, konnte serologisch sowohl das Auftreten von präzipitierenden Antikörpern gegen *Aspergillus fumigatus* als auch von Galactomannanantigen nachgewiesen werden. Aufgrund der mykoserologischen Befunde mußte der Gefäßeinbruch und damit die systemische Antigenausbreitung zwischen dem 22. und 24. Tag p.i., 4 Tage nach Beginn der 2. Corticosteroidgabe zum Zeitpunkt der 2. Parasitämie-Phase erfolgt sein. Die vorliegende Arbeit ist der erste Bericht einer invasiven Aspergillose unter bekannten experimentellen Bedingungen nach einer definierten iatrogenen Immunsuppression beim Pferd. Es werden pathophysiologische, pathogenetische und diagnostische Aspekte der invasiven Aspergillose diskutiert und die Frage gestellt ob bei rechtzeitigem Bekanntwerden derartiger serologischer Befunde und unter Einsatz einer antimykotischen Therapie, ähnlich wie in der Humanmedizin, derartige invasive Aspergillosen auch beim Pferd beherrschbar sind.

Schlüsselwörter: *Aspergillus*, Lunge, *Babesia equi*, Immunsuppression, Pferd

Invasive Pneumomycosis in horse. A Contribution to Pathology and Serological Diagnostic

A 3-year old male smallbred horse of 100 kg weight was stabled in the Institut für Veterinär-Parasitologie der Freien Universität Berlin for experimental infection with *Babesia equi*. For this first of all a iatrogenic immunosuppression was induced by application of 0,07 mg/kg/day Dexamethason-21-Isonicotinat for a period of 16 days. Experimental infection with *Babesia equi*

Fallbeschreibung

Anamnese

Ein 3-jähriges männliches Kleinpferd von 100 kg Gewicht wurde mit dem Ziel einer experimentellen Infektion mit *Babesia equi* im Institut für Veterinär-Parasitologie der Freien Universität Berlin eingestellt (TVV-Nr.: L13).

Im Rahmen der Einstellungsuntersuchung fiel bei der Auskultation zunächst ein verschärftes Atemgeräusch auf. Weiterhin zeigte das Pferd einseitigen seromukösen Nasenausfluß. Die Körpertemperatur betrug 37,2 °C, die Herzfrequenz war 40 pro min., die Atemfrequenz 24 pro min und der Hämatokritwert betrug 31 Vol.-Prozent. Die hämatologische Untersuchung ergab als einzige Auffälligkeit eine Leukozytose ($11,8 \times 10^9$ Zellen/l).

Aufgrund des sich aus diesen Befunden ergebenden Verdachtes auf Vorliegen einer Atemwegsinfektion wurde das Tier zunächst mit Penicillin/Streptomycin (4.000.000 IE- bzw. 4,0 g/Tier/Tag), über vier Tage antibiotisch vorbehandelt, woraufhin der Nasenausfluß abgeklungen war und das Blutbild Normwerte erreicht hatte, so daß mit der experimentellen *Babesia equi*-Infektion des Pferdes begonnen werden konnte.

Zur Induzierung einer ausreichenden Parasitenanzahl im Blut wurde zunächst versucht, eine iatrogene Immunsuppression durch intramuskuläre Applikation von 0,07 mg/kg/Tag Dexamethason-21-Isonicotinat über einen Zeitraum von sechzehn Tagen herbeizuführen. Die experimentelle *Babesia equi*-Infektion wurde drei Tage nach Beginn der Corticosteroidgabe durch intravenöse Applikation eines Blutstabilisats induziert. Nach einer Präpatenz von zwölf Tagen bildete sich vierzehn Tage p.i. eine erste ausgeprägte Parasitämie-Phase mit bis zu 10%igem Babesienbefall pro ml Blut aus. Klinisch zeigte das Pferd zu diesem Zeitpunkt einen Anstieg der Körpertemperatur auf 41,0 °C, einen Abfall des Hämatokritwertes auf 17 Vol.-Prozent, eine erhöhte Herz- (100/Min.) und Atemfrequenz (80/Min.) sowie blaß-gelbe Schleimhäute. Zur Begrenzung der Parasitämie wurde vierzehn Tage nach der Infektion eine Oxytetracyclinhydrochlorid-Therapie (3 mg/kg/Tag) über vier Tage durchgeführt. Daraufhin nahm 18 Tage p.i. die Konzentration der Blutparasiten auf 3% mit Babesien befallene Erythrozyten ab, die Körpertemperatur erreichte Normalwerte und die klinisch-chemischen Befunde verbesserten sich zunehmend.

Durch eine erneute Dexamethason-Gabe über fünf Tage mit Beginn am 20.Tag p.i., also acht Tage nach Ende der ersten Corticosteroid-Gabe, in der oben angegebenen Dosierung konnte 27 Tage p.i. eine zweite Parasitämie-Phase mit bis zu 7% mit Babesien befallenen Erythrozyten induziert werden. Diese erneute Parasitenvermehrung im Blut ging ebenfalls mit Fieber (41,0 °C), einem Abfall des Hämatokritwertes auf 11 Vol.-Prozent, dem Anstieg von Herz- (103/Min.) und Atemfrequenz (64/Min.) sowie einem deutlich verschärften Atemgeräusch einher. Die Ergebnisse der klinischen sowie hämatologischen Untersuchungen sind in den Tabellen 1 und 2 dargestellt.

was induziert durch intravenöse Applikation eines Blutstabilisats drei Tage nach Beginn der Corticosteroidapplikation. Nach einer präpatenzperiode von 12 Tagen entwickelte sich ein erstes parasitösem Peak am Tag 14 p.i. mit 10% Erythrozyten, die mit *Babesia* infiziert waren. Zu diesem Zeitpunkt zeigte das Pferd blassgelbe Schleimhäute, eine Körpertemperatur von 41 °C, eine Abnahme des Hämatokritwertes auf 17 Vol.-Prozent und eine Erhöhung der Herz- (100/min) und Atemfrequenz (80/min). Um die Parasitämie zu begrenzen, wurde Oxytetracyclinhydrochlorid (3 mg/kg/Tag) über einen Zeitraum von 4 Tagen ab Tag 14 p.i. verabreicht. Hierunter sank die Konzentration der Blutparasiten auf 1% Erythrozyten, die mit *Babesia* infiziert waren. Eine zweite Applikation von Dexamethason (gleiche Dosis) über einen Zeitraum von 5 Tagen ab Tag 8 nach Ende der ersten Corticosteroidapplikation führte zu einem zweiten parasitösem Peak am Tag 27 p.i. mit ähnlichen klinisch-pathologischen Befunden wie oben beschrieben. Neun Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroidapplikation zeigte das Pferd plötzlich Somnolenz, intermittierende Zitterbewegungen und Inappetenz. 48 Stunden später wurde das Pferd in Agonie getötet. Die Sektion ergab eine ausgeprägte invasive pulmonäre Aspergillose, die sich in Lymphknoten, Nieren und Gehirn mit *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* und *A. niger* manifestierte, wobei letztere durch mykologische Methoden nachgewiesen wurden. Die Bildung von Antikörpern gegen *A. fumigatus* und Galactomannan-Antigen konnte durch eine retrospektive serologische Untersuchung von Serumproben, die während des Experimentes entnommen wurden, bestätigt werden.

Es wird vermutet, dass die invasive Aspergillose zwischen Tag 22 und 24 p.i., also vier Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroidtherapie, auftrat. Die vorliegende Arbeit ist der erste Bericht über eine invasive Aspergillose unter definierten experimentellen Bedingungen bei einer immunsupprimierten Pferd. Die Arbeit diskutiert pathophysiologische, pathogenetische und diagnostische Aspekte der invasiven Aspergillose und stellt die Frage nach dem Wert von rechtzeitigem Einsatz von Fungiziden, die dem menschlichen Medizin entsprechen, um eine erfolgreiche Behandlung der invasiven Aspergillose zu ermöglichen.

Key words: *Aspergillus*, lung, *Babesia equi*, immunosuppression, horse

Darüber hinaus fielen bei der Auskultation des Herzens Tachyarrhythmien auf. Neun Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroid-Gabe entwickelte das Pferd eine plötzliche Somnolenz bei gleichzeitigem Auftreten eines intermittierenden Tremors und weitgehender Inappetenz. Achtundvierzig Stunden später mußte das Tier, nunmehr festliegend, in Agonie getötet werden und kam unmittelbar anschließend zur Sektion.

Sektionsbefunde

Die Lunge zeigte oberflächlich (Abb. 1) wie auch auf der Schnittfläche (Abb. 2) in gleichförmiger Verteilung über alle Lungenlappen hell-beige bis grau-gelbe, knotige, an Granulome erinnernde Parenchymbezirke von miliarer

Tab 1: Ergebnisse der klinischen Untersuchungen.
Results of clinical examination.

Tage (p.i.)	Parasitämie (%)	Körpertemperatur (°C)	Atemfrequenz (/min)	Herzfrequenz (/min)
(-3) - 12	Dexaamethason-21-isonicotinat (7 mg/Tier/Tag), i.m.			
0	0	37,2	24	40
14	10	41,0	80	100
14-17	Oxytetracyclin (300 mg/Tier/Tag), i.v.			
20	< 1%	37,8	40	60
20-24	Dexamethason-21-isonicotinat (7 mg/Tier/Tag), i.m.			
27	7	40,2	64	103
31	Exitus			

Tab 2: Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen.
Results of myco-serological examinations.

Tage (p.i.)	Hb. (g/l)	Ery. ($\times 10^{12}/l$)	Hkt. (Vol. %)	Thromb ($\times 10^9/l$)	Leuko. ($\times 10^9/l$)	Lymph. (%)	Seg. (%)	Stab. (%)	Mono. (%)	Eos. (%)
0	12,9	7,68	31	243	8,3	37	59	0	4	0
14	7,7	4,08	17	237	13,1	14	58	26	2	0
20	7,8	4,23	18	134	17,3	30	50	16	4	0
27	4,1	2,45	11	242	11,2	15	59	25	1	0

Größe bis zu etwa 1 cm Durchmesser, die durch einen unterschiedlich breiten dunkelroten Randsaum begrenzt wurden.

Histologisch bestanden diese Bezirke aus Alveolen und Bronchiolen, die vor allem im Zentrum des Fokus mit

karyorrhektischen und karyopyknotischen Zellelementen, vermengt mit unterschiedlich starken Fibrinausfällungen sowie gelegentlich Erythrozytenbeimengungen, angefüllt waren. Stellenweise wurden Gefäßwandarrrosionen deutlich. Zur Peripherie hin war das Umgebungsgewebe stellen-

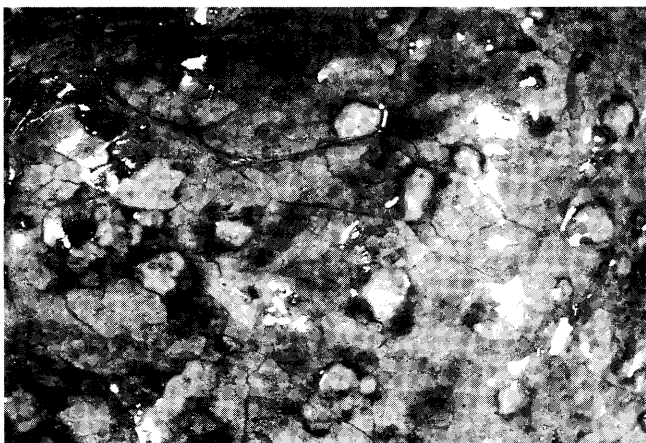


Abb. 1: Lungenaspergillose: Disseminierte aufgehellte Bezirke mit hyperämischen Randsaum.

Pulmonary aspergillosis: Disseminated lightened up areas with hyperemic border.

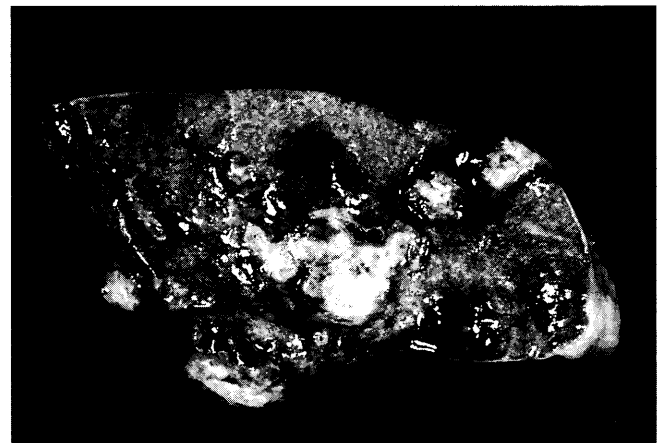


Abb. 2: Lungenaspergillose (Querschnitt): Multiple unterschiedlich große granulomatöse Bezirke infolge mykotischen Wachstums.

Pulmonary aspergillosis (cross-section): Multiple granulomatous areas induced by fungal growth.

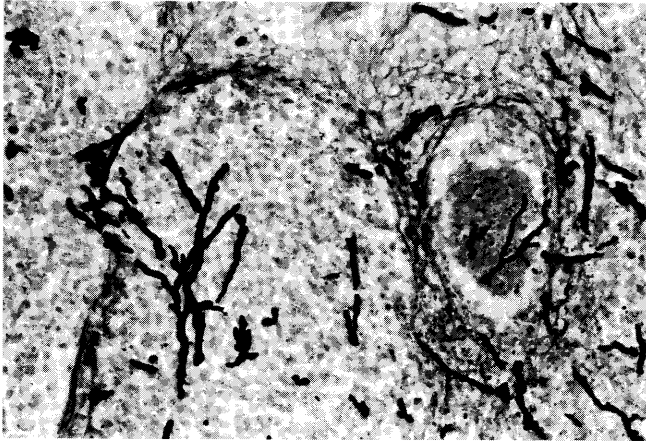


Abb. 3: Lungenaspergillose (Grocott-Färbung): Knorrige, dichotome, invasiv wachsende Myzelien (Obj. x 25).

Pulmonary aspergillosis (grocott-staining): Gnarled, dichotomous invasive growing myceliae (obj. x 25).

weise geringgradig komprimiert und intakte neutrophile Granulozyten sowie Plasmazellen, Lymphozyten und Makrophagen, letztere vor allem auch in Form mehrkerniger Riesenzellen, fielen auf. Dabei zeigten sich sowohl Riesenzellen vom Fremdkörpertyp als auch solche vom Langhansschen Typ.

Perifokal lag darüber hinaus eine deutliche Kapillarblutfülle in den Alveolarsepten sowie ein alveoläres Ödem und eine Hämosiderose vor.

Pilzwachstum war in den angesprochenen Parenchymabschnitten in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung nur sehr schwer und auch nur vereinzelt in Form von frühen Myzelstadien erkennbar. Die Grocott-Färbung zeigte dagegen deutlich junge Myzelien, die zum Teil gleichförmig über die gesamten makroskopisch auffälligen Lungenbezirke verteilt waren, zum Teil aber auch schwerpunktmäßig in der



Abb. 4: Gehirn (Massa intermedia/Fornix): Petechien, Ekchymosen und Nekrosen nach metastatischer Ausbreitung von *Aspergillus* spp..

Brain (massa intermedia/fornix): Petechiae, ecchymoses and necroses after metastatic dissemination of *aspergillus* spp..

Peripherie der granulomatös erscheinenden Herde lagen. Vereinzelt wurden Gefäßeinbrüche von Myzelien deutlich (Abb. 3).

Die Trachea zeigte lediglich sehr vereinzelte Petechien.

Die Nieren fielen bereits makroskopisch durch multiple grau-weiße unregelmäßig begrenzte und auf der Schnittfläche rau erscheinende Parenchymabschnitte auf, die den Veränderungen der Lunge ähnelten. Histologisch fanden sich dann auch vergleichbare mit karyorrhektischen und karyopyknotischen Zellelementen angefüllte Herde, in denen mit der Grocott-Färbung deutliches gleichmäßiges Pilzwachstum nachgewiesen werden konnte. Myzelien zeigten sich sowohl intravaskulär als auch intratubulär. In zahlreichen Gefäßen fanden sich Thromben, viele Tubuli wiesen eine herdförmige Kalzinose auf.

Darüber hinaus wies die linke Niere einen trapezförmigen akuten Infarkt mit hyperämischen Randsaum auf. Der Infarkt erstreckte sich auf Rinde und Mark. Weitere kleine akute Rindeninfarkte lagen in beiden Nieren vor. Die Infarkte waren durch gleichmäßiges Wachstum junger Myzelien gekennzeichnet, wie in der Grocott-Färbung deutlich wurde.

Die Lymphonodi mediastinalis medii fielen histologisch durch eine deutliche Sinuszellhyperplasie sowie zahlreiche mehrkernige Riesenzellen sowohl vom Fremdkörper- als auch vom Langhanstyp auf. Ähnlich wie bei der Lunge, wurden auch hier erst in der Grocott-Färbung einzelne junge Myzelien deutlich, die sinusoidal und perisinusoidal angesiedelt waren.

Das Myokard zeigte makroskopisch multiple Schwielen, darüber hinaus bestanden histologisch zahlreiche akute segmentale Fasernekrosen. Pilzwachstum war auch in der Grocott-Färbung in den entnommenen Gewebeproben nicht erkennbar.

Der Magen-Darm-Trakt war im mittleren Jejunum auf etwa 50 cm Länge durch eine kräftige Rötung und einen rotbraunen dünnflüssigen Darminhalt auffällig. Histologisch wies die Mukosa in diesem Abschnitt eine gemischtzellige Entzündungszellinfiltration auf.

Die Lymphonodi jejunalis zeigten eine auffällige Ödematisierung der Rand- und Intermediärsinus, wobei mehrkernige Riesenzellen vom Fremdkörper- als auch vom Langhanstyp in großer Zahl sinusoidal wie auch perisinusoidal auftraten. Eine Myzelbildung war allerdings auch in der Grocott-Färbung nicht erkennbar.

In der Leber bestanden eine deutliche Hämosiderose, multifokale miliare akute Parenchymnekrosen sowie geringgradige periportale Rundzellinfiltrate. Pilzwachstum war morphologisch nicht nachweisbar.

Die Milz zeigte histologisch bis auf eine deutliche Hämosiderose und eine geringgradige Hyperämie keine Auffälligkeiten.

Das Knochenmark zeigte eine deutliche Aktivierung der myeloischen Zellreihe. Pilzwachstum ließ sich auch mit der Grocott-Färbung nicht nachweisen.

Das Pankreas zeigte ein leichtes interstitielles Ödem, das Zytoplasma der exokrinen Zellen war geringgradig aufgelockert und gelegentlich leicht vakuolisiert.

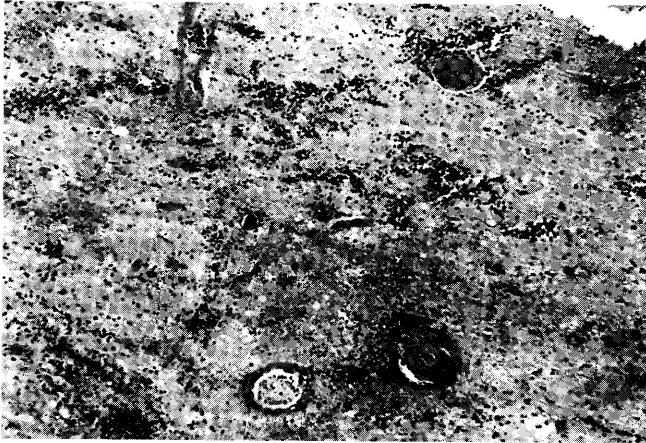


Abb. 5: Gehirn (Massa intermedia/Fornix): Haemorrhagien, Gefäßthromben und Entzündungszellinfiltrate nach invasiv destruierendem Wachstum von *Aspergillus* spp. (Färbung: Hämatoxylin und Eosin, Obj. x 2,5).

Brain (Massa intermedia/Fornix): Hemorrhages, vascular thrombosis and inflammatory reaction in response to invasive destructive growth of *aspergillus* spp. Hematoxylin eosin-staining, obj. x 2,5).

Im Rahmen der Untersuchung des Gehirns fielen zunächst bei der Entnahme ein allgemeines Ödem sowie ein mittelgradiger Hydrocephalus internus mit erweiterten Ventrikeln auf. Darüber hinaus imponierten auf einem Medianchnitt durch das Gehirn multiple Petechien sowie kleine Ekchymosen in Verbindung einer schmutzig grau-beigen Verfärbung im dorsalen Abschnitt der Massa intermedia und dem korrespondierenden angrenzenden Abschnitt der Fornix (Abb. 4). Histologisch fanden sich in diesem Gebiet neben zahlreichen Blutungs- und Malazieherden sowie Entzündungszellinfiltraten mit herdförmigen karyopyknischen und karyorrhektischen Zellbildern multiple Gefäßthromben im Verlauf der Arteria cerebri caudalis bzw. von ihr abzweigender Äste (Abb. 5). In den Thromben, transva-

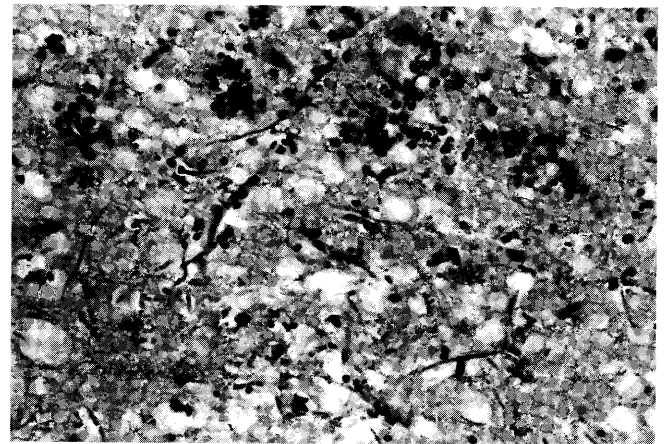


Abb. 6: Ausschnittvergrößerung aus Abb.5: Neben reaktiven Entzündungszellinfiltraten finden sich zahlreiche feine fädige junge Myzelien von *Aspergillus* spp..

Selective enlargement of fig.5: Multiple fine filamentous young myceliae can be seen beside reactive infiltrates of inflammatory cells.

sal sowie perivaskulär bestand ein ausgedehntes Wachstum knorriger Myzelien, die hier, im Gegensatz zur Lunge, bereits in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung deutlich wurden (Abb. 6). Die Gefäßwände waren vielfach zerstört.

Im Rahmen der mykologischen Untersuchung der Lunge zeigten sich bereits im Nativpräparat massenhaft knorrige, septierte Myzelien, wie sie von *Aspergillus*-Arten gebildet werden können.

Kulturell wurden aus der Lunge massenhaft *Aspergillus fumigatus* *Aspergillus flavus* und *Aspergillus niger* (*Raper* und *Fennell* 1973) angezüchtet.

Die Ergebnisse der mykoserologische Untersuchung sind in Tabelle 3 dargestellt. Präzipitierende Antikörper gegen *Aspergillus flavus* und *Aspergillus niger* konnten in keiner Serumprobe nachgewiesen werden.

Tab. 3: Ergebnisse der mykoserologischen Untersuchungen:

Serumproben Tage (p.i.)	Nachweis präzipitierender AK gegen <i>Aspergillus fumigatus</i> (Immudiffusionstest)	Nachweis von <i>Aspergillus</i> Galaktomannan-Antigen
(-1)	negativ	negativ
4	negativ	negativ
8	negativ	negativ
10	negativ	negativ
14	negativ	negativ
22	negativ	negativ
24	negativ	negativ
29	positiv	positiv
31	positiv	positiv

Im Rahmen der mikrobiologischen Untersuchung wurde aus der Lunge neben *Aspergillus* spp. in ebenfalls sehr starker Anzahl *Streptococcus zooepidemicus* isoliert.

Diskussion

Pilze sind ein ubiquitärer Bestandteil der Natur, deren Aufgabe darin besteht, biologisch inaktives Material abzubauen, d.h. zu kompostieren, um es so einer Wiederverwertung zuzuführen. Für die Mehrzahl aller Pilze, auch für die pathogenen Pilzarten unserer Haustiere, stellt der Boden den natürlichen Standort dar (*Gedek* 1967). Von hier aus können Pilzsporen durch direkten Kontakt auf die Körperoberfläche bzw. durch Einatmung in das Körperinnere gelangen. Aufgrund der permanenten Exposition gegenüber einer stark durch Pilzsporen belasteten Stallluft (*Clark* 1987) gilt der Respirationstrakt des Pferdes als einer der potentiellen Hauptmanifestationsorte von Pilzinfektionen (*Sedlmeier* und *Schiefer* 1971) und zugleich als eine Haupteintrittspforte im Hinblick auf die Entstehung von Systemmykosen. Gemessen an dem somit gegebenen hohen Infektionsdruck (über 90% der lichtmikroskopisch sichtbaren Partikel in Luftproben aus Stallungen sind Pilzsporen oder Actinomyceten (*Clark* 1987)) ist die Zahl der Pilzinfektionen insbesondere des Respirationstraktes des Pferdes jedoch außerordentlich gering, obwohl die infektiösen Partikel alveolargängig sind. Dies erklärt sich aus dem hohen Niveau der phylogenetisch entwickelten Abwehrmechanismen, die bei einem gesunden Organismus die weitgehend symptomlose Unschädlichmachung von Pilzsporen garantieren (Ausnahme: außereuropäisch vorkommende Systemmykosen wie Kokkzidioidomykose, Histoplasmose, Nord- und Südamerikanische Blastomykose) (*Emmons* et al. 1977) sowie ständige Inhalation großer Konidienmengen (*Lestschenko* und *Scheklakow* 1968, *Staib* et al. 1979)). So bedürfen denn auch nach gegenwärtiger Ansicht die im mitteleuropäischen Raum bedeutsamen Mykosen, die nahezu ausschließlich durch fakultativ-pathogene Pilze verursacht werden, immer einer Primärkrankheit, unabhängig davon, ob ein lokal begrenztes Pilzwachstum im Sinne eines Aspergilloms in einer vorgebildeten Kaverne besteht oder vielmehr ein invasiv-disseminierendes Wachstum wie bei einer Immunsuppression vorliegt.

Dabei können neben schweren Grundkrankheiten auch die Herabsetzung der Resistenz durch chemische und physikalische Einflüsse, Avitaminosen und Parasitosen, Gewebsverletzungen und Nekrosen sowie Störungen des Makroorganismus durch therapeutische Eingriffe zur Auslösung der Schädigung führen. (*Ainsworth* 1954, *Gedek* 1980, *Jones* und *Hunt* 1983).

Diese Schädigung beginnt mit der Ansiedlung der *Aspergillus*-Spore(n) auf biologisch inaktivem verwertbarem Material, wie es z.B. bei viralen bzw. bakteriellen Infektionen auftreten kann, da sich die Spore nur auf eben diesem Detritus, d.h. in diesem Mikromilieu einer Opsonierung und Phagozytose entziehen und zu einem zunächst primitiven Myzel entwickeln kann. Wenn auch im vorlie-

genden Fall weder bei der makroskopischen noch bei der histopathologischen Untersuchung eine Prädilektionsstelle als primärer Manifestationsort der Mykose gefunden wurde, was aufgrund der schwerwiegenden Lungenveränderungen auch nicht weiter verwundert, so könnte jedoch zumindest der mikrobiologische Nachweis von Streptokokken der Serogruppe C im Lungengewebe einen Hinweis darauf geben, daß eine bakterielle Atemwegsaffektion als einer der verschiedenen Wegbereiter bestanden hat, da diese Bakterien nicht zur physiologischen Schleimhautflora der Atemwege des Pferdes gehören. Die Vermutung, daß es sich bei dieser bakteriellen Atemwegsinfektion um ein primäres Geschehen und nicht um eine Folge der Pilzinfektion gehandelt haben dürfte, wird durch die bei der Einganguntersuchung erhobenen klinischen und hämatologischen Befunde gestützt.

Andererseits ist im vorliegenden Fall auch eine primäre Pilzinfektion der Lunge denkbar. Dies würde allerdings außerordentlich hohe Konzentrationen an koloniebildenden Einheiten von *Aspergillus* in der Stallluft voraussetzen. *Lestschenko* und *Scheklakow* (1968) berichten über entsprechende durch *Aspergillus niger* hervorgerufene Erkrankungen beim Menschen nach ständiger Inhalation von Konidien bei bis zu 1000 koloniebildenden Einheiten/100 l Luft. Nun können in Pferdestallungen mit Einstreu, bereits beim ruhig stehenden Pferd, auf jeden Fall aber durch die Staubaufwirbelungen beim Niederlegen oder Aufstehen der Tiere weitaus höhere Konzentrationen an Sporen und Konidien in der Luft erreicht werden (*Clark* 1987, *Webster* et al. 1987). Dennoch erkrankt das lungengesunde und immunstabile Pferd nicht an einer Atemwegsmykose. Im vorliegenden Fall wurde der Stall täglich mit Wasser ausgespritzt, um die Luftfeuchte versuchsbedingt auf durchschnittlich 70–80% zu halten, so daß die Staubkonzentration in der Luft erheblich gemildert war. Wenn sich dennoch eine Pneumomykose entwickeln konnte, so scheinen keine exogenen sondern vielmehr endogene, den Immunstatus des Tieres betreffende Faktoren bedeutsam zu sein.

Begünstigend für den Infektionsverlauf wirkt sich in diesem Zusammenhang eine funktionelle Hemmung von Zellen des mononukleären Phagozytensystems aus. Diese Hemmung liegt im vorliegenden Fall sogar noch in doppelter Hinsicht vor. Einerseits ist bekannt, daß die Makrophagenaktivitäten durch iatrogene Immunsuppression (hier: hohe Corticosteroidgaben) reduziert werden, andererseits ist aber auch die Depression der Aktivität des gesamten retikuloendothelialen Systems in Zusammenhang mit Babesiosen beschrieben (*Wright* und *Goodger* 1988).

Möglicherweise hat im vorliegenden Fall zusätzlich die antibiotische Therapie vierzehn bis siebzehn Tage p.i. zur Begrenzung der ersten Parasitämie-Phase durch Ausschaltung einer konkurrierenden bakteriellen Flora das selektive *Aspergillus*-Wachstum gefördert. Diese Möglichkeit entspräche Beobachtungen über den Erregerwechsel vom Wachstum gramnegativer Stäbchenbakterien zum ungehemmten Wachstum von *Aspergillen*, wie es für die Mukoviszidose (Cystische Fibrose) des Menschen nach antibiotischer Therapie als wahrscheinlich gilt und auch bei anti-

biotisch behandelten *Klebsiella-pneumoniae*-Infektionen der Lunge beim Menschen festgestellt wurde (Staub et al. 1980 und 1981, Staub 1989).

Nach erfolgter Ansiedlung des Pilzes wird die zweite Phase der Parenchymschädigung und damit mögliches invasives Wachstum durch die Freisetzung verschiedener Pilz-spezifischer Enzyme eingeleitet. Entsprechend ihrer biologischen Kompostierungsfunktion sind die einzelnen Pilzgattungen und -arten mit einer Vielzahl unterschiedlicher Enzyme ausgestattet, die es ihnen ermöglichen, diesen (ursprünglich biotopbezogenen) Abbaufunktionen gerecht zu werden (Staub 1988). Im Rahmen der zweiten Phase der Pathogenese kann es nun allein bereits über die Abgabe der sekretorischen Proteasen von Pilzen der Gattung *Aspergillus* (Staub 1984 und 1985, Staub et al. 1981, Reichard et al. 1990), die ja auch im vorliegenden Fall nachgewiesen wurden, zu einer Zerstörung sowohl von Zellen der Körperabwehr als auch von Bindegewebe und Basalmembranen kommen, so daß schließlich auch die gefäßinvasive Ausbreitung und damit disseminierte Metastasierung des Erregers ermöglicht wird. Multiple Niereninfarkte sowie insbesondere eine massive Gehirnmanifestation sind eindrucksvolle Beispiele des vorliegenden Falles. Neben den bereits genannten sekretorischen Proteasen dürfte auch dem von *Aspergillus fumigatus* produzierten Gliotoxin aufgrund seiner gewebserstörenden und gleichzeitig immunsuppressiven Eigenschaften eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung einer Mykose, wie im vorliegenden Fall, zukommen (Korbel et al. 1993, Jordan and Pederson 1986, Müllbacher et al. 1985). Verruculogen, ein weiteres mykogenes Neurotoxin, das Tremor hervorruft und ebenfalls durch *Aspergillus fumigatus* gebildet wird (Cole und Cox 1981) könnte für den im vorliegenden Fall neun Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroidgabe aufgetretenen intermittierenden Tremor verantwortlich sein.

Nun vertreten verschiedene Autoren die Auffassung, daß derartige invasive Pneumomykosen letztlich auf eine Invasion von Pilzsporen über die geschädigte Darmepithelschranke immundefizienter Tiere zurückzuführen sind (Slocombe und Slawson 1988, Hattel et al. 1991). Im vorliegenden Fall sind jedoch die Lungenveränderungen eindeutig älter als die segmentale Darmentzündung und während in der Lunge multiple Gefäßleinbrüche durch die *Aspergillen* nachzuweisen sind, fehlt Pilzwachstum im Darm, so daß zumindest für diesen Fall ein derartiger enteraler Infektionsweg ausgeschlossen wird.

Werden selbst bei Verdacht auf Mykosen in der Pferdepraxis keine mykoserologische Untersuchungen durchgeführt, so zeigt der vorliegende Fall die Möglichkeiten derartiger Methoden auf und eröffnet damit Perspektiven bezüglich einer artspezifischen Erregerdiagnose und eventuellen Therapie.

Aufgrund der mykoserologischen Befunde müßte der Gefäßleinbruch und damit die systemische Antigenausbreitung zwischen dem zweiundzwanzigsten und vierundzwanzigsten Tag p.i., vier Tage nach Beginn der zweiten Corticosteroidgabe zum Zeitpunkt der zweiten Parasitämie-Phase erfolgt sein, was auch mit der zu erwartenden Entwick-

lungsdauer neutralisierender Antikörper übereinstimmen würde. Hierbei darf allerdings nicht der alleinige Nachweis von präzipitierenden Antikörpern gegen *A.fumigatus* als Kriterium für das Bestehen einer invasiven Mykose angesehen werden, da ihr Auftreten nicht zwingend mit einer aktiven Erkrankung verbunden sein muß (Burrell und Rylander 1981). Erst der gleichzeitige serologische Nachweis von präzipitierenden Antikörpern und Galaktomanan-Antigen zeigt ein invasives Krankheitsgeschehen an. Damit stellt sich die Frage, ob bei rechtzeitigem Bekanntwerden derartiger serologischer Befunde unter Praxisbedingungen (in Anlehnung an die enge mykologische Überwachung immunsupprimierter Patienten in der Humanmedizin (Hummel et al. 1992)) eine erfolversprechende antimykotische Therapie auch beim Pferd noch durchführbar wäre. Durch die vorliegende Arbeit werden zumindest für zukünftige vergleichbare Fälle einer iatrogenen Immunsuppression beim Pferd realistische Möglichkeiten einer dem Menschen vergleichbaren außerordentlich engen mykologischen Überwachung aufgezeigt, die bei rascher intravenöser Applikation eines Antimykotikums Perspektiven für eine erfolgreiche Therapie eröffnen können.

Danksagung:

Herrn M. Seibold aus der Abteilung Mykologie des Robert-Koch-Instituts sei für die Durchführung mykologischer und mykologisch-serologischer Untersuchungen gedankt.

Für die Durchführung der klinisch-chemischen Untersuchung gilt der Klinik für Pferdekrankheiten, allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin unser Dank.

Literatur

- Ainsworth, G.C. (1954): Fungoid infections of animals in Britain. *Vet. Rec.* 66, 844-849.
- Burrell, R. and R. Rylander (1981): A critical review of the role of precipitins in hypersensitivity pneumonitis. *Eur. J. Respir. Dis.* 62, 332-343.
- Clarke, A. (1987): Air hygiene and equine respiratory disease. *Vet. Rec.* (Suppl.) In Practice, 196-204.
- Cole, R.J. and R.H. Cox (1981): Handbook of toxic fungal metabolites. Academic Press, New York, London.
- Emmons, Ch. W., H. Chapman, H. Binford, J.P. Utz und K.J. Kwon-Chung (1977): Medical Mycology. 3rd ed., Lea & Febiger, Philadelphia.
- Gedek, B. (1967): Pilzkrankheiten während der Aufzucht. *Tierärztl. Umschau* 22, 149-153.
- Gedek, B. (1980): Compendium der medizinischen Mykologie. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Grabner, A. (1984): Diagnostik und Therapie von Luftsackerkrankungen des Pferdes. *Tierärztl. Praxis* 12, 329-341.
- Jones, T.C. und R.D. Hunt (1983): Veterinary Pathology. Lea und Febiger, Philadelphia.
- Hattel, A.L., T.R. Drake, B.J. Anderholm und E.S. McAllister (1991): Pulmonary aspergillosis associated with acute enteritis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 199, 589-590.

- Hummel, M., U. Thalmann, G. Jautzke, F. Staib, M. Seibold and R. Hetzer (1992): Fungal infections following heart transplantation. *Mycosis* 35, 23-24.
- Jordan, T.W. and J.S. Perderson (1986): Sporidesmin and gliotoxin induce cell detachment and perturbate microfilament structure in cultured liver cells. *J. Cell Science* 85, 33-46.
- Korbel, R., Bauer, J. und Brigitte Gedek (1993): Pathologisch-anatomische und mykotoxikologische Untersuchungen zur Aspergillose bei Vögeln. *Tierärztl. Praxis* 21, 134-139.
- Leschenko, W.M. und N.D. Scheklakow (1968): Die Rolle der Schimmelpilze in der Berufspathologie. *Mykosen* 11, 865-869.
- Müllbacher, A., P. Waring and R.D. Eichner (1985): Identification of an agent in cultures of *aspergillus fumigatus* displaying antiphagocytic and immunomodulating activity in vitro. *J. Gen. Microbiol.* 131, 1251-1258.
- Raper, K.B. and D.I. Fennell (1973): The genus *aspergillus*. Robert. E. Krieger Company, Huntington, New York.
- Reichard, U., S. Büttner, H. Eiffert, F. Staib und R. Rüchel (1990): Purification and characterisation of an extracellular serine proteinase from *Aspergillus fumigatus* and its detection in tissue. *J. Med. Microbiol.* 33, 243-251.
- Rolle, M. und A. Mayr (1984): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler - Lehrbuch für Praxis und Studium (5. Auflage). Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- Schiefer, B. (1967): Pathomorphologie der Systemmykosen des Tieres. Infektionskrankheiten und ihre Erreger, Bd.6, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Sedlmeier, H. und B. Schieffer (1971): Pneumomykosen. In: *Joest, E.: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 295-309.
- Siepelmeier, F.-J. (1982): Erkrankungen des Respirationstraktes durch Schimmelpilze bei Haussäugetieren unter besonderer Berücksichtigung der Allergie. Veterinärmedizinische Dissertation, Hannover.
- Slocombe, R.F. und D.O. Slawson (1988): Invasive pulmonary aspergillosis of horses: an association with acute enteritis. *Vet. Pathol.* 25, 277-281.
- Staib, F. (1989): Epidemiologie der Aspergillose unter besonderer Berücksichtigung der Cystischen Fibrose (CF). In: *Kaiser, D. (Hrsg.): CF-Symposium Wildbad 1989. Mukoviszidose 1989: Ergebnisse aus Grundlagenforschung und Klinik*. Kali-Chemie Pharma GmbH, Hannover.
- Staib, F. (1984): Ecological and epidemiological aspects of *aspergilli* pathogenic for man and animal in Berlin (West). *Zbl. Bakt. Hyg., A* 257, 240-245.
- Staib, F. (1985): Pleural fluid as nutrient substratum for *Aspergillus fumigatus* and *A. flavus*. Submerged growth in pleural fluid and extracellular proteolysis in pleural fluid agar. *Zbl. Bakt. Hyg., A* 260, 543-549.
- Staib, F., J. Steffen, D. Krumhaar, G. Kapetanakis, C. Minck und G. Grosse (1979): Lokalisierte Aspergillose und Oxalose der Lunge durch *Aspergillus niger*. *Dtsch. med. Wschr.* 104, 1176-1179.
- Staib, F., D. Bohl, B. Foth, S.K. Mishra, C. Rajendran und J.A. Müller (1980): Tödliche Aspergillose nach Infarktpneumonie - Ein Beitrag zur Epidemiologie, Prophylaxe und Diagnostik der Lungenaspergillose. *Prax. Pneumol.* 34, 732-738.
- Staib, F., S.K. Mishra und C. Rajendran (1981): Neue Erkenntnisse über *Aspergillus*-Arten als Krankheitserreger im Bereich der Lunge und der Atemwege - Ein Beitrag zum kulturellen Erregernachweis und seiner Berücksichtigung in der Serodiagnostik. *Ärztl. Lab.* 27, 222-226.
- Staib, F. (1988): Infektionen durch Sproß- und Fadenpilze - Aktuelle Themen. In: *Jorde, W. und M. Schata (1989): Mönchengladbacher Allergie-Seminare, Band 2*, Dusteri-Verlag Dr. Karl Feistle, 26-45.
- Tomiskova, A. und D. Novackova (1980): Bedingt pathogene Pilze im menschlichen Organismus und dessen Reaktion auf ihre Anwesenheit unter normalen und pathologischen Verhältnissen. *Mykosen* 23, 235-258.
- Virchow, R. (1856): Beiträge zur Lehre von den beim Menschen vorkommenden pflanzlichen Parasiten. In: *Virchow, R.: Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin* 9, 557-593.
- Webster, A.J.F., A.F. Clark, T.M. Madelin and C.M. Wathes (1987): Air hygiene in stables. I. Effects of stable design, ventilation and management on the concentration of respirable dust. *Equine Vet. J.* 19, 448-453.
- Weiler, H., F. Staib, H. Keller und W. Stäcker (1991): Luftsackmykose beim Pferd. Ein Beitrag zur Pathologie und Ätiologie. *Pferdeheilkunde* 7, 179-187.
- Wright, G. und B.V. Goodger (1988): Pathogenesis of Babesiosis. In: *Ristic, M.: Babesiosis of domestic animals and man*. CRC Press, Boca Raton, 99-118.

Dr. Horst Weiler

Institut für Veterinär-Pathologie
der Freien Universität Berlin
Straße 518 Nr. 15
14163 Berlin

Tel: 030/81 08 24 50

Fax: 030/81 08 25 22