

Aspekte zur Prävalenz und Persistenz des Sommerekzems beim Pferd: Vergleichende Betrachtung von klinischer Ausprägung und zellulärer Allergiediagnostik in vitro

Jens Rohwer, Christine Kobelt und Wolfgang Leibold

Institut für Immunologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Zusammenfassung

Die klinische Ausprägung des Sommerekzems, einer Typ I Allergie bei Pferden, ist abhängig vom Kontakt zum Allergen - am bekanntesten ist hier der Stich von Gnitzen (*Culicoides* spp.), die meist während der Sommermonate bevorzugt in feucht-warmen Gebieten vorkommen. Pferde, die einmal allergisch reagierten, neigen dazu, auch in den folgenden Jahren das Vollbild der atopischen Dermatitis zu entwickeln, wann immer sie von Gnitzen gestochen werden. Dafür muss die Sensibilisierung gegen dieses Allergen auch in der asymptomatischen Phase erhalten bleiben. Der FIT (funktioneller in vitro Test zum Nachweis sensibilisierter Typ I allergischer Effektorzellen) ist in der Lage, eine in vivo erfolgte funktionelle Sensibilisierung allergischer Effektorzellen (Basophile und Mastzellen) mit Antikörpern unabhängig von ihrer Spezifität (generelle Sensibilisierung) sowie antigenspezifischen Antikörpern (spezifische Sensibilisierung, hier gegen: *Culicoides nubeculosus*) unabhängig von der Ausprägung klinischer Symptome zu erfassen. Mit Hilfe des FIT untersuchten wir, ab wann eine Sensibilisierung im Leben eines Pferdes erfolgen kann, wie das spezifische Sensibilisierungsmuster bei gesunden und bei allergischen Pferden unter gleicher Haltungsbedingung auszusehen vermag und wie lange eine funktionelle Sensibilisierung bei Sommerekzemern bestehen bleiben kann, insbesondere wenn kein Kontakt zum relevanten Allergen stattfand. Bereits im Fohlenalter konnte im FIT eine Sensibilisierung vereinzelt nachgewiesen werden, mit zunehmender Tendenz in den beiden folgenden Jahren. In der hier untersuchten Population zeigten alle Pferde mit Sommerekzemanamnese - unabhängig von der Ausprägung klinischer Symptome - zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine funktionelle Sensibilisierung gegen *Culicoides nubeculosus*. Aber auch bis zu 40% erwachsener Pferde ohne eine Sommerekzemanamnese zeigten eine Sensibilisierung gegen Gnitzen ohne Anzeichen des Sommerekzems - zumindest während unseres Beobachtungszeitraumes von 1 Jahr. Sommerekzemer behielten - selbst unter Allergenkarrenz - ihre spezifische Sensibilisierung gegen Gnitzen für bis zu 15 Jahren bei. Eine funktionelle spezifische Sensibilisierung von Typ I Effektorzellen ist eine unabdingbare Grundvoraussetzung für die Entwicklung einer Typ I Allergie. Sie stellt für ein positiv befundenes Individuum ein Allergierisiko dar. Jedoch lässt allein eine spezifische Sensibilisierung - ohne jemals eine klinische Allergiesymptomatik ausgeprägt zu haben - nicht den Schluss zu, dieses Pferd habe eine Allergie.

Schlüsselwörter: Allergie, Sommerekzem, Pferd, Dermatitis, Sensibilisierung, Diagnose, FIT (funktioneller In vitro-Test zum Nachweis sensibilisierter Typ I allergischer Effektorzellen)

Aspects concerning prevalence and persistence of Insect Bite Hypersensitivity (IBH) in horses: Comparative study of clinical appearance and cellular allergy testing in vitro

Clinical symptoms of Insect bite Hypersensitivity (IBH), a type I allergy in horses, are commonly observed seasonally, depending on contact to the relevant allergen. One of the initiators of IBH, biting midges of the genus *Culicoides* spp., frequently occurs in wet and warm climates. Once affected horses reveal clinical symptoms each and every year when bitten again. Therefore the sensitization of allergic effector cells must persist also in times without contact to the relevant allergen. The FIT (functional in vitro test for sensitized type I allergic effector cells) is a tool to determine a functional in vivo sensitization of allergic effector cells (basophils and mast cells) with antibodies, irrespective of their antigen specificity (general sensitization) as well as with antigen specific antibodies in vitro (specific sensitization, here: against *Culicoides nubeculosus*), regardless of the temporary nature of clinical signs. The aim of this study was - by means of the FIT - to determine the onset of general and specific sensitization against *Culicoides* spp. in young horses, the prevalence of sensitization amongst healthy and affected horses in the same habitat and the persistence of a sensitization, esp. under allergen-abstention. The main findings are: Already some foals got sensitized in their first year of life. Sensitization increased with age. In this cohort all IBH-positive horses showed consistently a specific functional sensitization against *Culicoides nubeculosus*. However, during the one year observation period up to 40% of adult horses with no history of IBH displayed a specific sensitization without clinical symptoms. And once sensitized allergic horses maintained their sensitization for at least up to 15 years without contact to the relevant allergen. In conclusion: Antigen specific functional sensitization of type I effector cells is an essential prerequisite for developing an allergy, thus, it marks a risk for the positively tested individual. But sensitization without clinical symptoms at any time does not assume a horse to have an allergy.

Keywords: allergy, summer eczema, equine, dermatitis, sensitization, diagnosis, FIT (functional in vitro test for sensitized type I allergic effector cells), horse

Einleitung

Das klinische Bild des Sommerekzems beim Pferd beruht auf einer überschießenden Reaktion vom Soforttyp (Typ I) (Matthews

et al. 1983). Allerdings kann in Bezug auf die Stärke der klinischen Erscheinung sowie die Lokalisation der veränderten Hautareale kaum ein „klassisches Bild“ dieser Erkrankung definiert werden (Riek et al. 1953). Weiterhin handelt es sich um ein zeit-

lich gesehen zwar chronisches Leiden, jedoch ist eine klinische Symptomatik direkt abhängig von der Allergenexposition. Kranke Individuen erscheinen unter Allergenkarrenz gesund!

Ursächlich für die Ausprägung allergischer Symptome ist eine ausreichende Aktivierung und damit u. a. verbundene Degranulation von Mastzellen im Gewebe. Funktionell gleichgestellt sind ihnen die Basophilen des Blutes. Dabei werden auf der Oberfläche dieser Zellen spezifische Immunglobuline (vorrangig vom Isotyp IgE, Rohwer 2004) an geeignete Rezeptoren für den Fc-Teil bestimmter Immunglobuline (FcR: Fc-Rezeptoren) gebunden und - so vorhanden - durch ein „passendes“ Antigen kreuzvernetzt. Den Besatz der FcR von Mastzellen und Basophilen mit spezifischen Immunglobulinen bezeichnet man als Sensibilisierung. Diese physiologische Reaktion im Rahmen einer Wächterfunktion der Mastzellen in den Schleimhäuten verläuft bei Typ I Allergien, wie z. B. dem Sommerekzem überschießend. Es kommt also zu einer über das notwendige Maß hinausgehenden Reaktion gegen Antigene, die von den sensibilisierenden Antikörpern auf den Mastzellen und Basophilen in ausreichendem Maße gebunden werden. Beim Sommerekzem sind es häufig Speichelbestandteile von Gnitzen (Halldordottir et al. 1989). Antigene, auf die ein Individuum mit einer solchen überschießenden Reaktion antwortet, bezeichnet man dann als Allergene.

Insbesondere aufwachsende Pferde vor dem dritten Lebensjahr zeigen selten eine überschießende Reaktion (Lange et al. 2005), obwohl die Antigenexposition im jugendlichen Alter zu einer entsprechenden Sensibilisierung hätte führen können. Inhalt dieser Studie sollte daher sein, die Sensibilisierung juveniler Pferde zu prüfen (Fohlen, Jährlinge, zwei- und dreijährige Pferde), bei an Sommerekzem erkrankten sowie an bis dahin gesunden Pferden im Verlauf eines Jahres wiederholt zu erfassen und bei Pferden mit Sommerekzem unter Allergenkarrenz von über 10 Jahren zu verfolgen.

Dazu wurde neben einer ausführlichen klinischen Untersuchung der Probanden jeweils ein in vitro Verfahren eingesetzt, welches eine allergische Reaktionsbereitschaft im Vollblut von Pferden bestimmen kann (Kaul 1998). Dieses Verfahren ist in der Lage, eine in vivo erfolgte Sensibilisierung allergischer Effektorzellen (Basophile bzw. Mastzellen) mit antigenspezifischen Antikörpern in vitro funktionell zu prüfen (FIT: Funktioneller in vitro Test zum Nachweis sensibilisierter Typ I allergischer Effektorzellen). Damit lässt sich bei Typ I allergischen Pferden auch in der symptomfreien Zeit eine antigenspezifische Sensibilisierung erfassen. Neben der Antigen induzierten Reaktion der allergischen Effektorzellen (Nachweis der spezifischen Sensibilisierung) ist dieses Verfahren in der Lage, auch generell zu überprüfen, ob und durch welche Art (Isotypen) an Antikörpern - unabhängig von ihrer Spezifität - die allergischen Effektorzellen sensibilisiert sind (Nachweis der generellen Sensibilisierung).

Material und Methode

Pferde

Die durchgeführten Verlaufsuntersuchungen wurden ausschließlich an Islandpferden durchgeführt. Dabei wurden für die Prüfung von heranwachsenden Pferden (Fohlen bis Drei-

jährige) ausschließlich Tiere eines Gestütes unter gleichen Fütterungs- und Haltungsbedingungen untersucht. Die einjährigen Verlaufsuntersuchungen zur Sensibilisierung gegen *Culicoides* spp. wurden an einer Herde von Islandpferden durchgeführt, die ebenfalls unter identischen Bedingungen gehalten wurde. Die Gruppengrößen ($n \geq 10$) der einzelnen Untersuchungen werden jeweils in den Abbildungen bzw. deren Beschriftung angegeben.

Klinische Untersuchung

Neben einer stets erfolgten Allgemeinuntersuchung wurden die Probanden einer speziellen Untersuchung der äußeren Haut und deren Anhangsorgane unterzogen. Bewertungskriterien waren in diesem Sinne a) Quaddelbildung, Haarbruch, Seborrhoe und nässende Veränderungen, b) Borken-/Krustenbildung, Pachydermie, Alopezie und c) sekundäre Traumata und Infektionen

Insbesondere für die Zusammenstellung der juvenilen Gruppen wurden Individuen gewählt, die keine dieser Hautveränderungen aufwiesen, unabhängig von einer möglichen allergischen Anamnese.

Blutentnahme

Für die Untersuchungen im funktionellen in vitro-Test (FIT, s.u.) wurden den Pferden unter Wahrung der allgemeinen Sorgfaltspflichten Blutproben entnommen. Dazu wurde bei wiederholter Entnahme im Wechsel die linke oder rechte Vena jugularis punktiert und das Blut mittels sterilem Vakutainer-System (Becton Dickinson, Heidelberg) entnommen (FIT: Vakutainer K2E).

Funktioneller In vitro-Test zum Nachweis sensibilisierter Typ I allergischer Effektorzellen (FIT)

Zur ex vivo Diagnostik einer in vivo erfolgten Sensibilisierung equiner basophiler Granulozyten (Basophiler) wurde 1998 von Kaul der FIT entwickelt. Dieser Test erfasst gezielt die Reaktionsbereitschaft von Basophilen unter den zuvor gewaschenen Blutzellen. Dabei setzen sie unterschiedliche Mediatoren frei, von denen allein das Histamin in Basophilen gespeichert vorliegt und somit nur von diesen Zellen kurzfristig freigesetzt werden kann. Deshalb wird die Stärke der Basophilenreaktion anhand des freigesetzten Histamins in einem Radio-Immuno-Assay (RIA) quantifiziert. Im FIT erfolgt die Prüfung der Basophilen stets in 4 Verfahren:

- Spontane Freisetzung von Histamin
- physikalische Freisetzung von Histamin (thermische Behandlung der Zellen)
- Prüfung der generellen Sensibilisierung (Antikörper vermittelte Basophilenaktivierung, unabhängig von deren Spezifität)
- Prüfung der spezifischen Sensibilisierung (Antigen-induzierte und durch Antikörper vermittelte Basophilenaktivierung). Als Antigen wurde hier eine Präparation aus *Culicoides nubeculosus* (Cn), einer Gnitzenart, eingesetzt.

Die eigentliche Freisetzungsprüfung dauert maximal eine Stunde. Anschließend wird durch Zentrifugation der klare

Überstand abgenommen und der quantitative Histaminnachweis mittels eines kompetitiven Radioimmunoassay durchgeführt (Kaul 1998, Rohwer 2004).

Zur besseren Vergleichbarkeit unterschiedlicher Blutproben erfolgt eine relative Beurteilung der freigesetzten Histaminmenge aller Verfahren einer Blutprobe im Vergleich zu der maximalen Histaminfreisetzung dieser Blutprobe. Als Negativkontrolle wird für jede Blutprobe die spontane Histaminfreisetzung aus den Basophilen unter optimal schonenden Bedingungen und ohne eine Provokation geprüft (Verfahren 1). Wurden hierbei mehr als 6% des für diese Blutprobe maximalen Histamingehaltes freigesetzt, war eine Vorschädigung oder Voraktivierung der Zellen in dieser Blutprobe zu vermuten. Solche Blutproben wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Wurde in den Verfahren 3 oder 4 eine Histaminmenge freigesetzt, die 10% oder mehr dieser Blutprobe ausmachte, so wurde dieser Reaktionsansatz als positiv gewertet. Grundlage dieser Schwellenwerte sind die Untersuchungen von Kaul (1998).

Ergebnisse

Ab welchem Alter findet bei jungen Pferden eine Sensibilisierung der allergischen Effektorzellen statt?

Nachweis der Sensibilisierung von Basophilen bei Jungpferden

Mit folgender Untersuchung sollte der Beginn einer Sensibilisierung der allergischen Effektorzellen erfasst werden, die unabdingbare Voraussetzung für eine Typ I Allergie ist.

Eine Sensibilisierung mit sich möglicherweise anschließender Allergie in Form einer Insektendermatitis (z. B. Sommerkezem) kann sich nur auf Grund wiederholter Exposition von Pferden mit primär blutsaugenden Insekten entwickeln. Insbesondere Gnitzen (*Culicoides* spp.) sind als Ursache für die sommerlichen Hautveränderungen bekannt, obwohl eine ganze Reihe anderer hämatophager sowie ubiquitärer Arthropoden das klinische Bild eines Sommerkezems ebenfalls hervorrufen können (Fadok et al. 1990).

Um zu überprüfen, wann Jungpferde nach Kontakt mit potentiell allergenen Speichelbestandteilen der Insekten eine funktionell nachweisbare Sensibilisierung ihrer Basophilen entwickeln, wurden Gruppen aus je mindestens 10 Individuen von null bis dreijähriger Islandpferde ohne klinische Zeichen einer Allergie untersucht, die in einer *Culicoides* reichen Umgebung gehalten wurden.

Fohlen

Klinische Untersuchung

Die zehn Fohlen dieser Gruppe wurden im Oktober ihres Geburtsjahres einer klinischen und einer funktionellen in vitro (FIT) Untersuchung unterzogen. Ihre Geburtstermine lagen in den Monaten Mai und Juni. Somit waren sie seit ihrer Geburt den blutsaugenden Gnitzen ausgesetzt (Hauptflugzeit: April bis Oktober, abhängig von der Witterung, Purse et al. 2005). Bei der Untersuchung im Oktober zeigte keines der Fohlen Anzei-

chen einer akuten oder vorangegangenen Allergie: Juckreiz, Veränderungen des Haarkleides wie Haarbruch, Schuppen- oder übermäßige Talgbildung, Borken, Haarlosigkeit, entzündliche oder verdickte Hautareale mit oder ohne Zusammenhangstrennung und Sekundärinfekten waren an keiner Körperstelle, insbesondere nicht an Stirn, Nacken, Widerrist, Kruppe, Schweifrübe, Unterbrust oder Unterbauch zu finden. Alle Tiere dieser Gruppe wurden als gesund eingestuft.

Ergebnisse des funktionellen In vitro-Tests (Abb. 1)

Bei zwei der insgesamt zehn Fohlen konnte mittels eines Antiserums gegen Pferdeimmunglobulin G (IgG) eine generelle Sensibilisierung nachgewiesen werden. Keines dieser beiden Tiere reagierte jedoch auf eine Antigenpräparation von *Culicoides nubeculosus*. Demnach waren die Basophilen dieser beiden Tiere zwar bereits sensibilisiert, jedoch gegen andere Antigene als die hier geprüften. Bei einem anderen dieser 10 Fohlen war eine starke Sensibilisierung seiner Basophilen gegen *Culicoides nubeculosus* festzustellen, ohne dass es eine „generelle“ Sensibilisierung zeigte. Seine alleinige starke Reaktion auf *Culicoides*antigen spricht dafür, dass es sich hier um eine spezifische Sensibilisierung und somit Antikörper vermittelte Aktivierung seiner Basophilen handeln musste. Da sich bei dem offensichtlich sensibilisierten Tier mit dem hier eingesetzten Antiserum gegen Pferde-IgG keine Histaminfreisetzung auslösen ließ, muss vermutet werden, dass es sich bei den Allergen erkennenden Antikörpern um einen Immunglobulinisotyp handelte, welcher von unserem Antiserum nicht erkannt wurde. Die Beobachtung, dass dieses Antiserum bei einer Vielzahl von Pferden eine gut nachweisbare Vernetzung membranständiger Antikörper auf Basophilen vermitteln konnte, damit aber offensichtlich nicht alle auf der Oberfläche basophiler Granulozyten gebundene Isotypen erfasst wurden, weist darauf hin, dass auf den Basophilen des Pferdes mindestens zwei unterschiedliche Immunglobulinisotypen vorkommen, die eine Aktivierung dieser Zellen vermitteln können, sobald sie überbrückt werden. Einer dürfte ein IgG sein, das durch das hier eingesetzte Antiserum gegen Pferde-IgG erkannt und erfolgreich überbrückt wurde (bei 2 der 10 Fohlen). Der andere Immunglobulinisotyp könnte ein IgE sein, welches durch das Anti-IgG-Antiserum nicht erfasst wurde (negative generelle Sensibilisierung). Es war jedoch in ausreichender Dichte auf den FcR der Basophilen vorhanden und erkannte hinlänglich Gnitzenantigene, so dass es zu einer Überbrückung dieser *Culicoides* spezifischen sensibilisierenden Antikörpern und zur messbaren Aktivierung der Basophilen kam (positive spezifische Sensibilisierung).

Jährlinge

Ergebnisse des funktionellen In vitro-Tests (Abb. 1)

Einjährige Islandpferde, welche ganzjährig in Weidehaltung leben, wurden jeweils im Februar sowie im Oktober eines Jahres mit dem FIT auf eine generelle Sensibilisierung sowie eine spezifische Sensibilisierung gegen *Culicoides nubeculosus* untersucht. Die Individuen dieser Gruppe hatten zum Ende des Untersuchungszeitraumes bereits mindestens zwei mehrmonatige Expositionsphasen von blutsaugenden *Culicoides*-Insekten erlebt.

Zur generellen Sensibilisierung

Unabhängig von der Spezifität der Antikörper konnte bei 9 von 10 Jährlingen eine deutliche generelle Bereitschaft allergischer Effektorzellen zur Degranulation nach Kreuzvernetzung membranständiger Antikörper mit einem Antiserum gegen Pferde-IgG gefunden werden.

Zur spezifischen Sensibilisierung

Bei vier der 10 Jährlinge konnte neben einer generellen Sensibilisierung mittels Culicoides-Allergenpräparationen eine deutliche bis starke spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen nachgewiesen werden.

Klinische Untersuchung der Jährlinge

Bei zwei Untersuchungen der Jährlinge (Feb. & Okt.) zeigten sich keinerlei Juckreiz bzw. Veränderungen der Haut oder des Haarkleides (vergl. Untersuchungsparameter bei den Fohlen), die auf eine akute oder vorausgegangene Allergie hindeuteten. Alle Tiere der Jährlingsgruppe, auch die vier nachweislich gegen Culicoides nubeculosus sensibilisierten, wurden als gesund eingestuft.

Zweijährige

Ergebnisse des funktionellen in vitro Tests (Abb. 1)

Zur generellen und Culicoides spezifischen Sensibilisierung: In der Gruppe der Zweijährigen waren insgesamt 12 Probanden auswertbar. Durch ihre ganzjährige Weidehaltung lebten sie zur wärmeren Jahreszeit unter Culicoidenexposition. 10 der 12 Pferde zeigten eine generelle und 5 davon auch eine Culicoides spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen. Somit waren – wie bei den Jährlingen – in dieser Altersgruppe unter den gegebenen Haltungsbedingungen bereits 83,3 % Tiere generell sensibilisiert und 41,7 % bereits reaktionsbereit gegenüber Gnitzenantigenen.

Klinische Untersuchung

Obwohl bereits spezifisch gegen Culicoides sensibilisiert (bis zu 42 %), zeigte kein Proband der hier untersuchten Gruppe an Zweijährigen im Untersuchungszeitraum ungewöhnlichen Juckreiz oder andere Anzeichen einer klinischen Symptomatik.

Dreijährige

Ergebnisse des funktionellen in vitro Tests (Abb. 1)

Zur generellen und Culicoides spezifischen Sensibilisierung: Von den 10 Pferden der Gruppe an Dreijährigen waren 9 Tiere deutlich generell sensibilisiert, jedoch nur bei einem von ihnen war eine funktionelle Sensibilisierung seiner Basophilen mit Antikörpern gegen Culicoides nubeculosus nachweisbar.

Klinische Untersuchung

Es wurden zu Untersuchungsbeginn (im Februar) bewusst nur klinisch gesunde Tiere in diese Gruppe der Dreijährigen aufgenommen, um den Sensibilisierungsstatus ihrer Basophilen ohne

Allergiesymptome zu prüfen. Keines der Tiere entwickelte im Untersuchungszeitraum (bis Januar des Folgejahres) ungewöhnlichen Juckreiz oder andere Zeichen einer Allergie, auch nicht das Pferd mit nachweislich funktionell sensibilisierten Basophilen.

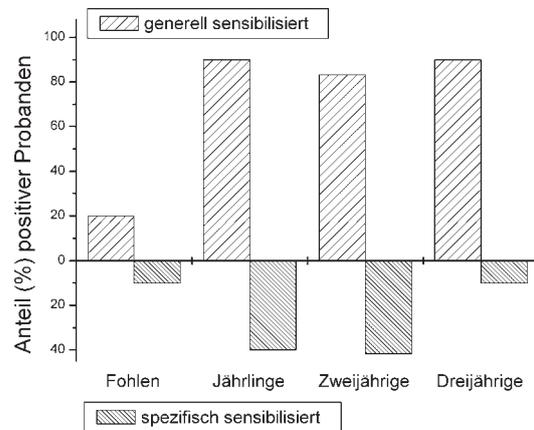


Abb 1 Altersabhängige Entwicklung der Typ I allergischen Reaktionsbereitschaft von Basophilen des Pferdes im Zeitfenster von 0 bis zu drei Jahren. Vergleich der Histaminfreisetzung nach Kreuzvernetzen membranständiger Antikörper-Isotypen unabhängig von ihrer Antigenspezifität mit einem Ziege anti Pferdeimmunglobulin-G Antiserum (generelle Sensibilisierung, obere Balkenreihe) und nach Zugabe von Culicoides nubeculosus Antigen (antigenspezifische Sensibilisierung, untere Balken). Dabei kann jedes Ereignis (generelle oder spezifische Sensibilisierung) bis zu 100% (alle untersuchten Tiere) betragen. Von 100% abweichende Ergebnisse kommen entweder durch eine fehlende Reaktion auf den jeweiligen Stimulus und durch ein Fehlen informativer Werte (keine Blutprobe oder nicht auswertbarer FIT) zu Stande.

Age related onset of type I allergy associated sensitization of equine basophils from birth to an age of three years. Comparative analysis of histamin liberation via crosslinking of membrane bound immunoglobulins (Ig) through an anti horse Ig antiserum (general sensitization, upper set of bars) and after incubation with Culicoides nubeculosus antigen (specific sensitization, lower set of bars).

Wie verändert sich die Sensibilisierung der Basophilen im Verlauf eines Jahres?

Perennial finden sich bei allergischen Pferden mit Sommerekzem symptomfreie Phasen und solche mit mehr oder weniger starker allergischer Dermatitis. In einer Verlaufsuntersuchung sollte ermittelt werden, ob in Abhängigkeit von der Allergenexposition (hier Anflug der Gnitzen zur warmen Jahreszeit) oder der Allergenkarrenz (im Winter) die generelle und / oder die spezifische Sensibilisierung der Basophilen im Jahresverlauf verändert werden. Insbesondere war zu prüfen: Wie zuverlässig kann der FIT eine spezifische Sensibilisierung von Pferden gegen Culicoides nubeculosus im jahreszeitlichen Verlauf erfassen? Wie korreliert die im FIT nachgewiesene Sensibilisierung der basophilen Granulozyten mit der klinischen Ausprägung von Sommerekzemsymptomen? Dazu wurde eine Gruppe von 14 Sommerekzem kranken (SE+) und 12 gesunden (SE-) Islandpferden, alle mindestens 8 Jahre alt und unter identischen Bedingungen auf einem Gestüt in ganzjähriger Weidehaltung, über ein Jahr (Februar bis Januar des Folgejahres) in Abständen von vier bis sechs Wochen zu insgesamt 9 Zeitpunkten im FIT untersucht: Mittels einer Allergenpräparation aus Culicoides nubeculosus (Cn) wurde die spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen gegenüber den saisonal auf-

tretenen Culicoides-Gniten überprüft. Gleichzeitig wurde die generelle Sensibilisierung ihrer Basophilen mit Hilfe eines Antikörpers gegen IgG-Immunglobuline des Pferdes erfasst. Zum Zeitpunkt dieser Untersuchungen stand uns noch kein Antikörper gegen Pferde-IgE zur Verfügung.

In den Wintermonaten November bis Februar einschließlich flogen witterungsbedingt keine Gniten, dadurch waren die Tiere diesem Allergen nicht ausgesetzt und die Allergiesymptome verschwanden. In den Abbildungen 2 und 3 sind die Ergebnisse der 9 Untersuchungszeitpunkte für die 4 Jahreszeiten zusammengefasst. Abb.2 zeigt, dass alle klinisch an Sommereczem erkrankten Tiere zu jedem auswertbaren Untersuchungszeitpunkt - auch im Winter - positiv auf das hier verwendete Culicoides Antigen reagierten. Somit waren die Basophilen aller hier untersuchten und an Sommereczem erkrankten Tiere unabhängig von der Allergenexposition (Gnitenflug) oder klinischen Allergiesymptomen zu jeder Zeit in vivo so ausreichend mit Culicoides spezifischen Antikörpern sensibilisiert, dass sie durch Antigenzugabe in vitro ihre Funktion, hier die Freisetzung von Histamin, ausführen konnten.

Bei all diesen Tieren war bei allen Untersuchungen - außer im Herbst -auch eine generelle Sensibilisierung ihrer basophilen Granulozyten durch das Antiserum gegen Pferde-IgG nachweisbar. Nur im Herbst war bei 9 von 14 Tieren durch das Anti-IgG-Antiserum keine generelle Sensibilisierung zu beobachten. Da jedoch auch diese 9 Tiere zur gleichen Zeit eine positive Basophilenaktivierung durch das Culicoidesantigen zeigten, dürften die Basophilen mit Antikörpern gegen Culicoides nubeculosus sensibilisiert gewesen sein, die von dem hier eingesetzten Antiserum gegen Pferdeimmunglobulin nicht erkannt wurden. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass auf den

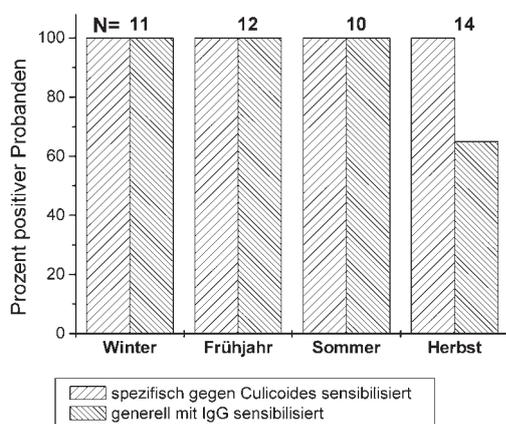


Abb 2 Nachweis Cn-spezifischer und genereller Sensibilisierung bei „Sommereczemern“ im jahreszeitlichen Verlauf. Eine Gruppe von 14 erwachsenen an Sommereczem erkrankten Pferden mit gemeinsamer ganzjähriger Weidehaltung und unter Exposition von Culicoides species in den warmen Jahreszeiten wurde zu 9 Zeitpunkten über ein ganzes Jahr verteilt (Feb. bis Jan. des Folgejahres) im FIT auf eine Culicoides-spezifische (jeweils erster Balken der Paare) und eine generelle (zweiter Balken) funktionelle Sensibilisierung ihrer Basophilen untersucht.

Perennial verification of Culicoides spp. specific sensitization and general sensitization with antibodies in IBH affected horses. A herd of 14 IBH affected horses under Culicoides exposition was tested 9 times in the FIT through the course of one year (february till january of the next year). Culicoides specific sensitization is represented by the first bar of the couples, general sensitization is always shown as second bar.

allergischen Effektorzellen des Pferdes mehr als ein Immunglobulinisotyp funktionell wirksam sein kann.

Parallel zu den „Ekzemern“ wurden bei 12 unter identischen Bedingungen auf denselben Weiden gehaltenen Pferden im gleichen Zeitraum und zu denselben 9 Zeitpunkten vergleichbare Untersuchungen durchgeführt. Obwohl keines dieser Pferde anamnestisch oder im Untersuchungszeitraum klinische Zeichen eines Sommereczems zeigte, bot der FIT im Hinblick auf die Sensibilisierung der Basophilen denkwürdige Befunde an (Abb. 3-summarisch): Sechs dieser 12 Pferde zeigten zu keinem Zeitpunkt eine positive Reaktion auf Culicoidesantigen in vitro. Da ihre Basophilen jedoch generell sensibilisiert waren, mangelte es bei ihnen lediglich an einer funktionellen spezifischen Sensibilisierung gegen Culicoides nubeculosus und damit an der Grundvoraussetzung zur Entwicklung eines durch Culicoides-Gniten bedingten Sommereczems. Die anderen 6 Tiere dieser Gruppe zeigten nicht nur in 98 % aller Untersuchungen eine generelle Sensibilisierung sondern zudem bei 81% der auswertbaren Testansätze mit Culicoidesantigen eine positive Reaktion im FIT. Somit wurde bei 6 von 12 Pferden, die im Untersuchungszeitraum keine klinischen Anzeichen eines Sommereczems hatten, in ca. 80 % der Untersuchungen eine positive spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen gefunden. Leider konnten diese 6 Tiere nicht weiter verfolgt werden, um zu klären, ob und wann sie nach unseren Untersuchungen ein Sommereczem entwickelt haben. Auffällig war auch, dass der Anteil der Culicoides positiven Reaktionen bei den klinisch negativen Tieren im Untersuchungsverlauf deutlich schwankte: Abb. 4 stellt die saisonalen Ergebnisse für die 12 Sommereczem freien und die 14 an Sommereczem erkrankten Tiere vergleichend dar.

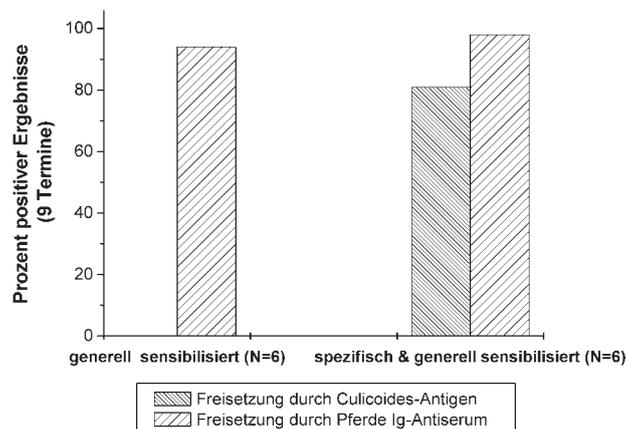


Abb 3 Nachweis Culicoides-spezifischer und genereller Sensibilisierung bei gesunden Pferden im jahreszeitlichen Verlauf. Eine Gruppe von 12 erwachsenen Pferden mit gemeinsamer ganzjähriger Weidehaltung, die bisher und im Untersuchungszeitraum nicht an einer Allergie erkrankt waren, wurde zu 9 Zeitpunkten über ein ganzes Jahr verteilt (Feb. bis Jan. des Folgejahres) im FIT auf eine Culicoides-spezifische (erster Balken) und eine generelle (zweiter Balken) funktionelle Sensibilisierung ihrer Basophilen untersucht.

Verification of Culicoides specific sensitization and general sensitization with antibodies in healthy horses. Twelve healthy adult horses, which had never shown any symptoms of allergy from the same herd mentioned in figure 2, were tested throughout one year in the FIT (every 4 to 6 weeks). If present the first bar of coupled data represents the Culicoides specific sensitization, the second bar represents the general sensitization.

Wie stabil ist eine einmal erfolgte Sensibilisierung der Basophilen bei Pferden mit Sommerkezem?

Die Ergebnisse der vorhergehenden Untersuchungen zeigten, dass bereits im Fohlenalter eine spezifische Sensibilisierung gegen einen wichtigen Verursacher des Sommerkezems (*Culicoides nubeculosus*) stattfinden und diese mit zunehmendem Alter unter *Culicoides*-exposition stärker werden kann. Im Folgenden interessierte, wie lange eine einmal erfolgte Sensibilisierung der Basophilen erhalten bleibt.

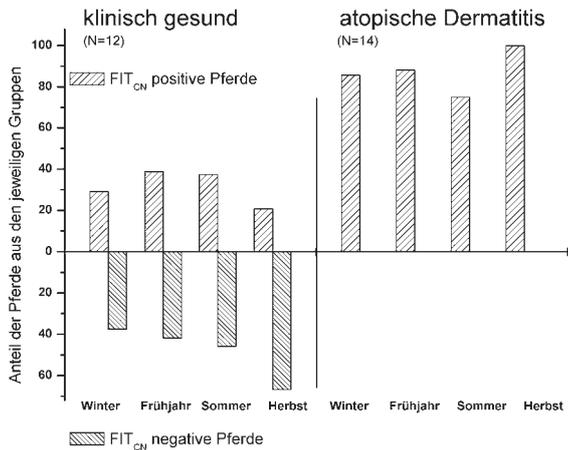


Abb 4 Perenniale spezifische Sensibilisierung gesunder und an Sommerkezem erkrankter Pferde im Vergleich. In dieser Abbildung beziehen sich alle Angaben stets auf die Gesamtzahl der Pferde in der jeweiligen Gruppe (klinisch bisher gesunde Pferde: N=12 bzw. Pferde mit Sommerkezem: N=14), selbst wenn nicht von allen Tieren Blutproben oder auswertbare Testergebnisse vorlagen. Deshalb werden zu keiner Zeit die maximal möglichen 100% erreicht. Dargestellt sind die prozentualen Anteile informativer FIT-negativer Tiere (Reihe der Balken unter dem Trennungsstrich = keine nachweisbare Cn-spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen) und informativer FIT-positiver Tiere (obere Reihe der Balken = nachweisbare Cn-spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen).

*Comparative perennial analysis of healthy and IBH affected horses in the FIT. Summarised figure of all FIT results from all horses in one habitat (N=26, twelve healthy horses, 14 IBH affected). Results less than 100% represent missing values. The upper set of bars indicates a positive result in the *Culicoides* specific sensitization, the lower set (only seen in healthy horses) displays the negative results in the FIT.*

Dazu wählten wir vorberichtlich an Sommerkezem erkrankte Islandpferde, die zum Zwecke der Allergenkarrenz auf die Nordseeinsel Spiekeroog verbracht worden waren. Die Nordseeinseln sind auf Grund ihrer nahezu ganzjährigen Westwindlage kein natürliches Habitat der Gnitzen. Schon seit geraumer Zeit verbringen daher Pferdebesitzer ihre ansonsten therapieresistenten Pferde auf diese Inseln. Im Verlauf einer Weidesaison kommt es dort zum Abklingen der atopischen Dermatitis.

In die hier vorgestellte Untersuchung waren 17 Islandpferde einbezogen, die mit ehemals klinisch ausgeprägtem Sommerkezem auf dem Festland im Alter von 6 bis 17 Jahren nach Spiekeroog kamen. Daraufhin verschwanden bei allen Tieren die Symptome innerhalb weniger Wochen vollständig. Sie befanden sich zum Zeitpunkt der hier durchgeführten Erstuntersuchung seit 1 bis 15 Jahren auf der Insel, ohne vorberichtlich dort jemals wieder klinische Merkmale eines Som-

merkezems gezeigt zu haben. Neun Islandpferde kamen ohne Ausprägung klinischer Zeichen eines Sommerkezems im Alter von 3 bis 21 Jahren nach Spiekeroog. Sieben dieser Tiere waren mindestens 5 Jahre alt und hätten auf dem Festland ein Sommerkezem ausprägen können.

Klinische Untersuchung

Für diese Untersuchungen unter Allergenkarrenz standen uns vorberichtlich klinische Sommerkezemer (N=17) und gesunde Pferde (N=9) zur Verfügung. Während der Sommerperiode wurden alle Tiere einer klinischen Untersuchung unterzogen, wobei insbesondere auf pachyderme Hautareale geachtet wurde, die auf ein bereits länger zurückliegendes Ekzem hinweisen können. Alle untersuchten Pferde konnten als klinisch gesund eingestuft werden. Einzig Fellverfärbungen auf verheiltem Narbengewebe konnten hinweislich für eine zurückliegende ekzematöse Veränderung gefunden werden.

Ergebnisse des funktionellen in vitro Tests unter Allergenkarrenz (Abb. 5):

Im Anschluss an die klinische Untersuchung wurde in einem Zeitraum von einer Woche von allen Tieren Blut gewonnen und ihre Basophilen im FIT auf eine generelle sowie eine Cn-spezifische Sensibilisierung geprüft. Die vorberichtlichen Sommerkezemer sowie die gesunden Tiere zeigten eine deutliche generelle Sensibilisierung ihrer Basophilen mit FcR-gebundenen Antikörpern unabhängig von deren Spezifität. Auf *Culicoides*-antigenen reagierten 18 der 26 untersuchten Pferde posi-

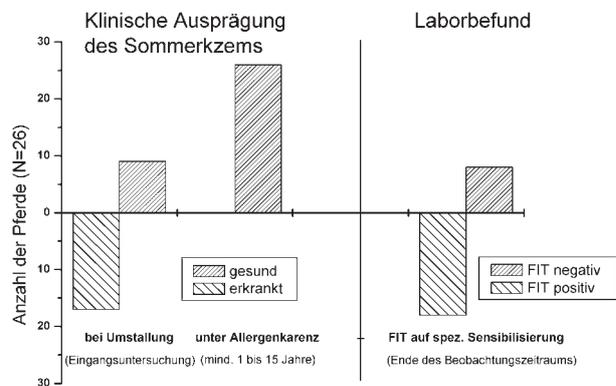


Abb 5 Stabilität einer vorberichtlichen Sensibilisierung (klinische Diagnose Sommerkezem) gegen *Culicoides* spp. im Verlauf einer 1 bis 15-jährigen Allergenkarrenz. Insgesamt 26 zum Untersuchungszeitpunkt klinisch gesunde Pferde auf der Insel Spiekeroog wurden im FIT geprüft, um a) eine spezifische Sensibilisierung gegen *Culicoides* spp. zu erfassen und b) dies mit der vorberichtlichen Ekzemer-Veranlagtheit zu vergleichen. Auch nach bis zu 15 Jahren Allergenkarrenz und fehlender klinischer Symptomatik erwiesen sich die vorberichtlichen Ekzemer als noch immer funktionell spezifisch gegen *Culicoides* sensibilisiert.

*Tenacity of an anamnestic sensitization (clinical diagnosis of IBH) against *Culicoides* spp. under allergen abstinence for up to 15 years. Out of 26 horses on the island of Spiekeroog 17 had a history of IBH (clinical symptoms), before they came to this island, where *Culicoides* spp. are not endemic. When tested in the FIT one to 15 years after the last contact to *Culicoides* spp., all horses with a history of IBH and one anamnestic healthy horse were specifically sensitized against *Culicoides nubeculosus*.*

tiv. Dies waren alle 17 Tiere, die wegen ihrer vorberichtlichen Erkrankung an Sommerexzem vor 1 bis 15 Jahren auf die Insel verbracht worden waren. Zusätzlich zeigten sich die Basophilen eines Tieres aus der Gruppe der 9 vorberichtlich gesunden Pferde ebenfalls deutlich gegen *Culicoides* spezifisch sensibilisiert.

Diskussion

Das Sommerexzem ist eine seit mehr als 100 Jahren beschriebene Erkrankung bei Equiden. Dabei wurden historisch alle dermalen Syndrome subsumiert, bei denen nach Ausschluss anderer ursächlicher Faktoren nur mehr Überempfindlichkeitsreaktionen verantwortlich gemacht werden konnten. Im Rahmen der gehäuft diagnostizierten allergischen Erkrankungen beim Menschen (*Thestrup-Pedersen* 2003, *Schmidt* 2004) wurden Veterinäre und Tierbesitzer auf die allergische Dermatitis aufmerksam gemacht.

In den letzten Jahren wurde auch beim Pferd eine erhöhte Inzidenz potenziell allergischer Erkrankungen postuliert. Neben dem allergischen Asthma, welches eine Ursache für chronisch obstruktive Lungenerkrankungen des Pferdes darstellen kann, findet sich das atopische Ekzem als zweithäufigste Erkrankung mit allergischer Genese. Dennoch können Dermatitis des Pferdes multiple Ursachen aufweisen. Der pathogenetische Nachweis einer überschießenden Typ I Reaktion war lange Zeit nicht oder nur unter Vorbehalt möglich.

Ursächlich für die gegenwärtig unzureichenden Behandlungsstrategien ist die bisher fehlende labordiagnostische Nachweismöglichkeit einer equinen Typ I Allergie. Die bisherige Diagnostik beruhte auf den in der Humanmedizin gewonnenen Erkenntnissen, die im Analogieschluss auf das Pferd angewandt wurden. Diese diagnostische Lücke wird durch den FIT nun kompensiert. Damit sind wir in der Lage, die Grundvoraussetzung für eine Typ I Allergie, eine in vivo erfolgte Sensibilisierung der dafür relevanten allergischen Effektorzellen in vitro nachzuweisen. Im Gegensatz zu einigen Typ I allergischen Erkrankungen bei Säuglingen und Kleinkindern (*Boralevi* et al. 2008) tritt das Sommerexzem bei Fohlen und Jungtieren weit seltener auf als in fortgeschrittenem Alter (*Lange* et al. 2005). In dieser Arbeit waren wir erstmalig in der Lage, Spezies spezifische Mechanismen bei jungen Pferden zu untersuchen, die im Rahmen einer sich natürlich entwickelnden Typ I Allergie auftreten – und sich dennoch von den frühen Allergien beim Menschen unterscheiden. Unbekannt bleibt, ob sich hier ein genereller Unterschied zwischen dem Immunsystem von Pferd und Mensch niederschlägt, oder letztlich andere Typ I allergische Erkrankungen betrachtet werden. Obwohl wir in allen untersuchten Altersklassen (0 bis 3 Jahre) einige spezifisch sensibilisierte Pferde fanden, zeigten die von uns untersuchten juvenilen Pferde keine klinische Symptomatik.

Gleichzeitig mit den sich durch den FIT erschließenden Möglichkeiten zur Erfassung einer spezifischen Sensibilisierung wurden auch die Grenzen der Aussagekraft einer in vitro Diagnostik der Typ I Allergie deutlich: Insbesondere bei der Untersuchung von Jährlingen und zweijährigen konnten wir feststellen, dass trotz einer nachweisbaren Sensibilisierung gegen Gnitzen, keine Anzeichen einer Erkrankung festzustellen waren. Diese Jungtiere hatten also Kontakt zu blutsaugenden Mücken

gehabt, deren Immunsystem hatte mit der Bildung spezifischer Antikörper reagiert, die in vitro nach Inkubation mit Mückenantigenen zu einer Kreuzvernetzung auf der Oberfläche Basophiler und zu ihrer Aktivierung führte – bis zum Ende des Untersuchungszeitraums litt keines dieser Tiere unter Sommerexzem (Abb. 1). Ob und wann die gegen *Culicoides* spezifisch sensibilisierten Tiere anschließend ein Sommerexzem entwickelten, konnte leider nicht untersucht werden.

Die Fähigkeit dieser Pferde, trotz funktioneller Sensibilisierung ihrer Basophilen eine überschießende Reaktion zu verhindern, kann nur durch kompensatorische Mechanismen erklärt werden. Möglicherweise sind sie in der Lage, nach Allergenkontakt inhibitorische Zytokine wie Interleukin 10 oder TGF β 1 (transforming growth factor- β 1) zu bilden oder eine überschießende Produktion von IL4 zu verhindern (*Hamza* et al. 2007a, *Hamza* et al. 2007b).

Erweiternd konnten wir bei dem engmaschigeren Screening gesunder adulter Tiere feststellen, dass einige Individuen zeitweilig gegen Gnitzen sensibilisiert waren, diese Sensibilisierung jedoch im Verlauf eines Jahres wechselte. Auch im humanen System ist bekannt, dass gesunde Individuen gegen eine Reihe unterschiedlicher Allergene Antikörper bilden (*Akdis* 2006). Insbesondere in der Anflugzeit der Gnitzen von hauptsächlich April bis Oktober kam es zu einer deutlich nachweisbaren Sensibilisierung von bis zu 40% der klinisch gesunden Tiere in der von uns untersuchten Herde. Erst im Winter nahm die Stärke sowie Häufigkeit eines positiven Ergebnisses im FIT (Cn-spezifische Sensibilisierung) wieder ab (Abb.3).

Die veränderte Reaktionsbereitschaft konnte nur durch ein aktualisiertes Sensibilisierungsmuster hervorgerufen werden, da die generelle Sensibilisierung bei diesen Tieren durchweg erhalten blieb. Das bedeutet, dass gerade die gesunden Individuen ganzjährig sensibilisierte Basophile hatten, jedoch der Anteil aktivierender allergenspezifischer Antikörper gegen das hier untersuchte Allergen *Culicoides nubeculosus* in der Mücken freien Zeit so niedrig war, dass eine Inkubation in vitro nicht mehr zur Freisetzung allergischer Mediatoren führte. Bei den Sommerexzemern hingegen konnte unabhängig vom Auftreten der allergie-auslösenden Gnitzen zu jeder Zeit eine deutliche Cn-spezifische Sensibilisierung gefunden werden (100%). Diese hohe Sicherheit des FIT, insbesondere im Zusammenhang mit einer einmal klinisch diagnostizierten Allergie, kann als Spiegel der in vivo überschießend stattfindenden Typ I Reaktion verstanden werden.

Auch die Stabilität dieser Sensibilisierung bei einmal an Sommerexzem erkrankten Pferden wurde hier untersucht. Dazu wurden erkrankte Tiere, die zur Allergenkarrenz nach Spiekeroog verbracht wurden (Gnitzen sind hier nicht endemisch), nach ein bis 15 Jahren Symptombfreiheit im FIT überprüft. Das klinische Eingangsergebnis vor bis zu 15 Jahren wurde durch den FIT bei den hier untersuchten Tieren bestätigt: Alle Pferde, die als „Sommerexzemer“ auf die Insel verbracht worden waren, reagierten konsequent positiv auf *Culicoides* Präparationen. Bis auf ein Tier zeigten alle Pferde, die als gesund nach Spiekeroog kamen, keine *Culicoides* spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen in unserem Testsystem (Abb. 2).

Dieses eine Tier mit Cn-spezifischer Sensibilisierung war im Alter von 3 Jahren symptomfrei nach Spiekeroog gekommen,

in welchem auch unter Gnitzenexposition auf dem Festland selbst sensibilisierte Tiere noch selten eine klinische Symptomatik ausprägen. Ob seine Basophilen damals bereits sensibilisiert waren, lässt sich nicht mehr nachvollziehen. Es wäre jedoch von besonderem Interesse gewesen, da dieses Tier Hinweise hätte geben können, ob eine präklinische funktionelle spezifische Sensibilisierung im Alter bis 3 Jahren unter Allergenkarenz erhalten geblieben wäre oder ob ein nicht gegen *Culicoides* sensibilisiertes Tier auf Spiekeroo eine solche Sensibilisierung seiner Basophilen erwerben könnte (eventuell durch Insekten, die mit *Culicoides nubeculosus* kreuzreagierende Antigene produzieren). Immerhin war dieses Tier zum Zeitpunkt dieser Erstuntersuchungen seit 18 Jahren auf Spiekeroo.

Der FIT ist somit in der Lage, vor Ausprägung einer klinischen Allergiesymptomatik eine Grundvoraussetzung dafür, die in vivo erfolgte spezifische Sensibilisierung der Basophilen gegen potentielle Allergene (hier von *Culicoides* spp.) in vitro zuverlässig zu erfassen und eine einmal erfolgte überschießende Reaktion (Sommerekzem) auch in Abwesenheit der klinischen Symptomatik zu bestätigen. Diese Interpretation erlaubt allerdings nicht den Rückschluss, dass eine nachweisliche Sensibilisierung immer mit einer früheren klinischen Symptomatik einhergehen muss. Nur der klinische Befund „atopische Dermatitis“ im Zusammenhang mit einem positiven Testergebnis im FIT dient als gemeinsame Diagnosesicherung, auch wenn die Labordiagnostik zu einem früheren Zeitpunkt durchgeführt wurde als die klinische Befundung am Patienten.

Zusammenfassend konnten also drei Gruppen von Pferden gefunden werden: Pferde mit klinischer Ausprägung einer atopischen Dermatitis (AD: +) und einer spezifischen Sensibilisierung ihrer Basophilen gegen Insektenantigene (FIT: +). Pfer-

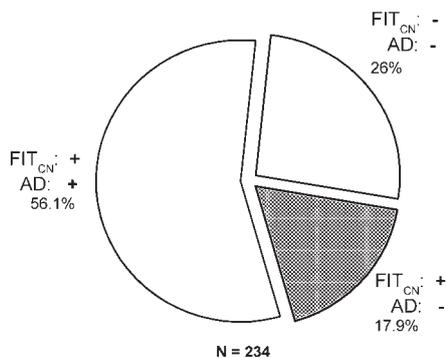


Abb 6 Verteilung der möglichen Reaktionsmuster von klinischer Ausprägung des Sommerekzems und spezifischer Sensibilisierung gegen *Culicoides nubeculosus* (9 Bestimmungen bei 26 Pferden im Verlauf eines Jahres). Von den hier untersuchten 26 Pferden zeigten 14 saisonal das Bild einer atopischen Dermatitis (AD: +), weitere 11 Individuen erschienen über den gesamten Untersuchungszeitraum gesund (AD: -), bei einem Proband wurde kurzzeitig Juckreiz festgestellt. In insgesamt 234 FIT-Untersuchungen war bei dreiviertel dieser Tiere eine spezifische Sensibilisierung (FIT: +) gegen Gnitzen nachweisbar (links und unten rechts), während ein Viertel zu allen Zeitpunkten negativ (FIT: -) reagierte (Sektor oben rechts).

*Distribution of possible reaction patterns combining clinical symptoms of IBH and specific sensitization against *Culicoides nubeculosus* in the FIT in one herd. Out of 234 determinations of equine peripheral blood in the FIT almost three quarters resulted in a positive sensitization (FIT: +). Not all of these horses were affected by IBH. Only one quarter of the tested horses showed a combination of missing atopic dermatitis (AD:-) and a negative result in the FIT.*

de ohne klinische Ausprägung einer atopischen Dermatitis (AD: -) und ohne eine spezifische Sensibilisierung ihrer Basophilen gegen Insektenantigene (FIT: -). Pferde ohne klinische Ausprägung einer atopischen Dermatitis (AD: -) jedoch einer spezifischen Sensibilisierung ihrer Basophilen gegen Insektenantigene (FIT: +). Ob und wann diese Tiere an einem Sommerekzem erkrankten, konnte in dieser Studie nicht geklärt werden. Dabei wurden einzelne Tiere wiederholt im FIT überprüft, mit übereinstimmenden Resultaten. Exemplarisch wurde diese Einteilung an 26 Pferden zu neun Terminen verifiziert.

Literatur

- Akdis M. (2006) Healthy immune response to allergens: T regulatory cells and more. *Curr. Opin. Immunol.* 18, 738-744
- Baker K. P. und Quinn P. J. (1978) A report on clinical aspects and histopathology of sweet itch. *Equine Vet. J.* 10, 243-248
- Björnsdóttir S., Sigvaldadóttir J., Broström H., Langvad B. und Sigursson Á. (2006) Summer eczema in exported Icelandic horses: influence of environmental and genetic factors *Acta Vet. Scand.* 48, 3
- Boralevi F., Hubiche T., Léauté-Labrèze C., Saubusse E., Fayon M., Roul S., Maurice-Tison S. und Taieb A. (2008) Epicutaneous aeroallergen sensitization in atopic dermatitis infants - determining the role of epidermal barrier impairment. *Allergy* 63, 205-210
- Fadok V. A. und Greiner E. C. (1990) Equine insect hypersensitivity: skin test and biopsy results correlated with clinical data. *Equine Vet. J.* 22, 236-240
- Halldóttir S. und Larsen H. J. (1989) Intradermal challenge of Icelandic horses with extracts of four species of the genus *Culicoides*. *Res. in Vet. Science* 47, 283-287
- Hamza E., Wagner B., Jungi T.W., Mirkovitch J. und Marti E. (2007a) Reduced incidence of insect-bite hypersensitivity in Icelandic horses is associated with a down-regulation of interleukin-4 by interleukin-10 and transforming growth factor-beta1. *Vet. Immunol. Immunopathol.* ePub
- Hamza E., Doherr M. G., Bertoni G., Jungi T. W. und Marti E. (2007b) Modulation of allergy incidence in Icelandic horses is associated with a change in IL-4-producing T cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 144, 325-337
- Kaul S. (1998): Typ I Allergien beim Pferd: Prinzipielle Entwicklung eines funktionellen in vitro Nachweises. *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Lange S., Hamann H., Deegen E., Ohnesorge B. und Distl O. (2005) Untersuchung der Prävalenz des Sommerekzems beim Islandpferd in Norddeutschland. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 118, 481-489
- Matthews A. G., Imlah P. und McPherson E. A. (1983) A reagin-like antibody in horse serum: 1. Occurrence and some biological properties. *Vet. Res. Commun.* 6, 13-23
- Purse B. V., Mellor P. S., Rogers D. J., Samuel A. R., Mertens P. P. C. und Baylis M. (2005) Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe *Nature Reviews Microbiology* 3, 171-181
- Riek R. F. (1953) Studies on allergic dermatitis (Queensland Itch) of the horse. Description, distribution, symptoms and pathology. *Aust. Vet. J.* 29, 177-184
- Rohwer J. (2004) Untersuchungen zur Typ I Allergie des Pferdes: Phänotypische Charakterisierung equiner Typ I Effektorzellen und ihre Antikörper vermittelte Modulation *Vet. Med. Diss. Hannover*
- Schmidt W. P. (2004) Model of the epidemic of childhood atopy. *Med. Sci. Monit.* 10, HY5-9
- Thestrup-Pedersen K. (2003) Atopic eczema. What has caused the epidemic in industrialised countries and can early intervention modify the natural history of atopic eczema? *J. Cosmet. Dermatol.* 2, 202-210

Dr. Jens Rohwer
Institut für Immunologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
cognition@gmx.net