

Aus der Klinik für Pferde
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Inhalationsprovokationstest mit spezifischen Allergenen bei Pferden
mit „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Daniela Lindner, geb. Nömaier
Tierärztin
aus Burghausen

Berlin 2016

Journal-Nr. 3861

Gedruckt mit der Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen
Zweiter Gutachter:	PD Dr. Sebastian Arlt
Dritter Gutachter:	PD Dr. Friederike Stumpff

Deskriptoren: horses, airway obstruction (MeSH), allergies, allergens, skin tests, inhalation, bronchoalveolar lavage, bronchial provocation tests (MeSH), ELISA, cytology

Tag der Promotion: 16.09.2016

In Liebe für meine Eltern, meinen Mann und meinen Sohn

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Recurrent Airway Obstruction	3
1.1.	Definition	3
1.2.	Epidemiologie und Vererblichkeit	4
1.3.	Ätiologie.....	5
1.4.	Pathogenese.....	6
1.5.	Immunologie	7
1.6.	Anamnese und Klinische Untersuchung	9
1.7.	Endoskopische Untersuchung	9
1.8.	Arterielle Blutgasanalyse	10
1.9.	Intrapleurale Druckmessung	11
1.10.	Histamin-Inhalations-Provokationstest	13
2.	Allergie	14
2.1.	Allergietypen.....	14
2.1.1.	Typ I (anaphylaktische oder IgE vermittelte Reaktion)	14
2.1.2.	Typ II (zytotoxische Reaktion)	15
2.1.3.	Typ III (Immunkomplex-Reaktion)	15
2.1.4.	Typ IV (zelluläre Überempfindlichkeit)	15
2.1.5.	Typ V.....	16
2.1.6.	Typ VI	16
2.1.7.	Welchem Allergietyp entspricht die RAO?	16
2.2.	Allergiediagnostik beim Pferd	18
2.2.1.	In vitro Tests.....	18
2.2.1.1.	Tests an vitalen Zellen.....	18
2.2.1.2.	Serologische Tests.....	19
2.2.2.	In vivo Tests / Provokationstests.....	19
2.2.2.1.	Intrakutantest (IKT).....	19
2.2.2.2.	Provokations-Inhalation	20

III.	MATERIAL UND METHODEN	22
1.	Patientengut	22
2.	Methode.....	24
2.1.	Untersuchungen am Pferd	25
2.1.1.	Vorbericht.....	25
2.1.2.	Klinische Untersuchung und Differentialblutbild	25
2.1.3.	Blutgasanalyse.....	25
2.1.4.	Tracheobronchoskopische Untersuchung	27
2.1.5.	Bronchoalveoläre Lavage.....	29
2.1.6.	Bewertung der Untersuchungsergebnisse	31
2.2.	Allergietests.....	32
2.2.1.	Intrakutantest.....	32
2.2.2.	Fc-Epsilon-Rezeptortest	35
2.2.3.	IBL- Hamburg (IgE).....	37
2.2.4.	FIT	39
2.3.	Provokationstests.....	41
2.3.1.	Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT).....	41
2.3.1.1.	Testlösungen.....	41
2.3.1.2.	Vernebler und Inhalationsmaske	41
2.3.1.3.	Lungendruckmessung.....	43
2.3.1.4.	Durchführung	45
2.3.2.	Allergen-Inhalations-Provokations-Test (AIPT).....	45
2.4.	Statistische Untersuchungen	47
IV.	ERGEBNISSE	48
1.	Ergebnisse der Untersuchungen am Pferd	48
1.1.	Allgemeine Angaben zur Studienpopulation	48
1.2.	Ergebnisse des Vorberichts	48
1.3.	Ergebnisse der erweiterten klinischen Untersuchung und Differentialblutbild.....	49
1.4.	Ergebnisse der Blutgasanalyse	50
1.5.	Ergebnisse der Tracheobronchoskopie.....	51

Inhaltsverzeichnis

1.6.	Ergebnisse der zytologischen Untersuchung von TBS und BAL	52
1.7.	Bewertung der Ergebnisse.....	53
2.	Ergebnisse der Allergietests	54
2.1.	Ergebnisse des Intrakutantests	54
2.2.	Ergebnisse des Fc-ε-Rezeptortests	56
2.3.	Ergebnisse des FIT	58
2.4.	Ergebnisse des Allergie-40 Profil IgE (Pferd) ELISA	60
2.5.	Vergleich der Allergietests.....	62
3.	Ergebnisse der Provokationstests	65
3.1.	Ergebnisse des Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT)	65
3.2.	Ergebnisse des Allergen-Inhalations-Provokations-Tests (AIPT)	67
V.	DISKUSSION	68
1.	Auswahl und Einteilung der Pferde nach dem Score-System.....	68
2.	Diskussion der Ergebnisse aus den Allergietests.....	68
2.1.	Diskussion der Ergebnisse aus dem Intrakutantest	68
2.2.	Diskussion der Ergebnisse aus dem FIT	72
2.3.	Diskussion der Ergebnisse aus dem FcEpsilon-RT und dem IBL	74
2.4.	Vergleich der Allergietests.....	75
3.	Diskussion der Ergebnisse der Provokations-Inhalationen	77
3.1.	Durchführung und Ergebnisse des Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT)	77
3.2.	Durchführung und Ergebnisse des Allergen-Inhalations-Provokations-Test (AIPT)	78
5.	Schlussfolgerung und Ausblick	82
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	83
VII.	SUMMARY.....	85
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	87

IX.	ANHANG	101
1.	Informationsblatt und Einverständniserklärung.....	101
2.	Untersuchungsprotokolle.....	104
2.1.	Vorbericht.....	104
2.2.	Klinische Untersuchung	106
2.3.	Endoskopie	108
2.4.	Intrakutantest	110
2.5.	Histamin-Inhalations-Provokationstest (HIPT)	112
2.6.	Allergen-Inhalations-Provokationstest (AIPT)	113
3.	Auflistung aller Ergebnisse	114
4.	Abbildungverzeichnis	125
X.	LEBENS LAUF	126
XI.	DANKSAGUNG	127
XII.	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	128

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AaDO ₂	Alveoloarterielle Sauerstoffdruckdifferenz
Abb.	Abbildung
AIPT	Allergen-Inhalations-Provokations-Test
AnGAP	Anionenlücke
b	Beats (Schläge)
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveolar Lavage Fluid
BE	Base Excess
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COB	chronisch obstruktive Bronchitis
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CXCL	Chemokine (C-X-C motif) Ligand
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ERU	Equine rezidivierende Uveitis
et al.	et alii (und andere)
F	Faktor
FIT	Funktioneller in Vitro Test
F _i O ₂	prozentualer Anteil des Sauerstoffs in der Inspirationsluft
ggr.	geringgradig
HIPT	Histamin-Inhalations-Provokations-Test
hgr.	Hochgradig
IAD	Inflammatory Airway Disease
IBH	Insect Bite Hypersensitivity
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL4R	Interleukin 4 Rezeptor
IKT	Intrakutantest
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
mind.	mindestens
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
N	Anzahl
neg.	negativ
μl	Mikroliter

Abkürzungsverzeichnis

O ₂	Sauerstoff
P	Druck
p	Signifikanzniveau
pAO ₂	alveolärer Sauerstoffpartialdruck
p _a CO ₂	arterieller CO ₂ -Partialdruck
P _B	aktueller Barometerdruck
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PHA	Phytohemagglutinin
pH ₂ O	Wasserdampfdruck
PR	Positives Resultat
RAO	Recurrent Airway Obstruktion
SP-RAO	Summer Pasture-Associated Recurrent Airway Obstruktion
Th	T-Helferzelle
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumor Nekrose Faktor
ΔPpl	maximale interpleurale Druckdifferenz

I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die chronisch obstruktive Bronchitis (COB) gilt weltweit als die häufigste Atemwegserkrankung erwachsener Pferde (EHRMANN et al., 2011). Das klinische Bild reicht von klinisch unauffällig bis hin zu hochgradiger Dyspnoe. Im englischen Sprachgebrauch wird die COB nach neuerer Definition als „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO) bezeichnet. Die RAO ist so definiert, dass sich das klinische Erscheinungsbild der betroffenen Individuen bei Heustaubexposition deutlich verschlechtert (Exazerbation) und nach mehrwöchigem Weidegang eine Verbesserung bis hin zur klinischen Remission eintritt (ROBINSON, 2001). Von der RAO abzugrenzen ist die „Inflammatory Airway Disease“ (IAD), die vor allem bei jüngeren Hochleistungspferden auftritt und meist lediglich durch eine Leistungsintoleranz auffällt. Bei Pferden mit IAD können ebenfalls Symptome wie Husten und Nasenausfluss auftreten, im Gegensatz zur RAO zeigen sie allerdings keine Ruhedyspnoe (COUETIL et al., 2007).

Die RAO wird meist als eine Überreaktion der Lunge auf Heustaub und Schimmelsporen bezeichnet. Unklar bleibt jedoch, warum bei identischen Haltungsbedingungen in einem Stall manche Pferde erkranken, andere jedoch lebenslang keine Symptome entwickeln. Eine genetische Prädisposition dafür ist zumindest in einigen Familien vorhanden. Häufig werden auch sogenannte Triggermechanismen wie zum Beispiel unzureichend rehabilitierte Viruserkrankungen im Jugendalter für die Ausprägung einer RAO verantwortlich gemacht.

Trotz des Konsens, dass Pferde mit RAO möglichst staubarm mit viel Frischluft gehalten werden sollten, werden in der Praxis immer häufiger Patienten vorstellig, bei denen trotz optimierter Haltungsbedingungen keine Besserung der klinischen Symptome eintritt. Bei einigen Pferden verschlechtert sich der Zustand sogar bei Weidehaltung. Manche Besitzer berichten, dass ihr Pferd immer zu bestimmten Jahres- oder Pollenflugzeiten hustet. So hält SCHATZMANN (1970) bei 10 % der chronisch lungenkranken Pferde eine rein exogen-allergische Ursache für möglich. ABDEL-SALAM (1989) stuft 46,5% der von ihm untersuchten an COPD („chronic obstructive pulmonary disease“) erkrankten Pferde auf Grund der Zytologie des Tracheobronchialsekrets als allergieverdächtig ein, während laut

GERBER (1980) sogar 75% der Pferde mit chronischem Husten an einer allergisch bedingten Krankheit leiden.

Daher stellt sich die Frage ob es sich bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen bei Pferden tatsächlich immer um das gleiche Krankheitsgeschehen mit der gleichen Genese handelt.

In dieser Arbeit soll deshalb untersucht werden ob eine allergische Ursache bei betroffenen Pferden gefunden werden kann und ob die Bronchialobstruktion auf ein bestimmtes Allergen durch eine gezielte Allergen-Inhalation provoziert werden kann. Weiter soll evaluiert werden, welcher Allergietest am Sensitivsten für die Erkennung eines allergieauslösenden inhalativen Allergens bei einer allergisch induzierten Bronchitis beim Pferd ist.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Recurrent Airway Obstruction

1.1. Definition

Der Begriff „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO) wird seit dem internationalen Workshop on Equine Chronic Airway Disease im Jahre 2000 (veröffentlicht durch ROBINSON, 2001) verwendet und ersetzt die bis dato üblichen Bezeichnungen wie COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease), COB (Chronic Obstructive Bronchitis) und Heaves (Dämpfigkeit, Lungendampf). Sie ist als eine nicht infektiöse, unheilbare Atemwegserkrankung des Pferdes definiert, die sich bei Exposition von staubigem und schimmeligem Heu und Einstreu verschlechtert und bei ausschließlicher Weidehaltung bis hin zur klinischen Remission verbessert (ROBINSON, 2001). Erkrankte Pferde entwickeln eine Bronchokonstriktion und eine neutrophile Entzündung der Atemwege mit Symptomen wie Husten, Nasenausfluss, Leistungsintoleranz, Dyspnoe bis hin zu Nüsternblähen, Afteratmung und der Entwicklung einer sichtbaren „Dampf Rinne“ (MORAN et al., 2011). Bei der zytologischen Untersuchung des Tracheobronchialsekrets (TBS) und der bronchoalveolaren Lavage (BAL) überwiegt ein neutrophiles Entzündungsbild mit deutlicher Hypersekretion.

Als „Weideform“ der RAO wird die „Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease“ (SP-AOPD) bezeichnet, bei der die Krankheitssymptome im Gegensatz zur herkömmlichen RAO nach längerem Weideaufenthalt auftreten. Dieses Krankheitsbild ist deutlich seltener und wurde vor allem in Amerika in den Bundesstaaten Florida, Georgia, Louisiana und Mississippi, aber auch in England und Irland beobachtet. Am häufigsten treten die Symptome im Juni auf (ca. 50% der Krankheitsausbrüche), was auf die starke Hitze kombiniert mit erhöhter Luftfeuchtigkeit zurück zu führen ist, die wiederum zu einer vermehrten Bildung von Pilzsporen führen (COSTA et al., 2006). Die Krankheitssymptome entsprechen denen der RAO und sind klinisch nicht zu unterscheiden.

Von der RAO wird die „Inflammatory Airway Disease“ (IAD) abgegrenzt, die gewöhnlich eher jüngere Pferde betrifft. Bis zum jetzigen Zeitpunkt herrscht Unklarheit darüber, ob es sich bei der IAD um ein eigenständiges Krankheitsbild

oder um eine Vorstufe der RAO handelt. Die klinische Symptomatik ist hierbei deutlich geringer ausgeprägt und fällt daher häufig nur bei Rennpferden durch eine Leistungsintoleranz auf. Ein weiteres Kriterium für das Vorliegen einer IAD ist ein mäßig erhöhter Gehalt (5-20%) an nicht septischen Entzündungszellen in der BAL. Husten und eine erhöhte Menge von Tracheobronchialsekret kann, muss aber nicht vorliegen. Im Gegensatz zur RAO kann die IAD vollständig ausheilen. In einigen Fällen bleibt sie allerdings bestehen oder kann in eine RAO übergehen. Pferde mit IAD zeigen als Abgrenzung zur RAO keine Ruhedyspnoe. (COUETIL et al., 2007, LAVOIE et al., 2011).

1.2. Epidemiologie und Vererblichkeit

Aktuelle epidemiologische Studien über das Vorkommen der RAO in Westeuropa sind leider eher spärlich. HOTCHKISS et al. (2006) schätzen die Prävalenz mit Hilfe eines validierten Fragebogens in Großbritannien auf 14 %, laut GERBER et al. (2014) leiden in der nördlichen Hemisphäre 7-20 % der adulten Pferde an RAO. Frühere Studien über die Häufigkeit der Erkrankung ergaben zum Teil deutlich höhere Ergebnisse, allerdings lagen diesen Untersuchungen sehr unterschiedliche Kriterien zu Grunde. Nach REITEMEYER (1983) wiesen 83 % der als gesund vorgestellten Pferde einer Auktion Anzeichen einer COB auf, in einer Studie an Schweizer Armeepferden waren 54 % der Pferde erkrankt (BRACHER et al., 1991), und SASSE et al. (1985) fanden in Untersuchungen in Reitställen quer durch die Niederlande bei 5 % der Pferde klinische Anzeichen einer Erkrankung, aber bei 33,3 % der Pferde Sekret in der Trachea. Diese Ergebnisse stehen mit Untersuchungen von WINDER und VON FELLEBERG (1987) in Einklang, wonach 37,4 % aller Schlachtpferde histologisch Anzeichen einer chronischen Bronchiolitis aufwiesen. GERBER et al. (2003) fanden in einer Studie an für gesund gehaltenen Sportpferden, die in Innenboxen auf Stroh gehalten wurden, bei allen untersuchten Pferden Hinweise auf eine subklinische Inflammatory Airway Disease.

Für die Erkrankung, früher als „Lungendampf“ bekannt, wurde schon früh eine genetische bzw. familiäre Komponente als Basis vermutet (SCHAEFER, 1939). Eine erblich bedingte erhöhte Empfänglichkeit für die Erkrankung wurde seitdem von vielen Autoren beschrieben (GERBER et al., 2009; MARTI et al., 1991; RAMSEYER et al., 2007). Es ist nachgewiesen, dass Pferde, bei denen beide Elterntiere an COB leiden ein höheres Erkrankungsrisiko aufweisen als Pferde mit

nur einem oder keinem erkrankten Elternteil. Gerber et al. (2009) konnten mit Hilfe eines Fragebogens in einer Familie einen autosomal-rezessiven Erbgang und in einer anderen Familie einen autosomal-dominanten Erbgang identifizieren. Die Vererbbarkeit ist jedoch sehr komplex und polygenetisch (GERBER et al., 2014). So spielt zumindest in einigen Fällen der Interleukin 4 Rezeptor (IL4R) eine Rolle (KLUKOWSKA-ROTZLER et al., 2012; RACINE et al., 2011). In anderen Studien an Familien mit einer hohen Prävalenz für RAO wurde eine Assoziation zwischen RAO, einer verminderten Ausscheidung von Strongylideneiern und einem erhöhten Risiko für allergische Hauterkrankungen nachgewiesen (GRAUBNER et al., 2012; SCHLEUNIGER et al., 2011; NEUHAUS et al., 2010; JOST et al., 2007). Die Autoren gehen von einer genetisch bedingten erhöhten Resistenz gegenüber intestinalen Parasiten aus und bezeichnen dieses Phänomen als „inverse Beziehung“ zwischen Parasitenabwehr und erhöhter Neigung zu Allergien. Der Zusammenhang lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass die Hauptaufgabe des Immunglobulin E (IgE) in der Abwehr von Endoparasiten liegt. Ob das vermehrte Auftreten von Allergien in den letzten Jahrzehnten mit dem Rückgang der parasitären Belastung zu erklären ist („Hygiene-Hypothese“) oder vielmehr eine genetische Varianz darstellt bleibt noch zu klären.

1.3. Ätiologie

Zusätzlich zu der genetischen Prädisposition ebnen häufig auch bakterielle Erkrankungen und Virusinfektionen des Respirationstrakts das Feld als Wegbereiter für spätere Überempfindlichkeitsreaktionen (GEHLEN & MAY, 2011; FEY, 2006). Der Exposition von organischem Staub in Einstreu und Futter sowie der Ammoniakkonzentration des Stallklimas kommen jedoch eine zentrale Rolle für die Ausprägung der Krankheit zuteil. Zahlreiche potentielle proinflammatorische Partikel wie bakterielle Endotoxine, über 50 verschiedene Schimmelpilzspezies, Peptidoglykane, Proteasen, mikrobielle Toxine, Futtermilben, Pflanzenpartikel und anorganischer Staub wurden im Stallstaub nachgewiesen (PIRIE, 2013; MC GORUM et al., 2008). Der Zusammenhang zwischen der Ausprägung von RAO und der Fütterung von schimmeligem Heu wurde in zahlreichen Studien bestätigt. PIRIE et al. demonstrierten sowohl in einer Studie mit der Exposition von natürlichem Heu und Stroh (2003) als auch bei der Inhalation einer Heustaub-Suspension (2002) eine Assoziation zwischen dem Schweregrad der neutrophilen Antwort bei RAO-Pferden und der

Konzentration der Schimmelsporen. MCGORUM et al. (1993) und MCPHEARSON et al. (1979) zeigten, dass sowohl die Inhalation von einem Extrakt aus *Aspergillus fumigatus* als auch aus *Faenia rectivirgula* eine neutrophile Entzündung der Atemwege mit pulmonaler Dysfunktion bei asymptomatischen RAO-Pferden hervorruft, nicht jedoch bei den Kontrollpferden. Im Gegensatz dazu erzeugten DERKSEN et al. (1988) bei einer Inhalationsstudie mit *Faenia rectivirgula* sowohl bei asymptomatischen RAO-Pferden als auch bei der Kontrollgruppe eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten der Atemwege. Ähnliche Ergebnisse erzielten BEELER-MARFISI et al. (2010) bei der Inhalation einer Suspension aus Pilzsporen, Lipopolysacchariden und *Silica microsphaeren*, die ebenfalls bei gesunden wie bei RAO-Pferden eine neutrophile Antwort auslöste. PIRIE (2013) sieht die ätiologische Rolle von inhalierten Schimmelpilzen als die Hauptursache für die Ausprägung einer RAO, wobei der Grad der Erkrankung wohl auch durch andere organische Staubpartikel, allen voran Endotoxine und Faktoren wie kalte, trockene Luft und schädliche Gase verschlechtert wird.

1.4. Pathogenese

Unabhängig von der Ätiologie der Erkrankung ist nach DEEGEN (1992) eine Einengung der Bronchien und Bronchioli durch die drei Hauptmechanismen Bronchospasmus, Dyskrinie und Schleimhautschwellung die wichtigste pathologische Veränderung. Dies geschieht einerseits durch die Hyperreagibilität der Atemwege, andererseits durch eine Störung der mukoziliären Clearance. Bei gesunden Pferden wird der dem Flimmerepithel aufliegende Schleim zum größten Teil von submukösen Drüsen und in geringem Anteil von Becherzellen produziert und durch Flimmerzellen oral abtransportiert. Die Schleimschicht besteht aus einer wässrigen Solphase, in die die Zilien des Epithels hineinragen und einer darüber liegenden viskösen Gelphase, in der inhalierte Partikel und Zelldetritus festgehalten werden können (TRAUB, 2005). Bei einer chronischen Bronchitis verändert sich die Epithelauskleidung der bronchialen Atemwege. Es kommt zu einer Vermehrung der Becherzellen bis in die Bronchiolen, einer Abnahme der schleimproduzierenden Clara-Zellen und zu einem Zilienverlust des Flimmerepithels, der durch die Schädigung durch eventuell vorangegangene Infekte noch verstärkt sein kann. Der Wimpernschlag der Zilien sistiert, wenn zu wenige Zilien vorhanden sind, die Gelphase zu zähflüssig wird oder ein freier

Rückschlag nicht möglich ist, weil die Solphase von der Gelphase erdrückt wird (SASSE, 1995). Mastzellen, Lymphozyten, neutrophile und eosinophile Granulozyten wandern dann durch das Epithel ein und können so zu einer Weitung der Interzellularspalten beitragen. Der andauernde Entzündungsreiz durch die von diesen Zellen produzierten Zytokine kann zu einer Fibrosierung der Alveolarsepten und zur Entwicklung eines Bronchialödems führen. Hinzu kommt häufig eine unzureichende Bewegung der Pferde und somit ein Fehlen der positiv adrenergen Stimulation der mukoziliären Clearance und der Bronchodilatation durch körperliche Belastung (DEEGEN et al., 1987). Durch die übermäßige Bereitschaft der Atemwege erkrankter Pferde auf inhalierte Noxen mit einem Bronchospasmus zu reagieren, entsteht eine Hypertrophie der Bronchialmuskulatur. Ohne Therapie oder Änderung der Haltungsbedingungen erhalten und verschlimmern sich die genannten pathomorphologischen Veränderungen gegenseitig, bis die Bronchialobstruktion schließlich in einen irreversiblen Zustand übergeht (DEEGEN, 1992). Darüber hinaus kann bei einer schweren Bronchialobstruktion die Atemluft bei der Expiration nicht mehr vollständig entweichen, es kommt zum so genannten „Air Trapping“-Phänomen. Dabei wird Luft in den distalen Alveolen eingeschlossen, in den betroffenen Lungenbereichen kann daher kein Gasaustausch mehr stattfinden. „Air Trapping“, der Elastizitätsverlust der Lunge durch die beschriebene Fibrosierung und die dadurch notwendige forcierte Expiration führen zur irreversiblen Emphysembildung (ROBINSON, 2006; AINSWORTH und CHEETHAM, 2010)

1.5. Immunologie

Die genauen immunologischen Mechanismen, die zur Ausprägung einer RAO führen sind bislang noch nicht vollständig geklärt, jedoch unterstützen zahlreiche Studien die Beteiligung einer Hypersensitivitätsreaktion (ROBINSON et al., 1996). Diese ist durch eine gestörte Th1/Th2-Balance charakterisiert, bei der sich die bei gesunden Pferden vorwiegende Th1-Antwort hin zu einer vermehrten Th2-Antwort mit vermehrter Th2-Zytokinbildung verschiebt. (HOROHOV et al., 2009). Interleukin-12 (IL-12) stimuliert Th1-Zellen, die daraufhin u.a. Interferon- γ , Interleukin-2 (IL-2) und IL-8 produzieren und eine durch Makrophagen dominierte zelluläre Immunantwort auslösen. Dagegen werden naive T-Helferzellen durch IL-4 zur Differenzierung zu Th2-Zellen stimuliert und bilden daraufhin IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13 und leiten damit eine vorwiegend

Antikörper-dominierte humorale Immunantwort ein (REYNER et al., 2009). IL-4 regt außerdem B-Lymphozyten dazu an Antikörper vom IgE und IgG-Typ herzustellen, während Interferon- γ die Produktion solcher Antikörper hemmt und dafür die Ausbildung nicht-sensibilisierender Antikörper fördert (TRAUB, 2005). Die so produzierten Antikörper binden hochaffin an die membranständigen Fc ϵ -Rezeptoren (binden IgE) oder an Fc γ -Rezeptoren (binden IgG) von Mastzellen und basophilen Granulozyten. Dadurch kommt es bei Allergenkontakt zur Kreuzvernetzung der IgE-Moleküle und somit zur Aktivierung dieser Zellen. Diese reagieren nun einerseits mit Degranulation der gespeicherten Mediatoren wie Histamin, Heparin und Zytokinen, andererseits werden Leukotriene und Prostaglandine erst neu gebildet – und können so zu einer bis zu mehreren Stunden verzögerten Ausprägung einer allergischen Reaktion führen. Durch diese Mediatoren werden weitere inflammatorische Leukozyten, wie z.B. eosinophile Granulozyten und Th2-Lymphozyten angelockt und führen bei andauernder Allergenexposition zur Aufrechterhaltung der Mastzellaktivierung. Die Folge ist eine chronische Entzündungsreaktion (JANEWAY et al., 2002). Zahlreiche Studien konnten eine übermäßige Expression von Th2-Zytokinen in der Lunge von RAO-Pferden nachweisen (CORDEAU et al., 2004; LAVOIE et al., 2001; HOROHOV et al., 2005). Die chronische Inhalation von Staubpartikeln bewirkt eine übermäßige Stimulierung der Makrophagen, die durch eine vermehrte Zytokinproduktion, vor allem durch Interleukin-8 (IL-8) chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten wirken (FRANCHINI et al., 1998). Nach Allergenkontakt kommt es innerhalb von sechs bis acht Stunden zur Einwanderung von neutrophilen Granulozyten in die Atemwege (ROBINSON, 2001). AINSWORTH konnte 2009 eine Beteiligung des neu entdeckten IL-17 an der Pathogenese der RAO nachweisen. IL-17, das von Th-17 Zellen gebildet wird, fördert durch die Steigerung der Produktion von Chemokinen wie Chemokine (C-X-C motif) Ligand 1 (CXCL1) und CXCL2, IL-8, “granulocyte colony-stimulating factor“ und TNF- α die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten an Schleimhaut-Oberflächen. Th-17 Zellen werden durch IL-6 stimuliert und durch IFN- γ und IL-4 gehemmt. Interleukin-23, das zur IL-12-Familie gehört, wird vor allem von aktivierten Makrophagen und dendritischen Zellen gebildet und spielt wiederum eine wichtige Rolle für das Langzeit-Überleben von Th-17 Zellen und somit für die Produktion von IL-17 (REYNER et al., 2009). Eine Aktivierung von IL-17 und IL-23 gilt als Zeichen einer chronischen Entzündung

von Schleimhäuten. In einer Studie von REYNER et al. (2009) konnten nach Inkubation von BAL-Zellen mit einer Heustaub suspension zwar eine gesteigerte Zytokinproduktion nachgewiesen werden, jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe.

1.6. Anamnese und Klinische Untersuchung

Die Erhebung des Vorberichts spielt bei der Untersuchung eines Pferdes mit RAO-Verdacht eine bedeutende Rolle. Eine länger als drei Monate anhaltende Hustensymptomatik, häufig auch nur bei Beginn der Belastung als sogenanntes „Abhusten“, vermehrter Nasenausfluss oder Anzeichen einer Leistungsinsuffizienz können deutliche Hinweise auf das Vorliegen einer chronischen Bronchitis darstellen. Saisonale oder haltungsbedingte Veränderungen der Symptome können hilfreiche Hinweise liefern.

Bei der chronisch-obstruktiven Bronchitis des Pferdes handelt es sich immer um eine Ausschlussdiagnose, bei der insbesondere akute oder chronisch-persistierende Infektionen ausgeschlossen werden müssen (FEY, 2006). Die klinischen Anzeichen einer RAO werden durch die überschießende Immunantwort und die daraus resultierende Bronchialobstruktion verursacht. Diese führt zu einer pulmonalen Ventilationsstörung, die sich in den verschiedenen Stadien von einer geringgradigen Leistungsintoleranz bis hin zur hochgradigen Ruhedyspnoe zeigen kann. Weitere klinische Symptome sind Husten, Nasenausfluss, erschwerte, abdominal betonte Ausatmung, Nüsternblähen in Ruhe, Afteratmung und eine Hypertrophie der schrägen Bauchmuskulatur (sichtbar als sogenannte „Dampfrinne“). Bei der Auskultation der Lunge kann v.a. bei der Expiration durch den erhöhten Luftwiderstand ein verschärftes Atemgeräusch hörbar sein. Dieses kann sich bis hin zu einem Giemen oder Rasselgeräusch darstellen, das durch den vermehrten und zähviskösen Schleim in den Atemwegen entsteht. Darüber hinaus kann bei Vorliegen eines Lungenemphysems ein vergrößertes Lungenfeld mit überlautem Schall bei der Perkussion der Lunge festgestellt werden.

1.7. Endoskopische Untersuchung

Die endoskopische Untersuchung der Atemwege gehört in der modernen Pferdemedizin zu den Standarduntersuchungen bei Patienten mit einer Atemwegsproblematik. Hilfreich ist diese Untersuchung vor allem zur Abklärung

von Atemgeräuschen, zur Identifizierung subklinischer RAO-Patienten, zur Kontrolle von Therapieerfolgen und zur Visualisierung der Problematik für den Tierbesitzer. Geachtet wird während der gesamten Untersuchung auf Schleimhautschwellung und -rötung, Sekretmenge und -viskosität sowie auf pathologische Abweichungen wie Zubildungen, Verletzungen oder Verfärbungen und Assymetrien. Typische Anzeichen für eine RAO sind eine Rötung und Schwellung der Schleimhäute und eine vermehrte Schleimbildung in der Trachea und den Bronchien. Für die Beurteilung der Sekretmenge und -viskosität gibt es verschiedene Befundschemata, wobei sich vor allem die Einteilungen nach OHNESORGE (1998) oder GERBER (2004) etabliert haben. Eine endoskopische Untersuchung bietet auch eine gute Gelegenheit für Probenentnahmen aus Tracheobronchialsekret (TBS) oder bronchioalveolarer Lavage Fluid (BALF) und deren weitere histologische, bakteriologische oder biochemische Untersuchung.

1.8. Arterielle Blutgasanalyse

Mit der arteriellen Blutgasanalyse lässt sich die Effektivität des Gasaustausches in der Lunge näher bestimmen. Hierfür ist die Gewinnung von arteriellem Blut notwendig. Die Blutentnahme erfolgt in der Regel durch Punktion der A. carotis communis dextra eine Hand breit oberhalb des Überganges der Vorderbrust in den Hals mit einer dünnlumigen Kanüle. Als physiologische Werte auf Meereshöhe gelten ein Sauerstoffpartialdruck (pO_2) von 100 ± 5 mmHg und ein Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO_2) von 40 ± 5 mmHg. Wenn bei physiologischem arteriellem pCO_2 der arterielle pO_2 unter Werte von 90 mmHg sinkt, liegt eine respiratorische Partialinsuffizienz und bei Werten unter 80 mmHg eine Hypoxämie vor (FEY, 2006). Erst infolge schwerwiegender Funktionsstörungen kommt es auch zum Anstieg des arteriellen Kohlenstoffdioxidpartialdrucks (Hyperkapnie), da die Diffusibilität des Kohlenstoffdioxides etwa zwanzigfach besser ist als die des Sauerstoffes. Beim gleichzeitigen Vorliegen einer arteriellen Hypoxämie und einer Hyperkapnie spricht man von einer respiratorischen Globalinsuffizienz (FEY, 2006).

Bei diesen Referenzbereichen muss allerdings berücksichtigt werden, dass Partialdrücke generell stark durch den aktuellen Luftdruck und die Körpertemperatur des Pferdes variieren können. Die aktuell rektal gemessene Körpertemperatur wird daher in der Regel in das Blutgasanalysegerät eingegeben.

Um einen von Wetter- und Luftdruckschwankungen unabhängigen, vergleichbaren Wert zu erhalten, kann die Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz ($AaDO_2$) berechnet werden (siehe Gleichung 1). Eine Druckdifferenz von ≤ 7 mmHg gilt als physiologisch, Werte über 20 mmHg deuten auf eine erhebliche Atemwegsobstruktion hin (FEY, 2006).

$$p_{AO_2} [mmHg] = (P_B [mmHg] - p_{H_2O} [mmHg]) \times F\dot{V}O_2 - p_aCO_2 \times F [mmHg]$$

$$A-aDO_2 [mmHg] = p_{AO_2} [mmHg] - p_aO_2 [mmHg]$$

p_{AO_2} : alveolärer Sauerstoffpartialdruck

P_B : aktueller Barometerdruck

p_{H_2O} : Wasserdampfdruck (= 47 mmHg)

$F\dot{V}O_2$: prozentualer Anteil des Sauerstoffs in der Inspirationsluft (bei Atmung von Raumluft immer 20,95%)

p_aCO_2 : arterieller CO_2 -Partialdruck

F : Faktor, der vom respiratorischen Quotienten des Probanden abhängt (in der Klinik vernachlässigbar)

p_aO_2 : arterieller O_2 -Partialdruck

$A-aDO_2$: Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz

Gleichung 1: Berechnung der alveolo-arteriellen Sauerstoffdruckdifferenz (nach Klein und Deegen 1986)

1.9. Intrapleurale Druckmessung

Bei lungenkranken Pferden muss für eine effektive Inspiration die aktive Thoraxerweiterung verstärkt werden, was zu einem inspiratorisch stärker sinkendem Druck im Interpleuralraum führt. Entsprechend steigt der Druck bei einer erschwerten Expiration, vor allem wenn eine aktive Kompression der Bauchmuskulatur für die Überwindung des Atemwegswiderstandes notwendig ist. Dadurch ist bei lungenkranken Pferden die maximale interpleurale Druckdifferenz (ΔP_{pl}) zwischen dem niedrigsten inspiratorischen und dem höchsten expiratorischen Interpleuraldruck im Vergleich zu lungengesunden Pferden erhöht. Als physiologische Druckdifferenz bei lungengesunden Pferden werden Werte zwischen 2 und 10 cm H_2O angegeben, die RAO ist ab einer

Druckdifferenz von mehr als 15 cm H₂O definiert (DEEGEN und KLEIN, 1987; COUETIL, 2006; ROBINSON, 2001).

Die indirekte Bestimmung des Interpleuraldrucks über eine druckempfindliche Ösophagussonde (DEEGEN und KLEIN, 1987; SASSE, 1971) ersetzt heute meist die früher verwendete, sehr invasive direkte Intrapleuraldruckmessung, bei der eine Kanüle in den Intrapleuralspalt eingebracht werden musste. Die Ergebnisse der indirekten Messung korrelieren gut mit denen der direkten und sind als adäquate Methode anerkannt (BOERMA et al., 1985; DERKSEN und ROBINSON, 1980; KLEIN und DEEGEN, 1987).

Auf eine Sedierung der Pferde während der Untersuchung sollte verzichtet werden, da die meisten Sedativa, insbesondere α 2-Agonisten, eine bronchodilatatorische Wirkung haben und somit eine Verfälschung der Messergebnisse bewirken. Das Anlegen einer Nasenbremse beeinflusst die Ergebnisse jedoch nicht entscheidend (DEEGEN und KLEIN, 1987).

Als weitere häufig verwendete Lungenfunktionstests sind die Pneumotachographie, die Spirometrie und die Plethysmographie zu nennen. Bei der Pneumotachographie wird die Atemstromstärke mit Hilfe eines kleinen mechanischen Widerstandes innerhalb eines Rohrs gemessen, mit der Spirometrie das Atemzugvolumen. Diese beiden Lungenfunktionsmessungen werden meist kombiniert durchgeführt. Hierzu wird dem Pferd eine luftdicht anliegende Atemmaske angelegt, welche die Atemluft des Pferdes durch den Pneumotachographen leitet. In Kombination mit der Intrapleuraldruckmessung (Iso-Volumen-Methode) können wichtige lungenfunktionsdiagnostische Parameter, wie der Atemwegswiderstand und die dynamische Compliance errechnet werden. Bei der Plethysmographie befindet sich der Proband in einer starren, luftdicht geschlossenen Kammer. Dabei werden Volumen- und Druckänderungen die durch die Atmung verursacht werden wahrgenommen. Dieses System wird ebenfalls häufig mit der Atmung durch einen Pneumotachographen kombiniert um gleichzeitig den Atemwegswiderstand bestimmen zu können. Da dieses Verfahren aus technischen Gründen in der Pferdemedizin kaum möglich ist, wurde die respiratorische induktive Plethysmographie aus der Humanmedizin für das Pferd etabliert. Hierbei werden die Volumenänderungen durch die Atemtätigkeit mit Hilfe von Sensoren an elastischen Gurten gemessen, die dem Pferd um den Thorax und das Abdomen

angelegt werden. Kombiniert man die respiratorische induktive Plethysmographie wiederum mit der Pneumotachygraphie wird diese Methode das „flow-metrische“ System genannt (KÜHN, 2004).

1.10. Histamin-Inhalations-Provokationstest

Der Histamin-Inhalations-Provokationstest dient zum Nachweis der unspezifischen Reagibilität der Atemwege. Hierbei inhalieren Pferde jeweils zwei Minuten lang Histaminlösungen in aufsteigenden Konzentrationen bis zu den ersten Anzeichen einer Dyspnoe (KLEIN und DEEGEN, 1986). Das inhalierte Histamin wirkt zum einen reflektorisch über eine Reizung des N. vagus, zum anderen direkt an den Histaminrezeptoren der Bronchialmuskulatur und löst dort über eine Stimulierung der H1-Rezeptoren einen Bronchospasmus aus (COCKCROFT et al., 1977). KLEIN und DEEGEN (1986) fanden bei gesunden Pferden keine erhöhte unspezifische Reagibilität, aber bei 25% aller geringgradigen und bei 100 % aller hochgradigen Patienten.

2. Allergie

Der Begriff "Allergie" leitet sich von den griechischen Wörtern *állos* = anders und *érgon* = Werk, Tätigkeit ab. Er wurde erstmals 1906 von dem Pädiater Clemens von Pirquet in der Münchener Medizinischen Wochenschrift verwendet, allergische Erkrankungen sind jedoch weit länger bekannt. So könnte der erste überlieferte Allergiker der Weltgeschichte Pharao Menses gewesen sein, der im Jahr 2641 v. Chr. an einem Wespenstich starb (RING, 2007).

Eine der grundlegenden Funktionen des Immunsystems ist die Unterscheidung von körpereigen und körperfremd sowie erlaubtem „Selbst“ und unerlaubtem „Selbst“, wie z.B. Krebszellen oder geschädigte Zellen. Funktioniert diese Kontrollfunktion nicht einwandfrei, besteht die Möglichkeit, dass die Antwort über das Ziel hinaus schießt. Diese überschießende Reaktion wird als Allergie bezeichnet. Ihre Symptome sind abhängig vom Reaktionsgrad der Effektorzellen und ihrer Wechselwirkung mit löslichen Stoffen (JANEWAY, 2005).

2.1. Allergietypen

Die Klassifikation der krank machenden Immunreaktionen in vier Allergietypen nach COOMBS und GELL (1968) nach ihren Pathomechanismen ist bis heute gültig. Ergänzt wurden sie später durch die Typen V für die granulomatöse und VI für die spezifisch pathogenen Antikörperwirkungen. Obwohl sie sich größtenteils auf Untersuchungen aus der Humanmedizin stützt, wurde die Klassifikation auch in die Veterinärmedizin übernommen.

2.1.1. Typ I (anaphylaktische oder IgE vermittelte Reaktion)

Die allergische Reaktion vom Typ-I umfasst die IgE-vermittelten Reaktionen und wird allgemein als Sofort-Typ-Reaktion bezeichnet. Klinische Erscheinungen treten meist innerhalb von 40 Minuten auf. In der Humanmedizin zählen hierzu die Anaphylaxie, die allergische Rhinokonjunktivitis, das allergische Asthma Bronchiale, die Urtikaria und die Nahrungsmittel- bzw. die Insektengift-Anaphylaxie. Pathophysiologisches Prinzip ist die Freisetzung vasoaktiver Mediatorsubstanzen (v.a. Histamin und Heparin), durch Verbindung („Bridging“) zweier IgE-Moleküle auf der Oberfläche von Mastzellen und basophiler Leukozyten durch das Allergen. Hierfür ist eine vorausgegangene Sensibilisierung und eine ausreichende Antikörper-Dichte auf den Typ-I-Effektorzellen notwendig.

Weitere Entzündungsmediatoren wie z.B. Leukotriene, werden daraufhin erst neu gebildet und bewirken so die verzögerte Form der Typ-I Allergie. Die Reaktion verläuft Komplement-unabhängig. Der anaphylaktische Schock, die Urtikaria und das Sommerexzem (Insect Bite Hypersensitivity) beim Pferd sind hier einzuordnen. Für weitere Krankheitsbilder wie die chronisch rezidivierende Konjunktivitis, Head-Shaking, allergische Durchfallerkrankungen und die RAO wird eine Typ-I-Genese diskutiert (HAMPEL et al., 2008; JANEWAY et al., 2002; LUNN u. HOROHOV, 2004; RING, 2007).

2.1.2. Typ II (zytotoxische Reaktion)

Typ-II-Reaktionen entstehen durch zytotoxische Antikörper, die gegen Oberflächendeterminanten von Zellen gerichtet sind und unter Komplementverbrauch eine Zell-Lyse verursachen. Beispiele hierfür sind Blutgruppenunverträglichkeiten, bestimmte Formen hämolytischer Anämie und Arzneimittelunverträglichkeiten, bei denen Arzneimittelbestandteile z.B. an Leukozyten oder Thrombozyten-Oberflächenstrukturen binden und so eine allergische Agranulozytose oder Thrombozytopenie verursachen. Die hämolytische Anämie nach Penicillininjektion ist ein Beispiel für eine Typ-II Reaktion beim Pferd (LUNN u. HOROHOV, 2004; RING, 2007).

2.1.3. Typ III (Immunkomplex-Reaktion)

Hierbei aktivieren Immunkomplexe das Komplementsystem sowie neutrophile Granulozyten und Thrombozyten. Klinisch werden nach dem zeitlichen Ablauf zwei Typen unterschieden: die Sofortreaktion als die sogenannte „Immunkomplex-Anaphylaxie“ und die Serumkrankheit mit Fieber, Vaskulitis, Nephritis, Arthritis und Urtikaria als Folge von Ablagerungen zirkulierender Immunkomplexe, wie z.B. die „Serum Sickness“ (Theiler`s disease) und „Farmer`s Lung“ (LUNN u. HOROHOV, 2004; RING, 2007).

2.1.4. Typ IV (zelluläre Überempfindlichkeit)

Die Allergie Typ-IV, auch als Spättyp-Reaktion bezeichnet, umfasst Reaktionen durch sensibilisierte Lymphozyten und basiert auf rein zellulären Immunmechanismen ohne Beteiligung von Antikörpern. Die antigenspezifischen T-Zellen, die nach dem Erstkontakt mit dem von entsprechenden Zellen präsentierten Antigen produziert werden, lösen bei erneutem Kontakt eine infiltrative Entzündung des Gewebes aus. In der Humanmedizin werden als

Beispiele das allergische Kontaktekzem, das chronisch atopische Ekzem und das chronische eosinophile Asthma genannt. Die Tuberkulinreaktion in der Rindermedizin und die ERU (Equine rezidivierende Uveitis) des Pferdes sind ebenfalls hier einzuordnen (JANEWAY et al., 2002; RING, 2007).

2.1.5. Typ V

Dieser Typ beschreibt ausschließlich granulomatöse Reaktionen z.B. auf Injektionen, die sich histologisch durch Epitheloidzellgranulome auszeichnen (RING, 2007).

2.1.6. Typ VI

Als Typ VI wurde eine krank machende Immunreaktion beschrieben, die durch die spezifische Antikörperwirkung zustande kommt, wie z.B. bei Autoimmunerkrankungen (RING, 2007).

2.1.7. Welchem Allergietyp entspricht die RAO?

Die Einteilung nach COOMBS und GELL (1968) ist rein didaktischer Natur. Im lebenden Organismus kann es hierbei zu Überschneidungen der Allergietypen kommen. Welcher Allergietyp bei der RAO des Pferdes vorherrscht, ist bislang umstritten. Die RAO des Pferdes ähnelt in seiner klinischen Ausprägung stark dem allergischen Asthma des Menschen, bei dem es sich um eine reine Typ-I Überempfindlichkeitsreaktion handelt. Beim Pferd ist eine reine allergische Reaktion vom Soforttyp (Typ-I) allerdings eher unwahrscheinlich, da bei RAO-Pferden nach Allergenkontakt die klinische Symptomatik meist erst nach einer Verzögerung von mehreren Stunden auftritt (HOROHOV, 2009; GEHLEN und MAY, 2011). Nach Allergenprovokationen konnte weder eine gesteigerte Histaminkonzentration in der BAL noch ein akuter Bronchospasmus nachgewiesen werden (MC GORUM et al., 1993; DEATON et al., 2007). Auch IgE lässt sich nach GEHLEN und MAY (2011) nicht in allen Fällen als Allergievermittelndes Immunglobulin nachweisen. Das deckt sich mit den Erkenntnissen von KUNZLE et al. (2007) und VAN DER HAEGEN et al. (2005), die bei RAO-Pferden weder eine erhöhte Anzahl an gebundenen IgE im Lungengewebe noch in der bronchoalveolaren Lavage nachweisen konnten. Im Unterschied dazu konnten HALLIWELL et al. (1993) und SCHMALLENBACH et al. (1998) signifikante Level von IgE in den Atemwegen betroffener Pferde nachweisen. LEIBOLD (2003) sieht bei allergischen Lungenerkrankungen sehr wohl eine Typ-1 Allergie

im Vordergrund. Er erklärt die kontroversen Ergebnisse damit, dass dieser Allergietyp nicht durch freie Antikörper, sondern ausschließlich durch basophile Granulozyten und Mastzellen ausgelöst wird, die durch Bindung der entsprechenden Antikörper an ihren Oberflächenrezeptoren sensibilisiert sind. Die In-Vitro Stimulation von peripheren basophilen Granulozyten und Mastzellen, den Effektorzellen der Typ-I Allergie, wurde ausführlich als eine geeignete Methode für die Identifizierung einer Sensibilisierung gegenüber Allergenen beschrieben, die eine Rolle für die Pathogenese der RAO spielen (DIRSCHERL et al., 1993; HARE et al., 1999; MORAN et al., 2012). NIEDZWIEDZ et al. (2014) und MORAN et al. (2011) sehen vor allem die Typen-I und III als vorherrschende Mechanismen, während MC GORUM et. al (1993) und WATSON et. al (1997) der RAO in erster Linie eine verspätete Immunantwort zu Grunde legen. Sie argumentieren, dass hierbei neutrophile Granulozyten in den Atemwegen angereichert werden und ein vermehrter CD4+ T Zellgehalt in der BAL, jedoch nicht im Serum gemessen werden kann. Ob es sich hierbei allerdings um T-Helferzellen (Th) 1 oder Th 2 oder eine Kombination aus beiden handelt bleibt laut den Autoren bislang ungeklärt. GEHLEN und MAY (2011) gehen ebenfalls von einer IgE-unabhängigen Typ-IV Immunreaktion aus, während HOROHOV et al. (2009) eine Kombination von Typ-I und Typ-IV Reaktion für die Erkrankung verantwortlich machen. Daher bleibt die Frage, ob die RAO des Pferdes eindeutig einem oder mehreren Allergietypen zuzuordnen ist, weiterhin ungeklärt. Auch bleibt weiterhin zu klären, ob die RAO nicht als Symptomenkomplex einer Krankheit anzusehen ist, die individuell unterschiedliche ätiologische und immunologische Ausprägungen aufweist.

2.2. Allergiediagnostik beim Pferd

2.2.1. In vitro Tests

2.2.1.1. Tests an vitalen Zellen

Zu den Tests an vitalen Zellen zählen der funktionelle in vitro Test (FIT, 1998 von KAUL am Institut für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover entwickelt) und der Cellular Antigen Stimulation Test (CAST®). Beiden gemeinsam ist die Stimulation lebender Immunzellen mit spezifischen Antigenen. Hierfür wird Vollblut (EDTA-Blut) der Probanden benötigt, das bei Erreichen des untersuchenden Labors maximal 24 Stunden alt sein sollte. Auf die Unterschiede wird im Folgenden eingegangen.

Funktioneller in vitro Test (FIT)

Für den funktionellen in vitro Test werden die Blutzellen durch Waschen weitgehend von freien Antikörpern befreit, sodass nur die an Fc-Rezeptoren auf Leukozyten gebundenen Antikörper zurückbleiben. Die basophilen Granulozyten und Mastzellen werden mit spezifischen Antigenen für 1 Stunde inkubiert und anschließend der zellfreie Überstand abgenommen. Das bei ausreichend vorhandenen sensibilisierten Zellen freigesetzte Histamin wird mittels eines ELISA gemessen. Da nur Zellen mit membrangebundenen Antikörpern mit einer Histaminfreisetzung reagieren können, ist der FIT in der Lage, ausschließlich die funktionelle Sensibilisierung der Effektorzellen der Typ-I-Allergie zu bestimmen. Darüber hinaus hat der FIT den Vorteil, dass sensibilisierte Basophile in vivo über Monate bis Jahre überleben, so dass der FIT auch zu Zeiten der Symptombfreiheit aussagekräftig ist (LEIBOLD et al., 2011).

Cellulärer Antigen Stimations Test (CAST®)

Auch beim CAST werden überwiegend basophile Granulozyten aus Vollblut verwendet und mit Antigenen inkubiert. Im Unterschied zum FIT wird jedoch nicht Histamin, sondern die Konzentration von Sulfidoleukotrienen mit Hilfe eines quantitativen ELISA gemessen, die nach der Stimulation erst neu gebildet werden. Sulfidoleukotriene werden jedoch nicht nur von den basophilen, sondern auch von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten sowie Monozyten gebildet. Der CAST, der in der Humanmedizin zuverlässige Ergebnisse v.a. im Bereich der

Arzneimittelunverträglichkeiten und Insektengift-Anaphylaxie liefert, konnte sich in der Veterinärmedizin auf Grund der kostenintensiven und aufwendigen Durchführung bislang nicht langfristig kommerziell etablieren.

2.2.1.2. Serologische Tests

In den serologischen Tests wird freies IgE (und teilweise IgG) gemessen. Diese Tests haben im Vergleich zu Tests an vitalen Zellen den Vorteil, dass IgE im Serum länger haltbar ist und die Proben tiefgekühlt werden können. Verschiedene kommerzielle Tests stehen daher zur Verfügung, wobei der am häufigsten verwendete, der Fcε-Rezeptor-Test „Allercept®“ der Firma HESKA ist. Zahlreiche Studien kamen allerdings zu dem Schluss, dass diese Untersuchungen keine zuverlässigen Ergebnisse liefern (REES, 2001; LORCH et al., 2001b). SCHMALLENBACH et al. (1998) und EDER et al. (2000) konnten keine signifikanten Unterschiede in den Serum-IgE-Titern gegen Schimmelpilz- und Futtermilbenallergenen zwischen gesunden und RAO-Pferden erkennen. LEIBOLD (2003) hält die Messung freier Antikörper für wenig sinnvoll, da diese keineswegs repräsentativ für die zellgebundenen Antikörper sein müssen. Ein internationaler Workshop zum Thema Atemwegserkrankungen bei Pferden kam 2000 zu dem Schluss, dass Serumtests zur Identifizierung des auslösenden Allergens bei der RAO des Pferdes nicht von Nutzen sind (ROBINSON, 2001).

2.2.2. In vivo Tests / Provokationstests

Bei den „In-vivo“-Tests und den Provokationstests wird die Reaktion auf ein Antigen am lebenden Organismus untersucht. Beim Pferd sind hier der Intrakutantest sowie die Inhalation von Allergenen zu nennen.

2.2.2.1. Intrakutantest (IKT)

Der Intrakutantest (IKT), auch Intradermaltest (IDT) genannt, gilt als Goldstandard zur Klärung der Genese allergischer Dermatitiden (LITTLEWOOD, 1997). Es kann eine zuverlässige Aussage über die funktionelle Sensibilisierung der Mastzellen der Haut getroffen werden (LITTLEWOOD, 1997). Hierbei wird eine bestimmte Menge verdünntes Allergen mittels einer dünnen Kanüle intradermal appliziert. Als Referenz dient meist physiologische Kochsalzlösung als Negativ- und Histamin oder Phytohemagglutinin (PHA) als Positivkontrolle. Die lokale Reaktion der applizierten Allergenlösungen wird in Relation zu den beiden Referenzsubstanzen bewertet. Seit den 70-er Jahren des 20. Jahrhunderts

werden vermehrt Ergebnisse von Intrakutantests bei Pferden veröffentlicht. Bei allen der Autorin bekannten Untersuchungen kam es dabei zu auffallend vielen falsch positiven Ergebnissen. So untersuchten SCHATZMANN und GERBER (1971) bei 386 Pferden mit RAO 16 verschiedene Antigene im Intrakutantest, wobei sie 40% positive Reaktionen vermerkten. Hierbei gab es jedoch keine Unterschiede zwischen Pferden mit RAO und lungengesunden Tieren. In der Studie von LORCH et al. (2001a) wurden bei klinisch unauffälligen Pferden in allen Allergengruppen mehr positive Reaktionen im Intrakutantest befundet als in der Gruppe der an RAO erkrankten Tiere. MC GORUM et al. (1993) prüften bei 8 gesunden Pferden und 8 RAO Pferden die Anwendbarkeit von Schimmel-Präparationen im IKT. Es konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Lediglich in zwei der Autorin bekannten Studien wurden bei an RAO erkrankten Pferden signifikant mehr positive Reaktionen festgestellt als in der Kontrollgruppe (EVANS et al., 1992; HALLIWELL et al., 1979). SASSE et al. (1985) konnten einen Zusammenhang zwischen der Staub- und Ammoniakbelastung der Stallluft und dem nach vier Stunden positiven Intrakutantest auf den entsprechenden Stallstaub nachweisen, der den Pferden in einer 0,1%igen Lösung intradermal appliziert wurde. Nach HALLIWELL et al. (1979) und TAHOH et al. (2008) kann auf Grund des Zeitpunkts einer positiven Reaktion im IKT auf den Typ der allergischen Reaktion geschlossen werden. So spricht laut den Autoren eine positive Reaktion im IKT nach 30 min. für eine Typ-I-Reaktion, eine positive Reaktion nach 4 Stunden für eine Late (Phase)-Reaktion und nach 24-72 Stunden für eine Typ-IV-Reaktion. Die diagnostische Aussagekraft von Schimmelpilz und Hausstauballergenen im Intrakutantest wird allerdings von einigen Autoren (EVANS et al., 1992, McGORUM et al., 1993, ROBINSON, 2001) stark angezweifelt.

2.2.2.2. Provokations-Inhalation

Für die Provokations-Inhalation bei Pferden gibt es bislang keine generellen Standards für die Durchführung. Sie werden beinahe ausschließlich für Studienzwecke verwendet und haben in der Routine-Diagnostik keinen Stellenwert. Die meisten Autoren verwenden hierfür verdünnte Allergenlösungen, die mit Hilfe eines Inhalationsgerätes vernebelt werden oder setzen die Pferde einer natürlichen Exposition mit schimmligem Heu aus. Zur Überwachung und

Beurteilung der Reaktionen der Pferde dienen unterschiedliche Instrumentarien zur Lungendruckmessung und Kreislaufüberwachung. Bronchiale Provokationstests mit verschiedenen Allergenen wie *Micropolyspora faeni* (DERKSEN et al., 1988; McGORUM et al., 1993c; McPHERSON et al., 1979), *Aspergillus fumigatus* (McGORUM et al., 1993c; McPHERSON et al., 1979) und Heustaub (McPHERSON et al., 1979; PIRIE et al., 2002) führten bei prädisponierten Pferden innerhalb von Stunden zu einer Obstruktion der Atemwege, wohingegen gesunde Kontrolltiere keine Reaktion zeigen. Damit scheint dieser Test sehr zuverlässig.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Patientengut

Insgesamt wurden 15 Pferde in die Studie aufgenommen. Das Alter der Probanden lag zwischen 6 und 28 Jahren, das Durchschnittsalter betrug 15,3 Jahre. 6 lungengesunde klinikeigene Pferde der Klinik für Pferde der LMU München dienten als gesunde Kontrollgruppe (s. Tab. 1). 1 Pferd der Klinik für Pferde der LMU und 8 Patienten der Tierarztpraxis Thurmading stellten die lungenkranke Patientengruppe mit 9 Tieren (s. Tab. 2). Die Einteilung der Pferde erfolgte nach einer ausführlichen Lungenuntersuchung und anschließender Beurteilung nach einem modifizierten Punkte-Score-System nach Ohnesorge (1998).

Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war, dass die Pferde frei von weiteren, den Besitzern bekannten Erkrankungen waren (insbesondere andere allergische Erkrankungen wie Insect Bite Hypersensitivity), sich die Werte des Differentialblutbildes innerhalb der Normwerte befanden und die Pferde mind. 6 Wochen vor Studienbeginn nicht mit Glukokortikoiden behandelt wurden. Alle weiteren Medikamente, insbesondere Bronchodilatoren mussten spätestens 3 Wochen vor Studienbeginn abgesetzt werden.

Alle Untersuchungen wurden bei der Regierung von Oberbayern nach §31 der Tierschutz-Versuchstierverordnung angezeigt und genehmigt (Tierversuchsantrag Nr. 55.2-1-54-2531-151-10). Die Studie wurde durch die DFG gefördert.

Tabelle 1: Grunddaten der Pferde in Gruppe 1 (Kontrollgruppe)

Pferd	Rasse	Geschlecht	Alter	Gewicht	Größe
1	Traber	Stute	15	478	158
2	Traber	Stute	14	524	163
3	Traber	Stute	14	538	161
4	Haflinger	Hengst	6	403	142
5	Warmblut	Stute	25	610	165
6	Haflinger	Stute	28	430	140

Tabelle 2: Grunddaten der Pferde in Gruppe 2 (RAO-Gruppe)

Pferd	Rasse	Geschlecht	Alter	Gewicht	Größe
7	Traber	Stute	15	430	149
8	Traber	Wallach	18	451	156
9	Tinker	Wallach	15	520	154
10	Warmblut	Stute	12	500	149
11	Andalusier	Wallach	22	510	151
12	Warmblut	Wallach	10	478	156
13	Warmblut	Wallach	6	543	172
14	Pinto	Wallach	13	433	152
15	Quarter Horse	Wallach	16	418	147

Die Untersuchungen gliederten sich in drei Teile: die Lungenuntersuchung, die Allergietests und die Inhalationsprovokationen.

2. Methode

Zwei Wochen vor Beginn der Untersuchungen wurden bei allen Pferden in ihrer gewohnten Umgebung Blutproben für die Durchführung der Allergietests genommen. Die Vollblutproben (EDTA) für die Durchführung des Funktionellen in Vitro Tests (FIT) wurden sofort mit einem Express-Dienst über Nacht an die Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Arbeitsgruppe Immunologie geschickt. Die Serumproben für die Durchführung des Fc-Epsilon-Rezeptor-Tests (ALLERCEPT™, Heska Allergy Products) und des IBL-Tests (Synlab) wurden bei -20°C tief gefroren und gesammelt in die entsprechenden Labore gesandt.

Alle weiteren Untersuchungen der Pferde der Klinik für Pferde der LMU wurden an der Klinik durchgeführt, die der Patienten der Tierarztpraxis Thurmading entsprechend in den Praxisräumen. Die Untersuchungen liefen alle nach folgendem Zeitschema ab:

Tabelle 3: Zeitlicher Ablauf der Untersuchungen

14 Tage vor Beginn der Untersuchungen	Blutprobenentnahme für Allergietests
Tag 1 (Tag der Einstallung)	Anamneseerhebung Klinische Untersuchung (Möglichkeit zur Gewöhnung an Inhalation)
Tag 2	Arterielle Blutgasanalyse Blutentnahme für Differentialblutbild - Sedierung - Bronchoskopie mit Probenentnahme TBS und BAL Intrakutantest (IKT) (Möglichkeit zur Gewöhnung an Inhalation)
Tag 3	Letzte Auswertung IKT nach 24 h → Entscheidung über die Allergenauswahl für die Inhalation Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT)
Tag 4	Allergen-Inhalations-Provokationstets (AIPT) Allergen 1
Tag 5	Allergen-Inhalations-Provokationstest (AIPT) Allergen 2
Tag 6	Abholung der Pferde

2.1. Untersuchungen am Pferd

2.1.1. Vorbericht

Die Erhebung des Vorberichts erfolgte gemeinsam mit den Besitzern unter Zuhilfenahme des im Anhang aufgeführten Anamneseformulars. Besonderer Wert wurde im Hinblick auf eine mögliche allergische Ursache der Erkrankung vor allem auf jahreszeitliche Verschlechterung des Gesundheitsstatus der Pferde sowie auf Qualität und Art von Einstreu und Futter, die Haltungsform und das Ansprechen auf vorhergegangene Therapieversuche gelegt. Vorberichtlicher Husten wurde im Score-System (nach Ohnesorge) berücksichtigt.

2.1.2. Klinische Untersuchung und Differentialblutbild

Die erweiterte klinische Untersuchung wurde in Anlehnung an den im Anhang beschriebenen Untersuchungsbogen durchgeführt. Neben einer Allgemeinuntersuchung umfasste die spezielle Untersuchung des Atmungsapparates eine genaue Lungenauskultation auf beiden Thoraxseiten, einschließlich der Trachea, eine Hammer-Plessimeter Perkussion der Lunge und es wurde durch Druck auf den ersten Trachealring geprüft, ob Husten auslösbar war. Weiter wurde die Atemfrequenz, der Atemtypus, das Vorhandensein einer Hypertrophie der schrägen Bauchmuskulatur, die Mandibularlymphknoten palpatorisch untersucht und eventuell vorhandener Nasenausfluss dokumentiert. Um akute infektiöse Erkrankungen auszuschließen, wurde zusätzlich bei allen Pferden unmittelbar vor den weiteren Lungenuntersuchungen venöses Blut zur Erstellung eines Differentialblutbildes entnommen sowie die innere Körpertemperatur gemessen.

2.1.3. Blutgasanalyse

Für die Gewinnung arteriellen Blutes wurde die rechte Arteria carotis communis dextra eine Hand breit oberhalb der Apertura thoracis mit einer kleinlumigen Kanüle (20G) punktiert (Abb. 1). Das Blut wurde mit einer Blutgasmonovette blasenfrei aspiriert und unmittelbar darauf mit Hilfe eines Blutgasanalysegerätes (IRMA TruPoint®, Blood Analysis System, Keller Medical GmbH, Bad Soden oder IDEXX VetStat™, Electrolyte and Blood Gas Analyzer, IDEXX, Maine USA) analysiert. Das IDEXX VetStat™ Blutgasanalysegerät gibt den aktuellen Barometerdruck in mmHg an, für die genaue Berechnung der Messungen mit dem IRMA TruPoint® Gerät wurde der tagesaktuelle Barometerdruck des deutschen

III. Material und Methoden

Wetterdienstes für München verwendet. Beide Geräte messen den pH-Wert, PCO_2 , HCO_3 , AnGAP, BE, pO_2 und Elektrolytkonzentrationen. Um Fehlinterpretationen durch die Beeinflussung des Sauerstoffpartialdrucks durch den schwankenden Barometerdruck zu vermeiden wurde die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz ($A-aDO_2$) mit folgender Gleichung berechnet und der ermittelte Wert für die Einteilung der Pferde verwendet:

$$pAO_2 [mmHg] = (P_B [mmHg] - p_{H_2O} [mmHg]) \times F\dot{I}O_2 - p_aCO_2 \times F [mmHg]$$

pAO_2 :	alveolärer Sauerstoffpartialdruck
P_B :	aktueller Barometerdruck
p_{H_2O} :	Wasserdampfdruck (= 47 mmHg)
$F\dot{I}O_2$:	prozentualer Anteil des Sauerstoffs in der Inspirationsluft (bei Atmung von Raumluft immer 20,95%)
p_aCO_2 :	arterieller CO_2 -Partialdruck
F :	Faktor, der vom respiratorischen Quotienten des Probanden abhängt (in der Klinik vernachlässigbar)

Gleichung 1: Berechnung der alveolo-arteriellen Sauerstoffdruckdifferenz
(nach Klein und Deegen 1986)



Abbildung 1: Punktion der A. carotis communis dextra

2.1.4. Tracheobronchoskopische Untersuchung

Alle Pferde wurden mit einer Kombination aus 0,01-0,02 mg/kg KGW Detomidin-Hydrochlorid (Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) und 0,01-0,02 mg/kg KGW Butorphanol-Tartrat (Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen, Deutschland) in die Vena jugularis sediert und wenn notwendig zusätzlich mit einer Oberlippennasenbremse fixiert. Die Tracheobronchoskopie erfolgte mit einem flexiblen Videoendoskop (Olympus Evis CF Typ 230 L, Olympus Europa GmbH, Hamburg, Deutschland/ Olympus CLK-4, Olympus Optical Company, LTD, Japan) und der dazugehörigen Lichtquelle.

Die Beurteilung der tracheobronchoskopischen Untersuchung umfasste Auffälligkeiten der ventralen Nasengänge, des Siebbeins, des Pharynx und Larynx, des Waldeyerschen Rachenrings, der Trachea und der Bifurcatio tracheae (Abb. 2). Besondere Aufmerksamkeit galt der Schleimhautbeschaffenheit sowie der Sekretmenge und -viskosität in der Trachea und den Hauptbronchien. Die Bewertung des Tracheobronchialsekrets erfolgte nach DIECKMAMM (1987, Tabelle 4) und ging in den Score zur Ermittlung des Schweregrades der RAO nach OHNESORGE (1998) mit ein. Alle Befunde wurden in einem Untersuchungsbogen festgehalten (s. Anhang).



Abbildung 2: Durchführung der Tracheobronchoskopie

Tabelle 4: Klassifizierung der Sekretmenge und -viskosität (nach DIECKMANN 1987)

Klassifizierung der Sekretmenge	
0	keine Sekretansammlungen, keine Flocken
1	keine Sekretansammlungen, einzelne Flocken
2	flache ventrale Sekretansammlungen, einzelne größere Sekretflocken
3	deutliche ventrale Sekretstraße, Sekretseenbildung
4	durchgehende ventrale Sekretstraße, Sekretseenbildung
5	mehr als ¼ des Tracheallumens füllende(r) Sekretstraße bzw. –see
Klassifizierung der Sekretviskosität	
0	Schleimhaut feucht, nur geringgradige Mengen wässrigen Sekrets aspirierbar
1	Schleimhaut feucht, einzelne feine Flocken in wässrigem Sekret, leicht aspirierbar
2	Schleimhaut feucht, seromuköses Sekret, ventral gelegen, leicht aspirierbar
3	Schleimhaut feucht, seromuköses Sekret mit einzelnen konsistenteren Sekretflocken, ventral gelegen, leicht aspirierbar
4	Schleimhaut feucht / pappig, muköses bis mukopurulenten Sekret, einige dorsale Schleimflocken, deutlich erschwerte Aspiration
5	Schleimhaut pappig / trocken, muköses bis purulenten Sekret, reichlich dorsale Schleimflocken, teilweise spinnenwebartige Schleimformationen, erschwerte Aspiration (kaum möglich)

Proben des Tracheobronchialsekrets wurden während der Endoskopie mit Hilfe eines Polyvinylkatheters über den Arbeitskanal des Endoskops abgesaugt und auf mehrere beschriftete Objektträger ausgestrichen und luftgetrocknet. Nach einer Färbung mit Diff-Quick® (Medion Diagnostics AG, Düringen, Schweiz) folgte die zytologische Auswertung der Proben. Hierfür wurden 200 Zellen je Pferd differenziert, ausgezählt und mit neg (-), ggr. (+), mgr. (++) , hgr. (+++) und das Zellbild dominierend (++++) bewertet. Das Ergebnis floss ebenfalls in die Bewertung ein.



Abbildung 3: Sekretbildung in der Trachea

2.1.5. Bronchoalveoläre Lavage

Anschließend wurden über einen zweiten sterilen Polyvinylkatheter mit einer Mischung aus 10 ml 2%igem Lokalanästhetikum (Minocain®) und 10 ml steriler Kochsalzlösung unter endoskopischer Kontrolle die Carina tracheae und die beiden Eingänge der Hauptbronchien anästhesiert. Das Endoskop wurde bis vor den Kehlkopf zurückgezogen und über die zweite, desinfizierte Nüster ein steriler BAL-Schlauch (Bivona, Smith Medicals, St. Paul, USA) eingeführt. Dadurch konnte der BAL-Schlauch unter Sichtkontrolle in die Trachea und die Bronchien vorgeschoben werden, bis ein Widerstand spürbar war. Daraufhin wurde das Endoskop entfernt und der Ballon des BAL-Schlauches mit einer 10 ml Spritze aufgeblasen. Anschließend wurden 200 ml sterile Kochsalzlösung zügig durch den Schlauch injiziert und sofort wieder aspiriert. In der Regel konnte mindestens die Hälfte der instillierten Flüssigkeit wieder aspiriert werden. Die gewonnene bronchoalveolare Lavage wurde bei den Untersuchungen an der Universitätsklinik mit Hilfe einer Zytospot-Zentrifuge weiter bearbeitet, wobei der zellreiche Anteil direkt auf einen Objektträger zentrifugiert wurde. Bei der Untersuchung der Patienten in der Praxis stand eine solche Zentrifuge nicht zur Verfügung. Deshalb

III. Material und Methoden

wurden ca. 20 ml der zurückgewonnenen BAL-Flüssigkeit in EDTA-Röhrchen abgefüllt und 10 min. bei 800 g zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und der zellreiche Bodensatz auf einen Objektträger ausgestrichen. Die somit gewonnen Proben wurden nach Trocknung mit einer Diff-Quick® Färbung angefärbt und analog den TBS-Ausstrichen ausgewertet.

2.1.6. Bewertung der Untersuchungsergebnisse

Die bisher ermittelten Untersuchungsergebnisse dienen der Einteilung des Schweregrades der Lungenerkrankung der Probanden und der Kontrolltiere sowie dem Ausschluss zusätzlicher, die weiteren Untersuchungen beeinflussenden Erkrankungen. Für eine objektive Bewertung und Einteilung der Pferde wurde die Score-Bewertung nach Ohnesorge gewählt (Tab. 5 und 6).

Tabelle 5: Bewertung der Untersuchungsbefunde (nach OHNESORGE et al., 1998)

Untersuchungsparameter	Ergebnis	Score
Husten	vorberichtlich, spontan oder mehrmals auslösbar	1
Ruhedyspnoe	verstärkt abdominal	1
	Dampfrinne, Nüsternblähen	3
Auskultation	Rasseln und Giemen	2
Perkussion des Lungenfeldes	> 1 handbreit erweitert	1
	> 2 handbreit erweitert	2
A-aDO ₂	7 – 14 mmHg	1
	> 14 mmHg	2
Bifurcatio Tracheae	Deutlich verdickt	1
Tracheobronchialsekret a) Menge b) Viskosität	a) Deutlich vermehrt b) Mäßig viskös	1
	a) Hochgradig vermehrt b) zähviskös	2
Anzahl an Makrophagen und neutrophilen Granulozyten im TBS	Zahlreich oder dominierend	1

Tabelle 6: Einteilung des Schweregrades (nach OHNESORGE et al., 1998)

Score	Schweregrad der Erkrankung
0 – 1	gesund
2 – 3	geringgradige RAO
4 – 6	mittelgradige RAO
≥ 7	hochgradige RAO

2.2. Allergietests

2.2.1. Intrakutantest

Für den Intrakutantest (auch Intradermaltest genannt, im Folgenden als IKT bezeichnet) wurde an der linken Halsseite ein Areal von ca. 20 cm x 30 cm geschoren und Markierungen im Abstand von mindestens 3 cm mit einem wasserfesten Filzstift gesetzt (Abb. 4). Die Injektionen erfolgten jeweils ventral und dorsal der Markierung. Um Abwehrreaktionen und reflektorische Hautzuckungen zu vermeiden, erfolgte die Durchführung noch in der Sedierung der zuvor durchgeführten endoskopischen Untersuchung. Die konzentrierten Allergenlösungen wurden von einem kommerziellen Allergenlabor (Firma ARTU, jetzt ALK, Niederlande) bezogen. Gemäß Tabelle 7 wurden diese weiter mit PBS auf die nötigen Gebrauchskonzentrationen gemäß dem Standardprotokoll für Intrakutantests beim Pferd des Dermatologie- und Allergologieservice des Zentrums für klinische Tiermedizin der LMU München verdünnt und bei 4°C gelagert. Frühestens 24 Stunden vor Durchführung des Tests wurden die Lösungen mit einem Volumen von 50 µl in Tuberkulinspritzen mit aufgesetzter 25 G Nadel (Omnifix, Firma Braun, Melsungen) blasenfrei aufgenommen. Mit deren Hilfe wurden an die zuvor markierten Stellen intradermal je 50 µl Allergenlösung, Positiv- (Histaminlösung) und Negativkontrolle (PBS Dulbecco, Biochrom, Deutschland) zügig injiziert, wobei stets die gleiche Reihenfolge der Substanzen eingehalten wurde. Die Injektion erfolgte in einem Winkel von 15-20° mit dem Anschliff nach oben. Die Hautareale wurden nach 30 min, 1 Stunde, 2 Stunden, 4 Stunden und 24 Stunden kontrolliert und die entstandenen Quaddeln auf Grund ihrer palpatorischen Größe, Derbheit und Ausdehnung im Vergleich zu den beiden Kontrollquaddeln (PBS = 0; Histamin = 4) mit 0 bis 5 bewertet und protokolliert (Abb. 5). Alle Injektionen und Bewertungen wurden von derselben Person durchgeführt. Reaktionen, die mit 2 oder mehr bewertet wurden, wurden als positiv angesehen. Bei allen Pferden wurde 38 verschiedene Allergenlösungen ausgetestet, wobei 4 Allergene (Knäuelgras, Spitzwegerich, Glaskraut und Raps) jeweils in zwei verschiedenen Konzentrationen getestet wurden. Jede positive Reaktion auf ein Allergen wurde nur einmal zum Zeitpunkt der ersten positiven Bewertung (≥ 2) registriert. Wurde zum Beispiel eine Reaktion auf ein Allergen nach 30 min. positiv bewertet, konnte dieses nach 4 Stunden nicht noch einmal positiv sein, selbst wenn die Größe der Quaddel weiter zunahm.



Abbildung 4: Intradermale Injektion der Allergenlösungen



Abbildung 5: Intrakutantest 10 Minuten nach Injektion der Allergenlösungen

Tabelle 7: Allergenauswahl und Verdünnungen für den Intrakutantest

Nr.	Allergen	Verdünnung
1	Neg (PBS)	
2	Pos (Histamin)	
3	Schafwolle	1:10
4	Alternaria	1:100
5	Aspergillus	1:100
6	Cladosporium	1:100
7	Epithelia Mix	1:100
8	Kakerlake	1:2
9	Stubenfliege	1:10
10	Mosquito	1:5
11	Buche	1:5
12	Ahorn	1:5
13	gemeine Hasel	1:5
14	Silberpappel	1:5
15	Quecke	1:5
16	Weidelgras	1:5
17	weißer Gänsefuß	1:5
18	Beifuß	1:5
19	echte Goldrute	1:5
20	Knäuelgras	1:5
21	weißes Straußgras	1:5
22	Wiesenrispengras	1:100
23	Wiesenfuchsschwanz	1:5
24	Hundszahngras	1:5
25	Ambrosie	1:5
26	kleiner Sauerampfer	1:5
27	wolliges Honiggras	1:5
28	Spitzwegerich	1:100
29	Glaskraut	1:100
30	Raps	1:100
31	Baumpollen 1	unverdünnt
32	Baumpollen 2	unverdünnt
33	Derm. farinae	unverdünnt
34	Derm. pteronyssinus	unverdünnt
35	Tyrophagus	unverdünnt
36	Acarus siro	unverdünnt
37	Katzenepithelien	unverdünnt
38	Floh	unverdünnt
39	Heumilbe/Lepidoglyphus	unverdünnt
40	Kräuterpollenmix	unverdünnt
41	Spitzwegerich	1:5
42	Glaskraut	1:5
43	Raps	1:5
44	Knäulgras	1:100
45	Neg (PBS)	
46	Pos (Histamin)	

2.2.2. Fc-Epsilon-Rezeptortest

Für den Fc-Epsilon Rezeptortest wurden von jedem Pferd 2 ml gefrorenes Serum direkt zu CMG-Heska Allergy Products in die Schweiz versandt. Dort wurde mittels eines kommerziellen Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (ALLERCEPT™, Heska Allergy Products) die allergenspezifischen IgE Level für 36 Allergene gemessen (Tab. 8). Hierbei handelt es sich um einen ELISA zum Nachweis von allergen-spezifischem IgE mit Hilfe einer genetisch modifizierten Form der IgE-Rezeptor α -Kette (Fc-Epsilon-Rezeptor I α , Fc ϵ RI α). Die Bindung zwischen IgE und dem Fc-Epsilon-Rezeptor I ist weitgehend spezifisch und hoch affin, so dass andere Antikörper nicht gebunden werden und Kreuzreaktionen vermieden werden. Zur Testdurchführung wurde verdünntes Pferdeserum auf allergenbeschichtete Mikrotiterplatten pipettiert und über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach einer Waschung wurde der Fc ϵ RI α hinzugefügt, der nun an die Allergen-gebundenen IgE-Moleküle binden konnte und nach zwei Stunden erfolgte eine weitere Waschung. Bindungen zwischen Fc ϵ RI α und IgE wurden nach Zugabe eines enzymhaltigen Sekundärkonjugates (Streptavidin-Alkalin-Phosphatase) und eines Substrates (p-nitrophenylphosphate) enzymatisch sichtbar gemacht. Die Konzentration des somit entstandenen gefärbten Stoffwechselprodukts ist proportional zur Menge an Allergen-gebundenem IgE und wurde anschließend photometrisch bestimmt. Die genaue Durchführung des Tests entspricht der ausführlichen Beschreibung bei LORCH et al. (2001b). Das Labor hatte keine Kenntnisse über den Gesundheitszustand der Pferde oder bereits bekannte Ergebnisse anderer Allergietests. Die allergenspezifischen IgE Konzentrationen wurden in ELISA absorbance (EA) Units von 0 – 4000 angegeben, wobei Werte über 150 als positiv zu bewerten sind. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Allergietest zu ermöglichen, wurden die EA Units ebenfalls, wie in Tabelle 9 beschrieben, in Klassen von 0 – 5 eingeteilt.

Tabelle 8: Allergenauswahl des Fc-Epsilon-Rezeptortests

Nr.	Allergen	Deutscher Name
1	<i>Ctenophalides salivae</i>	Floh
2	<i>Derm. farinae</i>	Hausstaubmilbe
3	<i>Derm. Pteronyssinus</i>	Hausstaubmilbe
4	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	Modermilbe
5	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	Heumilbe
6	<i>Acarus siro</i>	Mehlmilbe
7	<i>Felis catus epithelium</i>	Katzenepithelien
8	<i>Blattela germanica</i>	Deutsche Schabe
9	<i>Alternaria alternata</i>	
10	<i>Cladosporium herbarum</i>	
11	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
12	<i>Peicillium sp.</i>	
13	Gramineae mixtum	Süßgräser – Mix
14	<i>Agrostis alba</i>	Weißes Straußgras
15	<i>Cynodon dactylon</i>	Hundszahngras
16	<i>Sorghum halepensis</i>	Wilde Mohrenhirse
17	<i>Rumex crispus</i>	Krauser Ampfer
18	<i>Plantago lanceolata</i>	Spitzwegerich
19	<i>Artemisia vulgaris</i>	Beifuß
20	<i>Chenopodium album</i>	Weißer Gänsefuß
21	<i>Urtica dioica</i>	Brennnessel
22	Ambrosia mixtum	Ambrosia – Mix
23	<i>Parietaria officinalis</i>	Aufrechtes Glaskraut
24	<i>Salsola kali</i>	Kali – Salzkraut
25	<i>Betula sp.</i>	Birke
26	<i>Alnus sp.</i>	Erle
27	<i>Quercus sp.</i>	Eiche
28	<i>Cypressus sp.</i>	Zypresse
29	<i>Corylus avellana</i>	Haselnuss
30	<i>Ulmus campestris</i>	Feldulme
31	<i>Fagus sylvatica</i>	Rotbuche
32	<i>Populus sp.</i>	Pappel
33	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Bergahorn
34	<i>Salix sp.</i>	Weide
35	<i>Olea europaea</i>	Olivenbaum
36	<i>Cryptomeria sp.</i>	Zeder

Tabelle 9: Bewertungsskala der Ergebnisse des Fc-Epsilon-Rezeptortests

EA units	Interne Bewertung
0 - 150	0
151 – 250	1
251 – 500	2
501 – 1500	3
1501 – 3000	4
> 3000	5

Einteilung der Reaktionsgrade nach Thom et al. (2009). Werte >150 EA Units gelten als positiv.

2.2.3. IBL- Hamburg (IgE)

Bei dem IBL-Serumtest (vollständiger Name: Allergie-40 Profil IgE (Pferd) ELISA) handelt es sich ebenfalls um einen ELISA bei dem IgE Level bestimmt werden (Tab. 10). Dieser Test befindet sich noch in der Versuchsphase und wurde von Synlab.vet GmbH Augsburg durchgeführt. Er basiert auf dem Prinzip eines Enzym-Immunoassays (EIA) zur quantitativen Bestimmung von Pferde-IgE. Hierfür wird verdünntes Pferdeserum bzw. gebrauchsfertige Kontrollen/Standards in die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen pipettiert, auf deren Oberfläche Allergene gebunden sind. Nach einer Inkubation über Nacht wird die Platte gewaschen und mit Anti-Pferd-IgE Peroxidase Konjugat 60 min. inkubiert. Nach einer weiteren Waschung wird eine Substratlösung hinzugegeben, wodurch eine Färbung entsteht, deren Intensität direkt proportional zur Konzentration der IgE-Antikörper ist. Die resultierende Farbe wird spektrometrisch bei 450 nm gemessen. Für diesen Test wurden von uns ebenfalls ca. 2 ml gefrorene Serumproben aller Pferde in das Labor München Zentrum gebracht. Die Ergebnisse wurden uns vom durchführenden Labor in Units/ml inklusive der in Tabelle 11 gezeigten validierten Bewertungsskala übermittelt. Das Spektrum reicht von 0- >50 Units/ml, wobei Werte ab 0,7 als positiv angesehen werden können. Folgende 40 Allergene wurden hierbei ausgetestet:

Tabelle 10: Allergenauswahl des IBL

Nr.	Allergenbezeichnung Labor	Deutscher Name
1	<i>Ctenophalides salivae</i>	Floh
2	<i>Tabanus</i> spp.	Bremse
3	<i>Culicoides</i> spp.	Gnitze
4	<i>Stomoxis</i> spp.	Wadenstecher
5	<i>Simulium</i> spp.	Kriebelmücke
6	<i>Acarus siro</i>	
7	Dermatoph. <i>Farinae</i>	
8	Dermatoph. <i>Pteronyssinus</i>	
9	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	
10	<i>Glycophagus domesticus</i>	
11	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	
12	Birke	
13	Buche	
14	Erle	
15	Hasel	
16	Weide	
17	Gräsermix	
18	Roggen	
19	Raps	
20	Ragweed	Traubenkraut
21	Sauerampfer	
22	Wegerich	
23	Weißer Gänsefuß	
24	Löwenzahn	
25	Brennnessel	
26	Beifuß	
27	<i>Alternarium alternata</i>	
28	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
29	<i>Epicoccum nigrum</i>	
30	<i>Cladosporium herbarum</i>	
31	<i>Penicillium notatum</i>	
32	<i>Ustilago tritici</i>	
33	Weizen	
34	Gerste	
35	Hafer	
36	Mais	
37	Melasse	
38	Soja	
39	Hefe	
40	Luzerne	

Tabelle 11: Bewertungsskala der Ergebnisse des IBL

Units/ml	Bewertung	Bewertungsskala
< 0,35	negativ	0
0,35 – 0,69	grenzwertig positiv	1
0,7 – 3,49	schwach positive	2
3,5 – 17,49	positive	3
17,5 – 49,99	stark positive	4
> 50	sehr stark positiv	5

2.2.4. FIT

Der funktionelle in vitro Test (FIT) wurde von der Arbeitsgruppe Immunologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Es handelt sich hierbei um einen Stimulationstest an lebenden Immunzellen, vor allem der basophilen Granulozyten. Da die dafür notwendigen Blutproben bei Erreichen des Labors max. 24 Stunden alt sein dürfen wurden den Pferden am frühen Nachmittag jeweils 30 ml venöses Blut steril in EDTA – Röhrchen abgenommen und die Proben über einen Expressdienst (TNT) über Nacht in das Labor verschickt. Dort wurden die Vollblutproben durch Waschen weitgehend von freien Antikörpern befreit, sodass nur die an Fc-Rezeptoren auf Leukozyten gebundenen Antikörper zurückblieben. Die basophilen Granulozyten und Mastzellen wurden anschließend mit den in Tabelle 12 gelisteten spezifischen Allergenen für 1 Stunde inkubiert und dann der zellfreie Überstand abgenommen. Das bei ausreichend vorhandenen, sensibilisierten Zellen freigesetzte Histamin im Überstand wurde mittels eines ELISA gemessen. Da nur Zellen mit membrangebundenen Antikörpern mit einer Histaminfreisetzung reagieren können, war der FIT in der Lage, ausschließlich die funktionelle Sensibilisierung der Effektorzellen der Typ-I-Allergie zu bestimmen. Genauere Angaben zur Durchführung des FIT wurden bereits an anderer Stelle ausführlich dargestellt (KAUL, 1998; BRÜNNLEIN, 2001; DIRSCHERL, 2001; GEIBEN, 2003). Die Ergebnisse wurden vom Labor mit negativ bis 4+ angegeben. Um eine Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen aus den anderen Allergietests zu ermöglichen wurden die Bewertungen wie in Tabelle 13 dargestellt umgewandelt.

Tabelle 12: Allergenauswahl des FIT

Nr.	Allergenbezeichnung Labor
1	Culicoides nubeculosus
2	Wandenstecher
3	Kriebelmücke
4	Eintagsfliege
5	Motte
6	Stechmücke
7	Pferdebremse
8	Hausfliege
9	Feuerameise
10	Gräser Mix (Pollen)
11	Baum Mix (spät)
12	Baum Mix (früh)
13	Spätpollen Mix
14	Derm. pteron.
15	Lep. Destr.
16	Acarus siro
17	Mais
18	Roggen
19	Weizen
20	Hafer
21	Gerste
22	Haselnuss
23	Raps
24	Birke
25	Gräser Mix (Korn)
26	Schimmelpilz Mix
27	Hautpilz Mix

Tabelle 13: Bewertungsskala der Ergebnisse des FIT

Bewertungsskala Labor	Bewertung Labor	Interne Bewertungsskala
Negativ	negativ	0
0,5+	grenzwertig positiv	1
1+	eindeutig positiv	2
2+		3
3+		4
4+	höchstgradig positiv	5

2.3. Provokationstests

2.3.1. Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT)

2.3.1.1. Testlösungen

Die Testlösungen bestanden aus Histamindihydrochlorid und phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung in aufsteigenden Konzentrationen. Das Histamindihydrochlorid wurde kristallin bezogen (Firma Fargon) und auf einer Mikrowaage (Mettler Toledo UMX2, Mettler, Greifensee, Schweiz) eingewogen, so dass eine Stammlösung von 64 mg/ml entstand. Davon ausgehend wurde eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:2 hergestellt, so dass folgende zehn Testlösungen zur Verfügung standen:

64 mg/ml, 32 mg/ml, 16 mg/ml, 8 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125mg /ml.

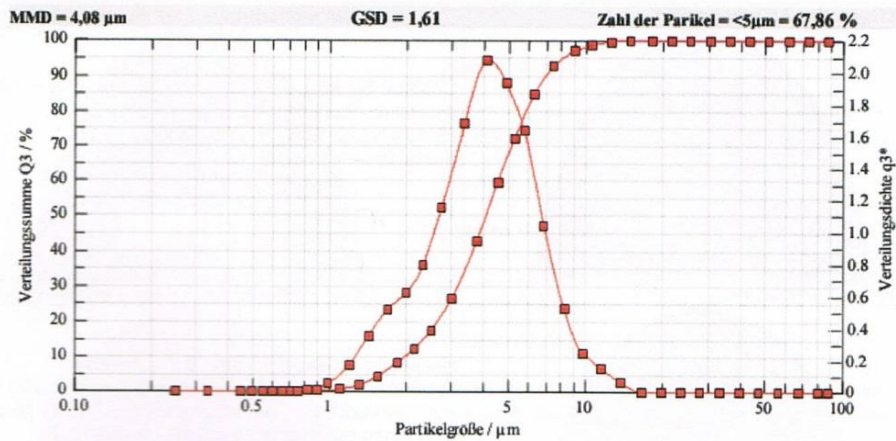
2.3.1.2. Vernebler und Inhalationsmaske

Als Vernebler diente die Safety Horse Mask (SaHoMa™-II mobile ultrasonic nebulizer, Typ: HM-200) mit der dazugehörigen Inhalationsmaske (SaHoMa™-II Inhalationsmaske, Typ: HM-210) die uns von der Firma NEBU-TEC Medical Products zur Verfügung gestellt wurde. Der Vernebler wird mit einem Akku betrieben, der direkt an der Inhalationsmaske befestigt wird (Abb. 6). Dadurch kann das Pferd trotz aufgesetzter Maske bewegt werden und die Toleranz seitens der Versuchspferde war sehr hoch. Die Verneblerleistung wird mit 0,35 – 0,7 ml/min angegeben, das Aerosolspektrum bei der Verneblung von 0,9%-iger Kochsalzlösung verteilt sich wie in Abb. 7 dargestellt.



Abbildung 6: Inhalationsmaske mit aufgesetztem Vernebler (Bild NEBUTEC Medical Products)

6.3 Aerosolspektrum SaHoMa™-II mobile ultrasonic nebulizer



Kommentar:

Umgebungstemperatur 21-22C°
Relative Luftfeuchte 60% +/-5%
Testgerät :
SaHoMa

Benutzerparameter:

flow: 15,0
Prallplatte:
Auswertemodus = Mie(1,33-0,0000i)

Die Aerosolcharakteristika wurde anhand des Laserdiffraktometer HELOS VARIO KF bestimmt.
Als Testmedium wurde 0,9 %ige Kochsalzlösung (NaCl) verwendet.

Abbildung 7: Aerosolverteilung des Ultraschallverneblers SaHoMa-II (Bild NEBUTEC Medical Products)

2.3.1.3. Lungendruckmessung

Während der Durchführung des Inhalations-Provokationstests erfolgte zeitgleich eine indirekte Lungendruckmessung mit Hilfe einer Ösophagusballonsonde. Die Länge der verwendeten Ösophagussonde beträgt 170 cm und ihr Außendurchmesser 13 mm, womit sie deutlich kleinlumiger ist als gewöhnliche Nasenschlundsonden und das Kehlkopfvolumen kaum einengt. Um die korrekte Lage der Sonde zu ermitteln wurde diese zunächst vom ventralen Nasengang bis auf Höhe der Herzbasis seitlich an das Pferd gehalten, um die richtige Vorschublänge zu bestimmen (Abb. 8). Das Pferd wurde wenn notwendig mittels einer Oberlippenbremse beruhigt und der angefeuchtete Ballonkatheter über eine gesäuberte Nüster blind in den Ösophagus bis zum Bereich Herzbasis vorgeschoben. Anschließend wurde die Oberlippenbremse abgenommen, die Inhalationsmaske aufgesetzt und das freie Ende der Ösophagussonde durch eine zuvor ausgeschnittene Öffnung im Atemfließ der Maske geführt und an das transportable Messgerät (Venti-Graph®, Böhringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim) angeschlossen (Abb. 9). Das Gerät besteht aus einem Druckwandler mit Leuchtdiodenanzeige und einem Schreibwerk, bei welchem ein Papiervorschub von 2 oder 10 mm/sec eingestellt werden kann. Außerdem besteht die Wahlmöglichkeit zwischen drei Empfindlichkeitsstufen, die bei einer Druckdifferenz von 2 mmH₂O je nach Einstellung einen Zeigerausschlag von 2,5 mm, 10 mm oder 20 mm wiedergeben. Für alle Messungen im Rahmen dieser Studie wurde die Empfindlichkeitsstufe eins (kleinster Zeigerausschlag) und ein Papiervorschub von 2 mm/sec gewählt, da bei dieser Empfindlichkeitsstufe die größten Druckunterschiede (bis 70 mmH₂O) registriert werden können. Nach etwa 5 Minuten Eingewöhnungszeit wurde mit der Aufzeichnung begonnen. Bei jedem Pferd wurde zuerst ein Nullwert über mind. 10 regelmäßige Atemzüge aufgezeichnet. Im Zuge der Durchführung des HIPT und auch der Allergen-Inhalations-Provokations-Tests (AIPT) wurde während der gesamten Inhalationsdauer der indirekte Lungendruck mit Hilfe des Venti-Graphen® aufgezeichnet und später vermessen und ausgewertet. Die Auswertung erfolgte durch Ausmessen der Druckdifferenz von je zehn regelmäßigen Atemzügen mit Hilfe einer Schablone und Ermittlung des Mittelwertes.

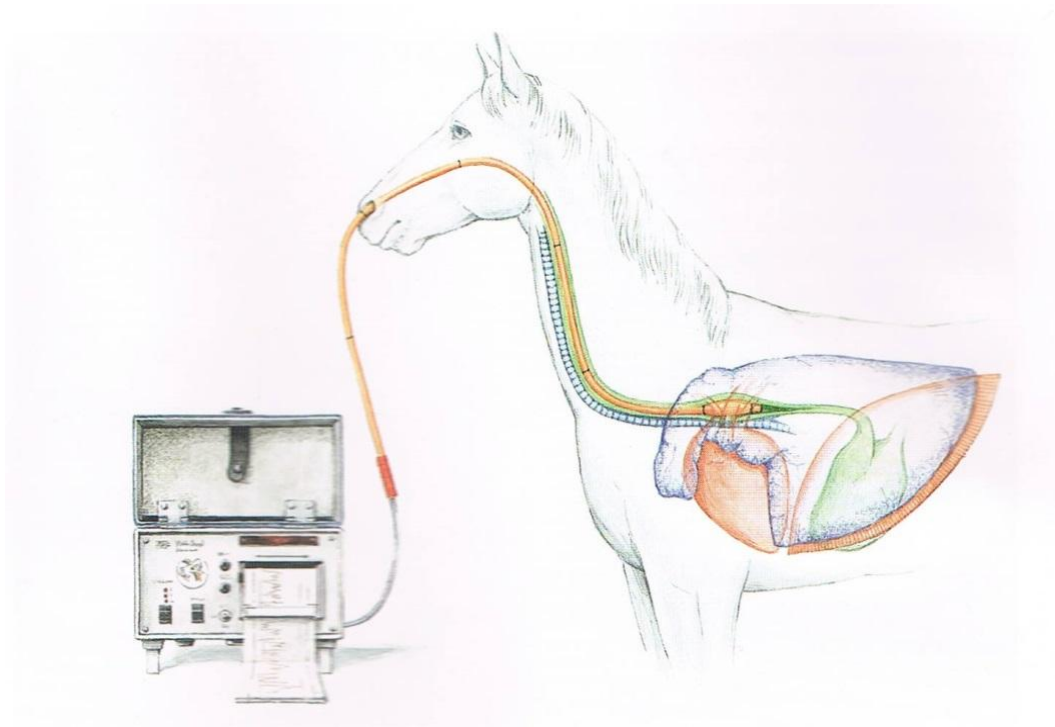


Abbildung 8: Lage der Ösophagussonde (Bild Böhringer Ingelheim)

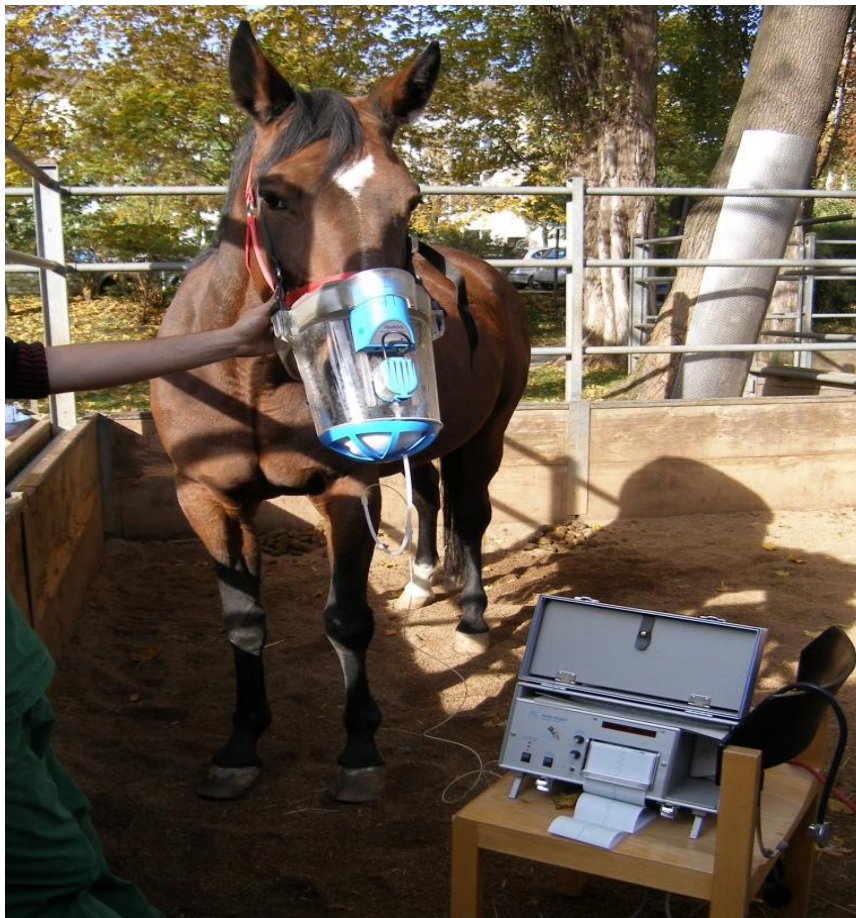


Abbildung 9: Lungendruckmessung während der Inhalation

2.3.1.4. Durchführung

Für die Durchführung des Histamin-Inhalations-Provokationstests (HIPT) wurde den Pferden in ihrer gewohnten Umgebung zuerst der Ösophaguskatheter wie beschrieben eingeführt und die Atemmaske aufgesetzt. Anschließend wurde erst ein Leerwert ohne Inhalation gemessen, dann ein Nullwert durch Verneblung von Pufferlösung (PBS) und dann Werte unter Inhalation von Histaminlösungen in aufsteigender Konzentration. Bei den lungengesunden Kontrolltieren wurde mit einer Konzentration von 0,5 mg/ml Histamindihydrochlorid begonnen, bei den lungenkranken Pferden lag die Anfangskonzentration bei 0,125 mg/ml. Jede Konzentration wurde 2 Minuten lang inhaliert, nach 3 Minuten Pause folgte die nächsthöhere Konzentration. Während jeder Inhalation wurde von einer Person das Pferd locker am Halfter fixiert, während von einer zweiten Person die Herz- und Atemfrequenz sowie das Allgemeinbefinden überwacht und dokumentiert wurden. Ebenso wurde die Lungendruckmessung über den Venti-Graphen aktiviert und aufgezeichnet. Der Provokationstest wurde abgebrochen wenn das Pferd Abwehrbewegungen, ausgeprägte Dyspnoe, vermehrtes Husten, eine Herzfrequenz über 60 b/min oder einen interpleuralen Druckanstieg von mehr als 70% über dem Ausgangswert zeigte.

2.3.2. Allergen-Inhalations-Provokations-Test (AIPT)

Analog zur Durchführung des HIPT wurde an den nächsten beiden Tagen (Tag 4 und 5) je ein Allergen-Inhalations-Provokations-Test (AIPT) durchgeführt. Anhand der vorliegenden Ergebnisse aus den bereits durchgeführten Allergietests und der allergologischen Vorgeschichte eines jeden Pferdes wurden je Pferd zwei Allergene ausgewählt, auf die das Pferd am wahrscheinlichsten allergisch reagieren sollte. Von jeder zu inhalierenden Allergenlösung (Artu Biologicals Europe B.V., Lelystad, Niederlande) wurden unmittelbar vor der Durchführung des Provokationstests drei Verdünnungen der Ursubstanz mit PBS hergestellt, so dass die Konzentrationen 1: 10, 1: 100 und 1: 1000 vorlagen (Abb. 10). Wenn ein Pferd auf Allergen 1 an Tag 4 eine positive Reaktion auf die Inhalation zeigte, wurde an Tag 5 kein zweites Allergen inhaliert, da davon auszugehen ist, dass sich die immunologischen Folgen einer allergischen Reaktion über mehrere Tage erstrecken und somit die Reaktion auf Allergen 2 nicht deutlich abgrenzbar war.

III. Material und Methoden

Den Pferden wurde wie bereits im HIPT beschrieben eine Ösophagussonde zur interpleuralen Lungendruckmessung (Venti-Graph®, Böhlinger Ingelheim) eingeführt und eine Inhalationsmaske (SaHoMa™-II) aufgesetzt. Es wurde bis zum Eintreten einer gleichmäßigen Atmung gewartet und dann mit der Inhalation von PBS begonnen. Nach zwei Minuten Pause folgte die Inhalation der individuellen Allergenlösung 1 in der Verdünnung 1: 1000. Zeigte das Pferd keine Reaktion, folgte nach einer zweiminütigen Pause die nächste Verdünnungsstufe, bis zur Verdünnung 1:10. Während jeder Inhalation wurde die Herz- und Atemfrequenz sowie das Allgemeinbefinden überwacht und protokolliert. Ebenso erfolgte während der gesamten Inhalation die Aufzeichnung der interpleuralen Druckdifferenz über den Venti-Graphen®. Als Abbruchkriterien galten wie im HIPT Abwehrbewegungen, ausgeprägte Dyspnoe, vermehrter Husten, eine Herzfrequenz über 60 b/min und ein interpleuraler Druckanstieg von mehr als 70% über dem Ausgangswert.

Um Spätreaktionen nicht zu übersehen wurden die Probanden noch über einen Zeitraum von 24 Stunden klinisch überwacht. Zusätzlich wurde 6 Stunden nach Beendigung des AIPT nochmals eine Ösophagussonde eingeführt und die interpleurale Druckdifferenz erneut mittels Venti-Graphen® gemessen.

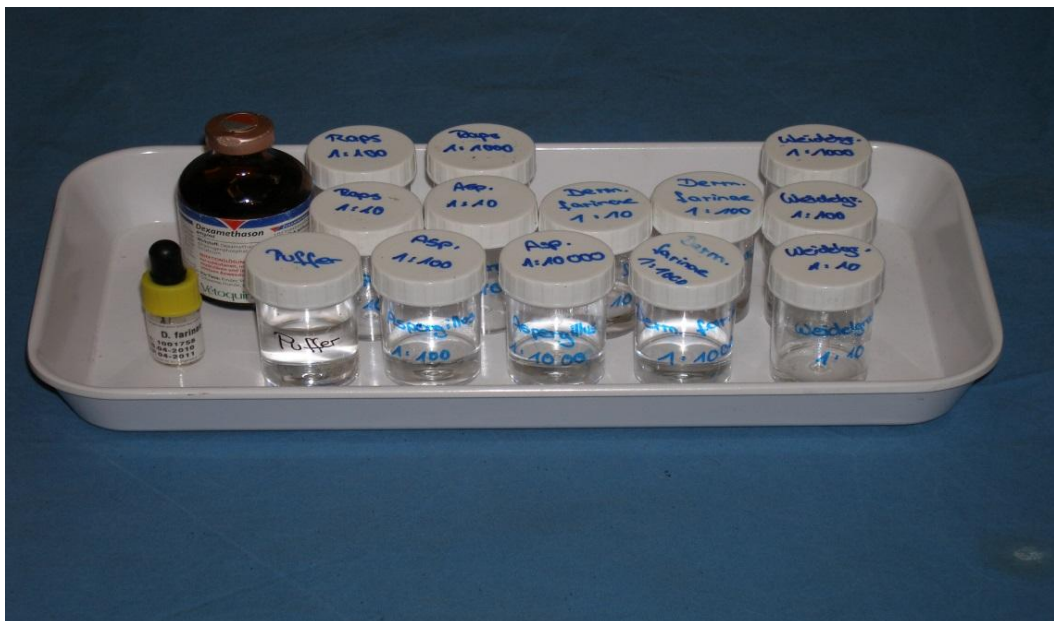


Abbildung 10: Verdünnte Allergenlösungen für die Provokationsinhalation

2.4. Statistische Untersuchungen

Alle statistischen Analysen wurden Hilfe der Software IBM SPSS 23 Statistics für Windows® und Microsoft Office Excel 2007 durchgeführt. Für alle ermittelten Ergebnisse wurden der durchschnittliche Mittelwert \pm und die Standardabweichung (SD) errechnet. Des Weiteren wurden die erhobenen Daten auf Normalverteilung überprüft.

Zur Bestimmung der Übereinstimmung der Testergebnisse in den verschiedenen Allergietests wurde der McNemar-ChiQuadrat-Test verwendet. Zur Beurteilung der Blutgasparameter diente der einfache T-Test. Zur statistischen Untersuchung der Ergebnisse der Inhalations-Challenges, insbesondere der Pleuraldruckwerte, dienten der T-Test, der Mann-Whitney-Test und der Wilcoxon-Test.

Für alle statistischen Verfahren wurden folgende Signifikanzstufen in Abhängigkeit von der Irrtumswahrscheinlichkeit p festgelegt:

$p \leq 0,001$	hoch signifikant (***)
$p \leq 0,01$	signifikant (**)
$p \leq 0,05$	schwach signifikant (*)
$p > 0,05$	nicht signifikant (n.s.)

IV. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse der Untersuchungen am Pferd

1.1. Allgemeine Angaben zur Studienpopulation

Insgesamt wurden 15 Pferde in die Studie aufgenommen, davon 6 lungengesunde Pferde (Kontrollgruppe) und 9 Pferde mit RAO (RAO-Gruppe). Das durchschnittliche Alter der Pferde in der Kontrollgruppe betrug 17 Jahre (SD=8,1), das der RAO-Pferde 14,1 Jahre (SD=4,6). Die durchschnittliche Größe der Kontrolltiere lag bei 155 cm (SD=11), die der RAO Pferde lag bei 154 cm (SD=7,5). Das Durchschnittsgewicht in der Kontrollgruppe betrug 497 kg (SD=76), in der RAO Gruppe 475,9 kg (SD=44,9). Die Geschlechterverteilung der Kontrollpferde belief sich auf einen Hengst und 5 Stuten, in der RAO-Gruppe gab es zwei Hengste, zwei Stuten und 4 Wallache.

Drei Pferde der Kontrollgruppe waren Traber (50%), zwei Haflinger (33%) und ein Warmblut (17%). In der RAO-Gruppe gab es drei Warmblüter (33%), zwei Traber (22%), und je ein Pferd der Rasse Tinker, Andalusier, Pinto und Quarter Horse (je 11%).

1.2. Ergebnisse des Vorberichts

Der Vorbericht wurde gemeinsam mit den Besitzern unter Zuhilfenahme des im Anhang aufgeführten Anamneseprotokolls erhoben. Keines der Pferde der Kontrollgruppe (Nr. 1 bis Nr. 6) zeigte vorberichtlich Leistungsschwäche, Dyspnoe oder Husten. Bei der Patientengruppe zeigten 89% (8 von 9) der Pferde eine Leistungsschwäche, 67% zumindest gelegentlich Dyspnoe (6 von 9) und alle Pferde (100%) fielen in der Vergangenheit schon mehrmals durch Husten auf. Lediglich eins (Nr. 11) von neun Pferden der Patientengruppe zeigte Symptome fast ausschließlich im Frühjahr/Sommer, bei allen anderen Tieren konnte eine Verschlechterung des Gesundheitszustands bei schlechter Stallluft und minderwertiger Heuqualität v.a. im Winter beobachtet werden (Tab. 14).

Tabelle 14: Ergebnisse des Vorberichts

Pferd Nr.	Leistungs- schwäche	Dyspnoe	Husten	Symptome am deutlichsten bei
	ja = 1, nein = 0			
1	0	0	0	-
2	0	0	0	-
3	0	0	0	-
4	0	0	0	-
5	0	0	0	-
6	0	0	0	-
7	0	0	1	Ganzjährig, Heu trocken
8	1	0	1	Ganzjährig, v.a. bei schlechter Heuqualität
9	1	1	1	Ganzjährig
10	1	0	1	Ganzjährig, v.a. bei schlechter Stallluft
11	1	1	1	Frühjahr/ Sommer
12	1	1	1	Winter bei Stallhaltung (im Sommer bei ausschließlich Weidehaltung symptomfrei)
13	1	1	1	Ganzjährig
14	1	1	1	Ganzjährig, v.a. bei schlechter Heuqualität
15	1	1	1	Ganzjährig, deutliche Verschlechterung an heißen Sommertagen

1.3. Ergebnisse der erweiterten klinischen Untersuchung und Differentialblutbild

Die Ergebnisse der klinischen Untersuchung der lungengesunden Pferde (Kontrollgruppe) zeigte keine Auffälligkeiten. Lediglich bei einem Pferd (Nr. 5) war Husten auslösbar. Die durchschnittliche Atemfrequenz in dieser Gruppe lag bei 11 Atemzügen/min, bei keinem Pferd konnte Nasenausfluss, Ruhedyspnoe oder abnorme Befunde bei der Auskultation und Perkussion der Lunge festgestellt werden. In der Patientengruppe lag die durchschnittliche Atemfrequenz bei 20 Atemzügen/min, 89% (8 von 9) der Pferde hatten Nasenausfluss, bei allen konnte Husten beobachtet oder ausgelöst werden, 67% (6 von 9) der Pferde zeigten eine Ruhedyspnoe und bei 78% (7 von 9) konnten abnorme Geräusche wie Rasseln oder Giemen bei der Auskultation der Lunge befundet werden. Ein ein handbreit vergrößertes Lungenfeld war bei 22% (2 von 9) der Pferde in der Patientengruppe

feststellbar. Die innere Körpertemperatur befand sich bei allen Pferden im Normbereich und das Differentialblutbild zeigte bei keinem der Probanden auffällige Werte, die auf eine akute Infektionskrankheit schließen ließen.

Tabelle 15: Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Pferd Nr.	Atemfrequenz/min	Nasenausfluss	Husten	Ruhedyspnoe	Auskultation	Perkussion
1	10	0	0	0	0	0
2	10	0	0	0	0	0
3	12	0	0	0	0	0
4	14	0	0	0	0	0
5	10	0	1	0	0	0
6	10	0	0	0	0	0
7	18	1	1	1	0	0
8	16	1	1	0	0	0
9	24	1	1	3	2	1
10	12	1	1	0	2	0
11	24	0	1	0	2	0
12	22	1	1	3	2	0
13	20	1	1	3	2	0
14	18	1	1	3	2	0
15	28	1	1	3	2	1

Die Punktevergabe nach OHNESORGE (1998) ist in Tabelle 5 genauer erläutert. Keine Auffälligkeiten bei allen Parametern = 0; Nasenausfluss: vorhanden = 1; Husten: spontan oder auslösbar = 1; Ruhedyspnoe: verstärkt abdominale Atmung = 1, Dampfwinde oder Nüsternblähen = 3; Auskultation: Rasseln oder Giemen = 2; Perkussion: Lungenfeld 1 handbreit erweitert = 1.

1.4. Ergebnisse der Blutgasanalyse

Die arterielle Blutgasanalyse erfolgte durch Punktion der Arteria carotis communis dextra und unmittelbarer Analyse durch ein Blutgasanalysegerät und anschließender Berechnung des A-aDO₂ wie unter III. 2.1.3. beschrieben.

Der durchschnittliche arterielle pO₂ in der Kontrollgruppe war mit 94,52 mmHg (SD=5,92) signifikant größer (p=0,03) als der durchschnittliche pO₂ in der RAO-Gruppe mit 85,11 mmHg (SD=7,87). Der durchschnittliche pCO₂ in der Kontrollgruppe mit 42,07 mmHg (SD=2,62) unterschied sich nicht signifikant von

dem in der RAO-Gruppe mit 44,44 mmHg (SD=4,69). Die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂) betrug in der Kontrollgruppe durchschnittlich 0,5 mmHg (SD=0,84) und war damit signifikant kleiner (p=0,005) als die durchschnittliche A-aDO₂ in der RAO-Gruppe mit 10,14 mmHg (SD=7,63).

Tabelle 16: Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalyse

Pferd Nr	PaO ₂	PaCO ₂	A-aDO ₂	Blutgaspunkte nach Ohnesorge
				mmHg
1	105	37	0	0
2	89	44	1	0
3	89	43	2	0
4	93	43	0	0
5	95,3	43,8	0	0
6	95,8	41,6	0	0
7	90	37	7	1
8	87	47	4	0
9	73	41	25	2
10	95	42	2	0
11	93	39	10	1
12	82	49	11	1
13	73	48	19	2
14	87	49	7	1
15	86	48	5	0

Die Blutgaspunkte nach Ohnesorge beziehen sich auf die Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂): < 7 mmHg = 0 Punkte; 7-14 mmHg = 1 Punkt; > 14 mmHg = 2 Punkte.

1.5. Ergebnisse der Tracheobronchoskopie

Bei 4 der 6 Pferde in der Kontrollgruppe konnte Sekret in der Trachea festgestellt werden, hierbei handelte es sich jedoch ausnahmslos um einzelne Sekretflocken (Grad 0-2), größere Sekretansammlungen konnten hier nicht beobachtet werden. Die Aufzweigung der Trachea war nur bei einem Pferd geringgradig verbreitert. Somit wurden in der Kontrollgruppe bei allen sechs Pferden null vergeben. In der RAO-Gruppe konnten bei allen neun Pferden deutliche Sekretansammlungen festgestellt werden und die Bifurcatio war bei allen neun Pferden zumindest geringgradig verbreitert.

Tabelle 17: Ergebnisse der Tracheobronchoskopie (Punkte nach Diekmann, 1987)

Pferd Nr.	Sekretmenge Trachea	Sekretviskosität Trachea	Carina Tracheae	Endoskopiepunkte nach Ohnesorge (1998) TBS + Carina
1	1	3	o.b.B.	0
2	0	0	o.b.B.	0
3	0	0	o.b.B.	0
4	2	1	o.b.B.	0
5	1	2	ggr. verbr.	0
6	1	3	o.b.B.	0
7	3	2	mgr. verbr.	2
8	3	3	mgr. verbr.	2
9	2	4	hgr.verbr.	2
10	3	3	ggr. verbr.	1
11	3	3	mgr. verbr.	2
12	5	4	mgr. verbr.	3
13	4	4	mgr. verbr.	3
14	4	3	mgr. verbr.	3
15	5	4	hgr.verbr.	3

1.6. Ergebnisse der zytologischen Untersuchung von TBS und BAL

Bei einem Pferd in der Kontrollgruppe und bei allen neun Pferden in der RAO-Gruppe waren neutrophile Granulozyten zahlreich oder das Zellbild dominierend vorhanden. Bei zwei Pferden in der RAO-Gruppe wurde auf Grund der Dyspnoe und der massiven Schleimansammlung in den Hauptbronchien auf die Durchführung einer BAL- Beprobung verzichtet. Die ausführlichen Ergebnisse aus TBS und BAL sind im Anhang aufgeführt.

1.7. Bewertung der Ergebnisse

Nach Auswertung aller bisherigen Ergebnisse konnten die Pferde anhand des Bewertungsscore nach Ohnesorge in vier Klassen eingeteilt werden (Tab. 18). Die Beurteilung ergab 6 lungengesunde Pferde (Gesamtscore 0-1), drei mittelgradig erkrankte Pferde (je einmal Score 4, 5 und 6) und sechs Pferde wurden als hochgradig an RAO erkrankt eingestuft (Score 7-12).

Tabelle 18: Gesamtscore nach Ohnesorge

Pferd Nr.	Husten	Dyspnoe	Auskultation	Perkussion	A-aDO₂	Bifurcatio	TBS (Menge/Viskosität)	TBS Zellen	Summe
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	1	1
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	0	0	0	0	0	0	0	1
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	1	1	0	0	1	1	1	1	6
8	1	0	0	0	0	1	1	1	4
9	1	3	2	1	2	1	1	1	12
10	1	0	2	0	0	0	1	1	5
11	1	0	2	0	1	1	1	1	7
12	1	3	2	0	1	1	2	1	11
13	1	3	2	0	2	1	2	1	12
14	1	3	2	0	1	1	2	1	11
15	1	3	2	1	0	1	2	1	11

2. Ergebnisse der Allergietests

2.1. Ergebnisse des Intrakutantests

Bei allen Tieren beider Gruppen gab es mehr als eine positive Reaktion. Insgesamt gab es bei den Kontrollpferden 85 positive Reaktionen bei 252 möglichen Reaktionen (34%), bei den RAO-Pferden waren es 111 positive Reaktionen bei 378 möglichen Reaktionen (29%). 47% der positiven Reaktion der Kontrollgruppe und 67% der positiven Reaktionen der RAO-Gruppe zeigten sich als Sofortreaktionen innerhalb der ersten Stunde nach der Injektion. Alle Reaktionen traten innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Injektion auf, nach 24 Stunden konnte bei keinem Pferd eine positive Reaktion befunden werden.

Bei den getesteten Schimmelpilzen konnte lediglich eine positive von 18 möglichen Reaktionen bei den Kontrolltieren und 3 positive von 27 möglichen Reaktionen bei den RAO-Pferden registriert werden. Dagegen reagierten alle Kontrollpferde und 8 von 9 RAO-Pferden mit einer deutlich positiven Reaktion auf das Mosquito-Allergen.

Auf die beiden Hautmilben *D. farinae* und *D. pteronyssinus* zeigten 5 der 6 Kontrollpferde und alle 9 RAO-Pferde eine positive Reaktion, während auf die Heumilbe *Lepidoglyphus destructor* nur ein Pferd in der Kontrollgruppe, jedoch 8 der 9 RAO-Pferde positiv reagierten.

Bei den Pollen gab es die meisten positiven Reaktionen auf Weidelgras (Kontrollgruppe 4/6, RAO-Gruppe 9/9), Raps (Kontrollgruppe 6/6, RAO-Gruppe 7/9) und Baumpollen 1 und 2 (Kontrollgruppe 10/12, RAO-Gruppe 1/18).

Tabelle 19a: Anzahl der positiven Reaktionen (Score ≥ 2) im Intrakutantest zu den unterschiedlichen Zeitpunkten bei den Pferden in der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe im Vergleich

Allergene	Kontrollgruppe (N = 6)			RAO-Gruppe (N = 9)		
	Early (0,5-1 h)	Late (2-4 h)	Gesamt	Early (0,5-1 h)	Late (2-4 h)	Gesamt
Schimmelpilze						
<i>Alternaria alternata</i>	1	0	1	0	1	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0	0	0	0	1	1
<i>Cladosporium herbarum</i>	0	0	0	0	1	1
Milben						
<i>D. farinae</i>	4	1	5	5	4	9
<i>D. pteronyssinus</i>	3	2	5	4	5	9
<i>T. putrescentiae</i>	1	2	3	5	0	5
<i>Acarus siro</i>	3	1	4	3	0	3
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	1	0	1	7	1	8
Pollen						
<i>Buche</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ahorn</i>	1	0	1	3	1	4
<i>Hasel</i>	1	0	1	2	0	2
<i>Silberpappel</i>	1	0	1	1	0	1
<i>Quecke</i>	1	0	1	3	2	5
<i>Weidelgras</i>	1	3	4	4	5	9
<i>Weißer Gänsefuß</i>	3	1	4	2	1	3
<i>Beifuß</i>	2	3	5	2	0	2
<i>Echte Goldrute</i>	1	3	4	1	3	4
<i>Knäuelgras 1:100</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Knäuelgras 1:5</i>	1	0	1	1	0	1
<i>Weißes Straußgras</i>	1	0	1	0	0	0
<i>Wiesenrispengras</i>	0	0	0	2	0	2
<i>Wiesenfuchsschwanz</i>	0	0	0	3	0	3
<i>Hundszahngras</i>	0	0	0	1	0	1
<i>Ambrosie</i>	1	0	1	3	0	3
<i>Kleiner Sauerampfer</i>	1	2	3	1	1	2
<i>Wolliges Honiggras</i>	1	2	3	1	0	1
<i>Spitzwegerich 1:100</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Spitzwegerich 1:5</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Glaskraut 1:100</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Glaskraut 1:5</i>	1	4	5	3	2	5
<i>Raps 1:100</i>	1	0	1	0	0	0
<i>Raps 1:5</i>	0	6	6	4	3	7
<i>Baumpollen 1</i>	1	4	5	1	0	1
<i>Baumpollen 2</i>	0	5	5	0	0	0
<i>Kräuterpollenmix</i>	0	3	3	2	0	2

Tabelle 19b: Anzahl der positiven Reaktionen (Score ≥ 2) im Intrakutantest zu den unterschiedlichen Zeitpunkten bei den Pferden in der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe im Vergleich

Allergene	Kontrollgruppe (N = 6)			RAO-Gruppe (N = 9)		
	Early (0,5-1 h)	Late (2-4 h)	Gesamt	Early (0,5-1 h)	Late (2-4 h)	Gesamt
Insekten						
<i>Kakerlake</i>	2	1	3	3	0	3
<i>Stubenfliege</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Mosquito</i>	4	2	6	4	4	8
<i>Floh</i>	1	0	1	3	1	4
Andere						
<i>Schafwolle</i>	1	0	1	0	0	0
<i>Epithelia Mix</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Katzenepithelien</i>	0	0	0	1	0	1
Gesamtpositive (Tabelle 19 a + b)	40	45	85 (34%)	75	36	111 (29%)

2.2. Ergebnisse des Fc- ϵ -Rezeptortests

Drei der 6 Kontrollpferde (50%) und 7 der 9 RAO-Pferde (78%) hatten auf mindestens ein Allergen ein positives Resultat im IgE-ELISA. Insgesamt zeigten die Kontrollpferde mehr positive Ergebnisse (26 positive von 216 möglichen, 12%) als die RAO-Gruppe (23 positive von 324 möglichen, 7%), aber der Unterschied war nicht signifikant. Bei keinem der 15 Pferde aus beiden Gruppen konnte ein IgE-Level über dem „Cut off“ von 150 Allergy Units (AU) gegen eine der vier verschiedenen Schimmelpilzarten gemessen werden. 33% der Kontrollgruppe und 56% der RAO-Pferde hatten positive IgE-Level gegen *D. farinae*, 33% der Pferde in beiden Gruppen hatten positive IgE-Level gegen *D. pteronyssinus* und 17% der Kontrolltiere und 44% der RAO-Pferde hatten positive IgE-Level über dem „Cut off“ gegen *Tyrophagus putrescentiae*, jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Kein Pferd zeigte ein positives IgE-Level gegen die Heumilbe *Lepidoglyphus destructor*. Darüber hinaus gab es 21 positive IgE-Level auf Pollen bei der Kontrollgruppe im Gegensatz zu 10 positive Resultate in der RAO-Gruppe.

Tabelle 20a: Allergen-spezifische Serum IgE Level, gemessen mit dem Fc-Epsilon-Rezeptortests (Allercept™) bei den Pferden der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe im Vergleich

Allergene	Kontrollgruppe (N = 6)				RAO-Gruppe (N = 9)			
	MW	Min	Max	N (%) +	MW	Min	Max	N (%) +
Schimmelpilze								
<i>Alternaria alternata</i>	28	6	71	0	2	0	19	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	20	4	51	0	8	0	52	0
<i>Cladosporium herbarum</i>	23	5	68	0	2	0	15	0
<i>Penicillium sp.</i>	19	1	59	0	1	0	5	0
Milben								
<i>D. farinae</i>	163	32	377	2 (33%)	219	33	708	5 (56%)
<i>D. pteronyssinus</i>	119	27	301	2 (33%)	170	52	591	3 (33%)
<i>Tyrophagus p.</i>	104	38	237	1 (17%)	238	40	703	4 (44%)
<i>Acarus siro</i>	78	2	145	0	86	12	376	1 (11%)
<i>L. destructor</i>	51	16	148	0	26	5	55	0
Pollen								
<i>Gramineae mixtum</i>	34	8	58	0	28	6	77	0
<i>Agrostis alba</i>	42	19	78	0	48	0	121	0
<i>Cynodon dactylon</i>	36	19	94	0	48	0	138	0
<i>Sorghum halepensis</i>	42	11	76	0	64	0	170	1 (11%)
<i>Rumex crispus</i>	56	13	212	1 (17%)	84	0	301	3 (33%)
<i>Plantago lanceolata</i>	158	20	414	3 (50%)	39	0	138	0
<i>Artemisia vulgaris</i>	20	10	32	0	16	0	41	0
<i>Chenopodium album</i>	58	25	114	0	55	17	117	0
<i>Urtica dioica</i>	50	11	147	0	5	0	27	0
<i>Ambrosia mixtum</i>	1	0	4	0	3	0	14	0
<i>Parietaria officinalis</i>	54	17	185	1 (17%)	24	8	45	0
<i>Salsola kali</i>	78	8	208	2 (33%)	123	2	377	2 (22%)
<i>Betula sp.</i>	108	6	214	3 (50%)	20	0	94	0
<i>Alnus sp.</i>	140	0	333	2 (33%)	81	5	289	2 (22%)
<i>Quercus sp.</i>	35	8	79	0	5	0	24	0
<i>Cypressus sp.</i>	10	0	29	0	19	0	111	0
<i>Corylus avellana</i>	79	6	184	2 (33%)	51	11	116	0
<i>Ulmus campestris</i>	27	6	88	0	42	0	172	1 (11%)
<i>Fagus sylvatica</i>	85	0	277	1 (17%)	36	0	133	0
<i>Populus sp.</i>	117	0	266	2 (33%)	46	5	177	1 (11%)
<i>Acer pseudoplatanus</i>	46	1	110	0	23	0	77	0
<i>Salix sp.</i>	68	0	209	1 (17%)	8	0	30	0
<i>Olea euopaea</i>	201	8	646	2 (33%)	42	0	146	0
<i>Cryptomeria sp.</i>	22	1	52	0	45	0	111	0

N (%) + = Anzahl und Prozentsatz der Pferde mit einem positiven Ergebnis.

MW = Mittelwert aller gemessenen AU in dieser Gruppe;

Min = kleinster gemessener Wert; Max = größter gemessener Wert.

Tabelle 20b: Allergen-spezifische Serum IgE Level, gemessen mit dem Fc-Epsilon-Rezeptortests (Allercept™) bei den Pferden der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe im Vergleich

Insekten								
<i>Ctenocephalides salivae</i>	22	0	105	0	10	0	31	0
<i>Blattella germanica</i>	79	5	292	1 (17%)	14	0	109	0
Andere		0	0			0	0	
<i>Felis catus epithelium</i>	25	0	104	0	11	0	37	0
Gesamt Positive (Tabelle 20 a + b)				26 (12%)				23 (7%)

N (%) += Anzahl und Prozentsatz der Pferde mit einem positiven Ergebnis.

MW = Mittelwert aller gemessenen AU in dieser Gruppe;

Min = kleinster gemessener Wert; Max = größter gemessener Wert.

2.3. Ergebnisse des FIT

Die Ergebnisse des FIT dokumentieren laut Laborbericht den aktuellen funktionellen Sensibilisierungsgrad (Reaktionsbereitschaft) der basophilen Granulozyten in der untersuchten Blutprobe. Ein positives Ergebnis spricht demnach für eine funktionell deutlich ausreichende bis höchstgradige Typ-I-allergische Reaktionsbereitschaft gegen die eingesetzten Allergenpräparationen.

Alle Pferde beider Gruppen zeigten auf mindestens eine der 27 getesteten Allergenpräparationen ein positives Testergebnis. Insgesamt gab es in der Kontrollgruppe 77 positive Ergebnisse von 162 Möglichen (48%), in der RAO-Gruppe gab es 104 positive Ergebnisse von 243 Möglichen (43%). Alle 9 RAO-Pferde und 4 von 6 Pferden in der Kontrollgruppe zeigten ein positives Ergebnis auf die Präparation „Schimmelpilz-Mix“. Ähnlich viele positive Resultate zeigten sich auch gegen Milben und Insekten, gegen die mit Ausnahme der Heumilbe *Lepidoglyphus* (33% Positive in der Kontrollgruppe, 44% Positive in der Patientengruppe) durchwegs in beiden Gruppen über 50% der Tiere ein positives Resultat hatten. Gegen die getesteten Pollen-Präparationen zeigten in beiden Gruppen 0-50% der Pferde eine positive Reaktionsbereitschaft, mit Ausnahme von Raps, bei dem die Reaktionsbereitschaft in der Kontrollgruppe mit 83% und in der RAO Gruppe mit 67% positiven Ergebnissen deutlich höher lag. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

Tabelle 21: Ergebnisse des Funktionellen In Vitro Tests (FIT) beider Gruppen im Vergleich

Allergene	Kontrollgruppe (N = 6)		RAO-Gruppe (N = 9)	
	MW	N (%) +	MW	N (%) +
Schimmelpilze				
<i>Schimmelpilz-Mix</i>	2	4 (67%)	3	9 (100%)
<i>Hautpilz-Mix</i>	1	1 (17%)	0	1 (11%)
Milben				
<i>D. pteronyssinus</i>	2	4 (67%)	2	5 (56%)
<i>L. destructor</i>	1	2 (33%)	1	4 (44%)
<i>Acarus siro</i>	2	4 (67%)	2	6 (67%)
Pollen				
<i>Gräser-Mix (Pollen)</i>	0	0	0	1 (11%)
<i>Baum-Mix (früh)</i>	1	1 (17%)	1	3 (33%)
<i>Baum-Mix (spät)</i>	1	2 (33%)	1	3 (33%)
<i>Spätpollen-Mix</i>	1	1 (17%)	1	2 (22%)
<i>Mais</i>	1	2 (17%)	1	2 (22%)
<i>Roggen</i>	1	3 (50%)	1	2 (22%)
<i>Weizen</i>	0	1 (17%)	1	2 (22%)
<i>Hafer</i>	1	1 (17%)	1	4 (44%)
<i>Gerste</i>	1	2 (33%)	1	2 (22%)
<i>Haselnuss</i>	0	0	0	1 (11%)
<i>Raps</i>	3	5 (83%)	2	6 (67%)
<i>Birke</i>	1	1 (17%)	1	2 (22%)
<i>Gräser-Mix (Korn)</i>	1	3 (50%)	1	3 (33%)
Insekten				
<i>Culicoides nubeculosus</i>	2	5 (83%)	1	4 (44%)
<i>Wadenstecher</i>	2	4 (67%)	1	3 (33%)
<i>Kriebelmücke</i>	2	4 (67%)	1	4 (44%)
<i>Eintagsfliege</i>	3	5 (83%)	2	6 (67%)
<i>Motte</i>	3	5 (83%)	2	8 (89%)
<i>Stechmücke</i>	3	5 (83%)	2	9 (100%)
<i>Pferdebremse</i>	3	5 (83%)	1	4 (44%)
<i>Hausfliege</i>	2	3 (50%)	1	3 (33%)
<i>Feuerameise</i>	2	4 (67%)	2	5 (56%)
Gesamt Positive		77 (48%)		104 (43%)

MW = Mittelwert; N (%) + = Anzahl und Prozentsatz der Pferde mit einem positiven Ergebnis. Als positiv galten alle Testergebnisse mit einem Wert ≥ 2 (Interne Einteilung), das entspricht dem vom Labor übermittelten Wert 1+, der laut Labor als eindeutig positiv zu bewerten ist.

2.4. Ergebnisse des Allergie-40 Profil IgE (Pferd) ELISA

Insgesamt gab es im Allergie-40 Profil IgE (Pferd) ELISA der Firma IBL-Hamburg (im nachfolgenden IBL genannt) 11 positive Ergebnisse von 240 Möglichen (5%) in der Kontrollgruppe und 28 positive Ergebnisse von 360 möglichen Ergebnissen (8%) in der RAO-Gruppe. Während in der Kontrollgruppe keines der 6 Kontrollpferde ein positives Resultat auf eine der sechs Schimmelpilzgattungen aufwies gab es bei den Pferden in der RAO-Gruppe insgesamt 10 positive Ergebnisse von 54 möglichen Reaktionen auf Schimmelpilze (19%). Ebenso gab es kein positives Resultat in der Kontrollgruppe auf die sechs verschiedenen Milbenarten, wobei auch in RAO Gruppe lediglich ein Pferd einen positiven IgE-Spiegel gegen *Tyrophagus* aufwies (1 aus 54, entspricht 2%). Auf Pollenallergene gab es in der Kontrollgruppe 7 positive Ergebnisse (5%), in der RAO-Gruppe 15 positive Ergebnisse (7%), die sich überwiegend gleichmäßig auf die 23 getesteten Pollenallergene verteilen (s. Tab. 22). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

Tabelle 22: Anzahl positiver Testergebnisse des IBL (Synlab) beider Pferdegruppen im Vergleich

Allergene	Kontrollgruppe (N=6) N (%) +	RAO Gruppe (N=9) N (%) +
Schimmelpilze		
<i>Alternarium alternata</i>	0	1 (11%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0	3 (33%)
<i>Epicoccum nigrum</i>	0	0
<i>Cladosporium herbarum</i>	0	2 (22%)
<i>Penicillium notatum</i>	0	4 (44%)
<i>Ustilago tritici</i>	0	0
Milben		
<i>Acarus</i>	0	0
<i>D. farinae</i>	0	0
<i>D. pteronyssinus</i>	0	0
<i>Tyrophagus</i>	0	1 (11%)
<i>Glycyphagus domesticus</i>	0	0
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	0	0
Pollen		
<i>Birke</i>	0	0
<i>Buche</i>	0	0
<i>Erle</i>	1 (17%)	1 (11%)
<i>Hasel</i>	0	0
<i>Weide</i>	0	2 (22%)
<i>Gräsermix</i>	1 (17%)	1 (11%)
<i>Roggen</i>	1 (17%)	2 (22%)
<i>Raps</i>	0	1 (11%)
<i>Ragweed</i>	0	1 (11%)
<i>Sauerampfer</i>	1 (17%)	2 (22%)
<i>Wegerich</i>	1 (17%)	1 (11%)
<i>Weißer Gänsefuß</i>	0	2 (22%)
<i>Löwenzahn</i>	0	1 (11%)
<i>Brennnessel</i>	0	0
<i>Beifuß</i>	0	0
<i>Weizen</i>	1 (17%)	0
<i>Gerste</i>	0	1 (11%)
<i>Hafer</i>	0	0
<i>Mais</i>	1 (17%)	0
<i>Melasse</i>	0	0
<i>Soja</i>	0	0
<i>Hefe</i>	0	0
<i>Luzerne</i>	0	0
Insekten		
<i>Floh</i>	2 (33%)	1 (11%)
<i>Bremse (Tabanus spp.)</i>	0	0
<i>Gnitze (Culicoides spp.)</i>	0	0
<i>Wadenstecher (Stomoxys spp.)</i>	2 (33%)	1 (11%)
<i>Kriebelmücke (Simulium spp.)</i>	0	0
Gesamt Positive	11 (5%)	28 (8%)

N (%) + = Anzahl und Prozentsatz der Pferde mit einem positiven Ergebnis. Als positiv galten alle Testergebnisse mit einem Wert ≥ 2 (übermittelte Einteilungskategorie des Laborberichtes).

2.5. Vergleich der Allergietests

Die Gesamtzahl der positiven Ergebnisse aus den vier verschiedenen Allergietests zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der RAO-Gruppe. Bei drei der vier Tests gab es in der Kontrollgruppe prozentual sogar mehr positive Ergebnisse als in der RAO-Gruppe (s. Abb. 11).

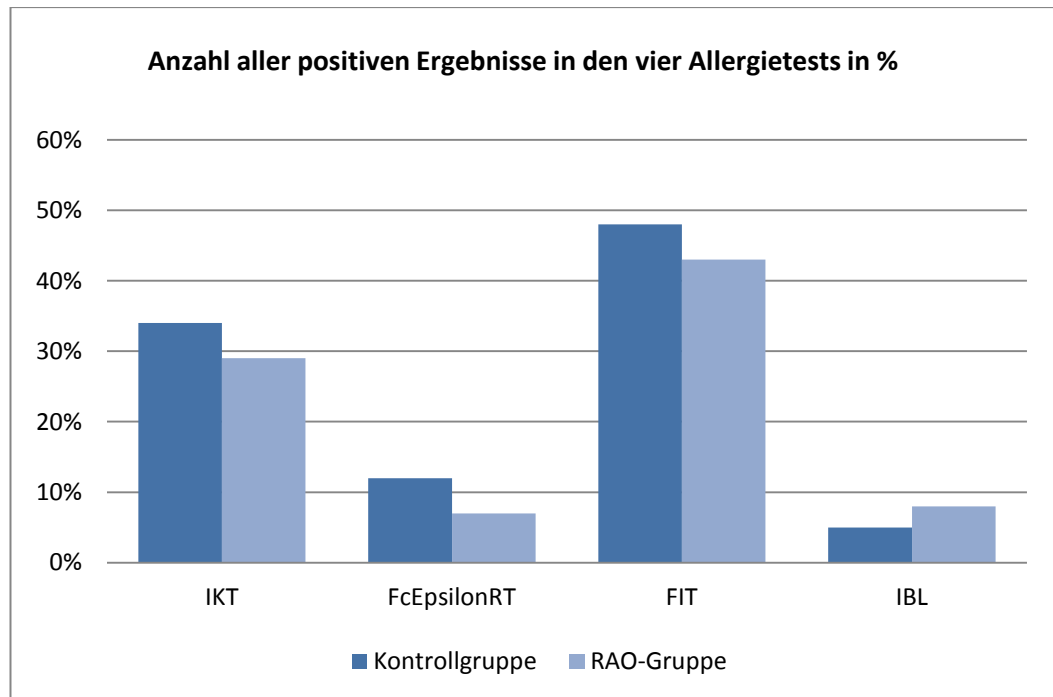


Abbildung 11 : Anzahl der gesamtpositiven Ergebnisse in den vier Allergietests in %

Betrachtet man die positiven Ergebnisse auf die getesteten Schimmelpilz-Präparationen, so zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den angewandten Allergietests. Während es im Fc-Epsilon-Rezeptor-Test in beiden Gruppen kein einziges positives Resultat bei den vier getesteten Schimmelpilzen gab, wiesen im FIT 100% der RAO-Pferde und 67% der Pferde in der Kontrollgruppe eine Sensibilisierung gegen den dort getesteten Schimmelpilz-Mix auf. Im Intrakutantest gab es in der Kontrollgruppe eine positive Reaktion auf *Alternaria alternata* (1 von 18; 6%) und in der RAO-Gruppe je eine positive Reaktion auf *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus* und *Cladosporium herbarum* (3 von 27; 11%). Im IBL wurden mit 6 verschiedenen Schimmelpilzen die meisten Schimmelpilzarten getestet. Hier gab es in der Kontrollgruppe kein einziges

positives Ergebnis, während in der RAO-Gruppe insgesamt 10 positive Ergebnisse zu verzeichnen waren (10 von 54; 19%). Diese teilten sich wie folgt auf: *Alternaria alternata*: 1 positives Resultat (PR), *Aspergillus fumigatus*: 3 PR, *Cladosporium herbarum*: 2 PR, *Penicillium notatum*: 4PR (Abb. 12).

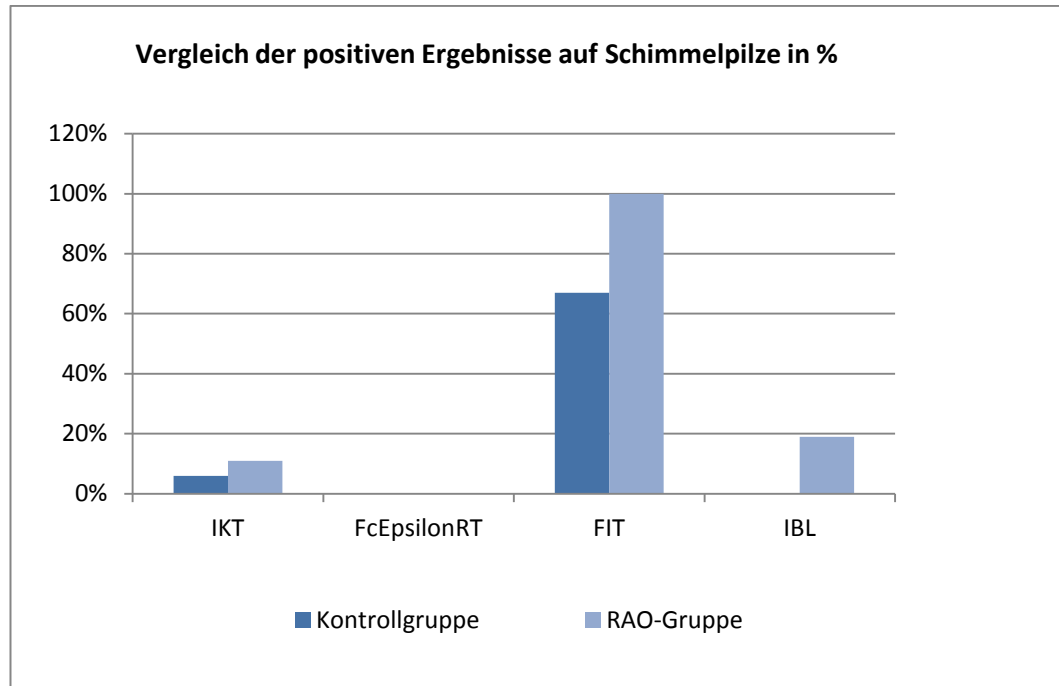


Abbildung 12: Vergleich der positiven Ergebnisse aus den vier Allergietests auf Schimmelpilze in %

Ebenfalls sehr unterschiedliche Ergebnisse zwischen den Allergietest erhielt man bei der Betrachtung der Reaktionen auf Milbenantigen. Während im IKT und im FIT in beiden Gruppen ähnlich viele Pferde eine Sensibilisierung gegen die getesteten Milbenarten aufweisen (IKT: 60% in der Kontrollgruppe und 76% in der RAO-Gruppe; FIT: 56% in beiden Gruppen), wiesen die Serumtests deutlich weniger positive Resultate (PR) auf. So gab es im Fc- ϵ -Rezeptortest 17% PR in der Kontrollgruppe und 29% PR in der RAO-Gruppe, während im IBL kein Pferd in der Kontrollgruppe und lediglich ein Pferd in der RAO-Gruppe ein PR auf eine der sechs getesteten Milbenarten aufwies (2%) (s. Abb. 13).

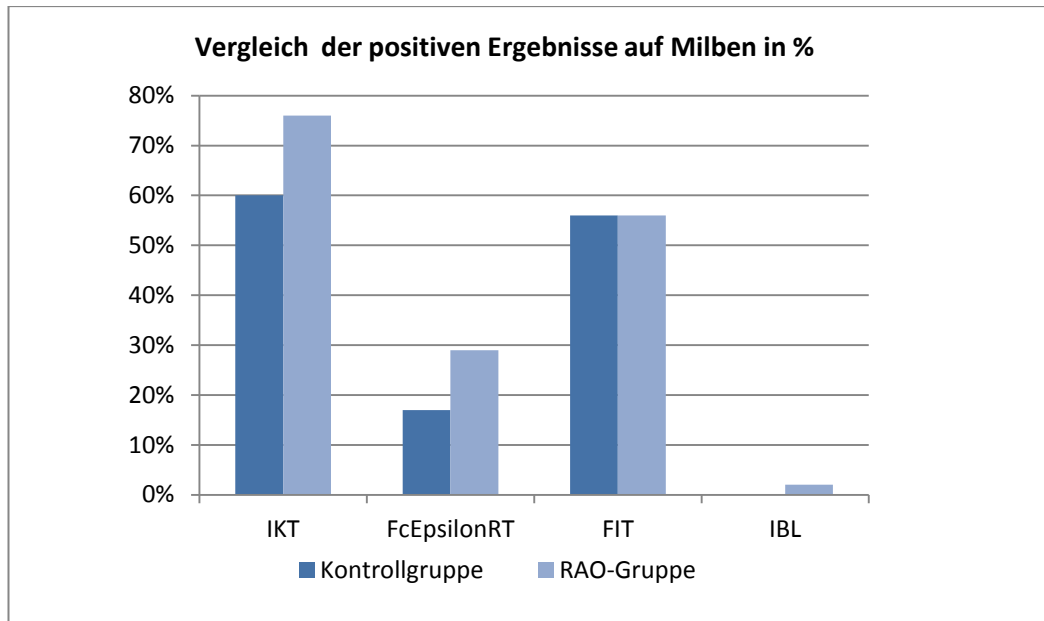


Abbildung 13: Anzahl der positiven Ergebnisse in den vier Allergietests auf Milben in %

3. Ergebnisse der Provokationstests

3.1. Ergebnisse des Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT)

Zur objektiven Beurteilung der Reagibilität der Atemwege und um eine Referenz für den später durchgeführten Allergen-Inhalations-Provokations-Test (AIPT) zu erhalten, wurde bei allen 6 Kontrollpferden und bei 8 der 9 Pferde aus der Patientengruppe ein Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT) durchgeführt. Bei einem Pferd (Nr. 15) war auf Grund des starken Hustenreizes ein Verschieben der Ventigraphen-Sonde nicht möglich und die Durchführung des HIPT und des AIPT wurde deshalb auf Grund des schlechten Gesundheitsstatus unterlassen. Bei allen 14 Pferden, bei denen der HIPT durchgeführt wurde, konnte auf Grund der klinischen Symptome wie Husten, deutlich forcierte Atmung oder plötzliche Abwehrreaktionen die Histaminkonzentration, die bei dem jeweiligen Pferd zu einer deutlichen Bronchokonstriktion und somit zum Abbruch des Testes geführt hat, eindeutig bestimmt werden. In der Kontrollgruppe zeigte sich eine deutliche Reaktion bei einer Histaminkonzentration zwischen 4 und 64 mg/ml (MW: 26 mg HDC/ml), in der RAO-Gruppe lag die Abbruchkonzentration zwischen 0,125 und 4 mg HDC/ml (MW: 1,95 mg HDC/ml). Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,003$).

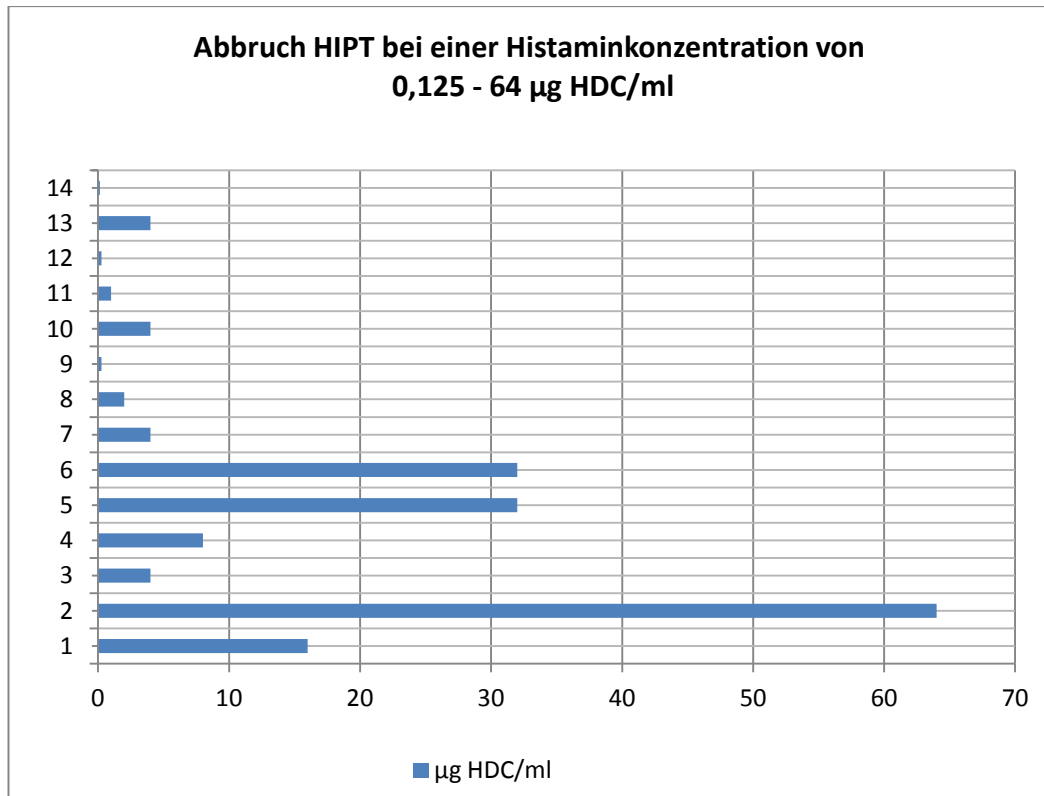


Abbildung 14: Abbruchkonzentrationen im HIPT

Pferd Nr. 1 bis Pferd Nr. 6 = Kontrollgruppe

Pferd Nr. 7 bis Pferd Nr. 14 = RAO Gruppe

Die Lungendruckmessung stellte sich dagegen nicht in allen Fällen als hilfreiche objektive Messapparatur dar. Das Vorschieben der Sonde in den Ösophagus bis auf Höhe der Herzbasis gelang bei allen Pferden (bis auf Pferd Nr. 15) mit Hilfe einer Nasenbremse ohne größere Schwierigkeiten. Einige Pferde schienen allerdings auch nach 30 min immer noch irritiert durch die Sonde, atmeten flach und unregelmäßig, versuchten scheinbar immer wieder das ungewohnte Gefühl durch Kauen oder Husten zu verdrängen oder spielten mit der Nüster an der Sonde. Außerdem unterschieden sich die gemessenen Lungendrucke bei den Leerwerten (Messung ohne Inhalation und mit Inhalation von Pufferlösung PBS) an den unterschiedlichen Untersuchungstagen und Tageszeiten zum Teil erheblich.

3.2. Ergebnisse des Allergen-Inhalations-Provokations-Tests (AIPT)

Bei zwei Pferden (Nr. 9 und Nr. 15) wurde auf Grund des schlechten respiratorischen Allgemeinbefindens und der nicht absehbaren gesundheitlichen Folgen bei einer positiven Reaktion auf eine Allergeninhalation verzichtet. Bei drei Pferden (Nr. 4, 13 und 14) wurde eine positive Reaktion auf die Inhalation von Allergen 1 vermutet und daher an Tag 5 kein zweites Allergen inhaliert. Bei zwei Pferden (Nr. 13 und Nr. 14) war nach der Inhalation von Allergen 1 eine bronchodilatatorische (Salbutamol, Salbutamol Ratiopharm®) und immunsuppressive (Beclomethason, Sanasthmax®) Inhalationstherapie notwendig, da die Pferde eine ausgeprägte Dyspnoe zeigten. Somit wurden insgesamt 23 Allergeninhalationen durchgeführt, je zwei Allergene bei 10 Pferden und je ein Allergen bei 3 Pferden.

Während den Allergen-Inhalationen und 6 h danach wurden bei allen Pferden die Atem- und Herzfrequenz und der Interpleuraldruck gemessen sowie das Allgemeinbefinden dokumentiert. Für die weitere Auswertung der erhobenen Daten wurde für alle Werte der relative prozentuale Anstieg im Vergleich zur Inhalation mit PBS (=100%) berechnet. Zu keinem Zeitpunkt konnte in einer der beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg der Atem- und Herzfrequenz gemessen werden. Einen signifikanten Anstieg des Intrapleuraldruckes beim AIPT im Vergleich zur PBS-Inhalation wurde in der RAO-Gruppe 6 Stunden nach Inhalation von Allergen 1 verzeichnet ($p=0,016$). Dies ist vor allem auf die Reaktion von Pferd Nr. 13 (Allergen: *Cladosporium herbarum*) und Nr. 14 (Allergen: *Aspergillus fumigatus*) zurückzuführen, die sechs Stunden nach der Allergen-Challenge einen um 336,8% (Nr. 13) und 367,5% (Nr. 14) erhöhten Interpleuraldruck aufwiesen, obwohl während der Inhalationen zunächst kein Druckanstieg zu verzeichnen war. Bei beiden Pferden fiel während der Allergeninhalation vermehrtes Husten auf, weswegen bei Pferd Nr. 14 nur die niedrigste Allergenkonzentration (1:1000) inhaliert wurde.

Bei der Inhalation von Allergen 2 konnte bei keinem Pferd zu keinem Zeitpunkt eine klinische Reaktion oder ein Anstieg des Lungendrucks festgestellt werden.

V. DISKUSSION

1. Auswahl und Einteilung der Pferde nach dem Score-System

Alle Pferde wurden anhand anamnestischer, klinischer, endoskopischer und zytologischer Befunde sowie arterieller Blutgasbefunde mit Hilfe eines Score-Punktesystems bewertet und in die Gruppen gesund, geringgradig, mittelgradig und hochgradig an RAO erkrankt eingeteilt. Diese Bewertung war vor allem für die Verifizierung der lungengesunden Kontrolltiere unerlässlich.

Bei den Pferden der lungengesunden Kontrollgruppe handelte es sich um universitätseigene Pferde, die in den Stallungen der veterinärmedizinischen Universität in München gehalten werden. Obwohl sie nach der Einteilung nach dem Ohnesorge-Score als lungengesund galten und bei keinem der Pferde in den letzten Jahren Husten oder Dyspnoe aufgefallen war, waren diese Pferde auf Grund ihrer bewegungsarmen Haltung, der fehlenden Fitness und auf Grund ihres fortgeschrittenen Alters in einigen Untersuchungsmerkmalen, insbesondere den gemessenen Lungendrücken, keine ideale Referenz als lungengesunde Kontrollgruppe. Dennoch haben wir uns bewusst dafür entschieden in die Kontrollgruppe Pferde ähnlichen Alters wie in der Patientengruppe aufzunehmen, da die Ergebnisse aus den Allergietests und Provokationstests somit klinisch relevanter und vergleichbarer waren.

2. Diskussion der Ergebnisse aus den Allergietests

2.1. Diskussion der Ergebnisse aus dem Intrakutantest

Die Durchführung des Intrakutantests verlief bei allen 15 Pferden problemlos. Das betreffende Hautareal wurde lediglich geschoren und nicht wie von einigen Autoren bevorzugt (HAMPEL et al., 2008; LORCH et al., 2001a & b) rasiert und mit Alkohol desinfiziert, um keine Mikroläsionen und Schwellungen der Haut zu produzieren. Dennoch wurden bei keinem Pferd Hautinfektionen oder ähnliche Komplikationen beobachtet. Die nach der Injektion entstandenen Quaddeln wurden wie beschrieben optisch und palpatorisch nach Größe und Derbheit im

Vergleich zu den Kontrollsubstanzen PBS und Histamin bewertet (=Referenzverfahren). Die von FADOK und GREINER (1990) beschriebene und seitdem von einigen Autoren (HAMPEL et al., 2008; MCGORUM et al., 1993a; WONG et al., 2005; TAHON et al., 2009) bevorzugte Methode, bei der die Quaddelgröße mit Hilfe einer Schiebelehre vermessen wird, wurde nach einem Probeversuch als zu aufwendig eingestuft um die große Anzahl der getesteten Allergene ohne große Zeitverzögerung bewerten zu können.

Der Intrakutantest lieferte mit insgesamt 31% (196 von 630) eindeutig positiven Resultaten auffallend viele positive Ergebnisse. Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe (34% Positive) und der RAO-Gruppe (29% Positive). Diese Zahlen decken sich mit den Ergebnissen anderer Studien. So protokollierten SCHATZMANN u. GERBER (1972) 40% positive Reaktionen nach 15 bis 30 min bei der Anwendung des Intrakutantest mit 16 verschiedenen Antigen-Präparationen bei 386 Pferden mit RAO. LORCH et al. (2001a) führten bei 22 Pferden ohne Atopie und 16 Pferden mit RAO einen Intrakutantest mit 73 Allergenen durch. Sie konnten nach 30 min. 48% positive Reaktionen in der Kontrollgruppe und 55% positive Reaktionen in der RAO Gruppe feststellen, wobei die durchschnittliche Anzahl positiver Reaktionen je Pferd nach 30 min, 4 und 6 Stunden in der Kontrollgruppe signifikant größer war als in der RAO Gruppe. Auch in der vorliegenden Arbeit gab es in der Kontrollgruppe zu diesen Zeitpunkten mehr positive Reaktionen als in der RAO-Gruppe. Im Gegensatz dazu wurden in drei Studien (EVANS et al., 1992; HALLIWELL et al., 1979; TAHON et al., 2009) bei Pferden mit RAO (COPD) ein signifikant höherer Prozentsatz an positiven Reaktionen im IKT beobachtet als bei Pferden ohne RAO. TAHON et al. (2009) konnten lediglich nach 4 Stunden eine signifikant größere Anzahl an positiven Reaktionen in der RAO Gruppe feststellen, nicht jedoch zu den anderen Ablesezeitpunkten nach 30 min, 1h, 4h, 8h, 10h, 24h und 48h. HALLIWELL et al. (1979) stellten bei ihrem IKT mit Schimmelpilze, Heustaub, Stallstaub, Getreidemix, Sojabohne oder thermophile Actinomyceten nach 30 min. und vier Stunden signifikant mehr positive Reaktionen bei Pferden mit einer chronischen Lungenerkrankung (n=25) fest als bei gesunden Pferden (n=25). Die Allergenauswahl unterscheidet sich dabei stark von der Allergenauswahl der vorliegenden Arbeit und somit können die Ergebnisse nicht miteinander verglichen werden. Da es insgesamt allerdings etwa gleich viele

Veröffentlichungen gibt, in denen entweder in der RAO-Gruppe oder in der Kontrollgruppe mehr positive Reaktionen im IKT beobachtet wurden, kann daraus geschlossen werden, dass die Gesamtanzahl positiver Reaktionen im IKT nicht im Zusammenhang mit der Erkrankung „RAO“ steht, sondern vielmehr unabhängig von einer Lungenerkrankung lediglich eine Übersicht über die Reaktionsbereitschaft der Hautmastzellen darstellt.

Auch die Betrachtung der positiven Reaktionen zu den unterschiedlichen Ablesezeitpunkten ergibt sehr inhomogene Ergebnisse bei den verschiedenen Studien. So gibt es im IKT von TAHON et al. (2009) mit 17 verschiedenen Allergenen im Gegensatz zu den meisten anderen Studien einschließlich der vorliegenden Arbeit auffallend wenige frühe Reaktionen (0,5-1h), dafür aber mehrere späte Reaktionen (24-48h) bei einem rekombinanten *Aspergillus* und *Candida albicans*. Möglicherweise sind die vermehrten Spätreaktionen bei TAHON et al. auf die verwendeten rekombinanten Allergene bzw. *Candida albicans* zurückzuführen, die in anderen Studien kaum verwendet wurden. Diese Hypothese steht im Einklang mit den Ergebnissen von HALLIWELL et al. (1979), die nach 48 Stunden nur noch bei der Präparation aus *Candida albicans* eine positive Reaktion verzeichnen konnten, nicht jedoch auf alle anderen getesteten Allergene. EVANS et al. (1992) registrierten nach 15-30 min 38% und nach 4-6 h 36% positive Ergebnisse bei RAO-Pferden (n=6) und 31% bzw. 21% bei den gesunden Kontrolltieren (n=11). Dieses Ergebnis deckt sich weitgehend mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, bei dem alle positiven Reaktionen innerhalb der ersten 4 Stunden festgestellt werden konnten. Nach 24 h konnten EVANS et al. nur noch 6% positive Ergebnisse bei den RAO Pferden und 2% in der Kontrollgruppe verzeichnen, während in der vorliegenden Arbeit nach 24 h keine positive Reaktion mehr beobachtet werden konnte.

Auch die auffallend vielen positiven Testergebnisse auf Milbenantigene in der vorliegenden Arbeit (60% in der Kontrollgruppe, 76% in der RAO-Gruppe) und Mosquito (Gesamt: 93% Positive) decken sich mit den Ergebnissen anderer Studien (TAHON et al., 2009). Ebenfalls viele positive Ergebnisse zeigten sich auf die Allergenlösungen Raps (Gesamt: 87% Positive) und Weidelgras (Gesamt: 87% Positive), zu denen es allerdings nach Wissen der Autorin keine publizierten Zahlen aus anderen Studien gibt. Dagegen gab es in der vorliegenden Arbeit wie auch in vergleichbaren Studien (LORCH et al, 2001; TAHON et al., 2009) wenige

positive Reaktionen auf die getesteten Schimmelpilze (6% in der Kontrollgruppe, 11% in der RAO-Gruppe). Lediglich MCPHEARSON et al. (1979) konnten bei den Schimmelpilzen *Aspergillus fumigatus* und *Micropolyspora faeni* zahlreiche und signifikant mehr positive Reaktionen in der COPD-Gruppe (17/34 und 25/35) als in der Kontrollgruppe (5/39 und 14/45) feststellen. WONG et al. (2005a) fordern eine höhere Konzentration der Schimmelpilz-Präparationen für den IKT, insbesondere bei *Aspergillus fumigatus* konnten WONG et al. somit mehr positive Resultate erzielen.

Zusammenfassend kann die Aussage von SCHATZMANN u. GERBER (1972), dass der IKT zu viele falsch positive Ergebnisse gegen gewöhnliche Stall-Antigene liefert, mit den vorliegenden Ergebnissen bestätigt werden.

Die Schwierigkeiten einer präzisen Diagnose auslösender Agentien allergischer Symptome sehen NORMAN et al. (1973) auch bei der Anwendung des IKT am Menschen. Sie fassen die Probleme wie folgt zusammen:

- Positive Hauttest- Ergebnisse werden auch bei Patienten festgestellt, die abstreiten auf Kontakt mit dem entsprechenden Antigen allergisch zu reagieren
- Patienten mit charakteristischen allergischen Symptomen und positiven Ergebnis eines Schleimhaut Provokationstests können im IKT negativ reagieren
- Der Gleiche Extrakt in gleicher Konzentration, in verschiedene Hautbereiche injiziert, kann deutlich unterschiedliche Reaktionen hervorrufen
- Antigen-Extrakte können sich hinsichtlich ihrer Potenz von Herstellungscharge zu Herstellungscharge beträchtlich unterscheiden
- Im Patienten vorhandene Wirkstoffe, die Histamin-Rezeptoren blockieren, können das Ergebnis des IKTs verfälschen

Diese Probleme für den IKT in der Humanmedizin sind auch nach über 40 Jahren noch aktuell und auf den Intrakutantest beim Pferd übertragbar. Die unterschiedliche Ausprägung der Quaddeln an unterschiedlichen Lokalisationen stellen laut WONG et al. (2005b) kein limitierendes Problem dar. Die Autoren konnten nach intradermaler Histamininjektion bei 12 gesunden Pferden wiederholbar Quaddeln von einheitlicher Größe an unterschiedlichen

Lokalisationen erzeugen. Dieser Aussage widersprechen allerdings die Ergebnisse aus der Studie von HAMPEL et al. (2008), die bei Injektion der gleichen Menge der gleichen Test- und Kontrollsubstanz an unterschiedlichen Lokalisationen am selben Tier zeitgleich deutlich unterschiedliche Ergebnisse erzielten. Das Problem unterschiedlicher Hautdicke und Empfindlichkeit bei unterschiedlichen Pferderassen wurde daher in der vorliegenden Arbeit dadurch umgangen, dass alle Reaktionen in Bezug auf die Negativ- (PBS) und Positivkontrollquaddeln (Histaminlösung) bewertet wurden.

Hinzuzufügen ist das Problem der Herstellung jeglicher Allergenlösungen, bei der unweigerlich Epitope zerstört werden. Sind diese Epitope entscheidend für die Bindung an den Mastzellantikörpern, kann das Testresultat trotz vorhandener Sensibilisierung der Mastzellen negativ ausfallen. Dagegen kann bei einem positiven Hauttest-Resultat lediglich die Aussage getroffen werden, dass die Mastzellen der Haut gegenüber diesem Allergen sensibilisiert sind. Um jedoch tatsächlich eine allergische Reaktion auslösen zu können, sind viele weitere Immunmechanismen involviert. Das erklärt möglicherweise die zahlreichen positiven Reaktionen in dieser Studie ohne dazugehöriges klinisches Krankheitsbild einer Allergie. Darüber hinaus kann sich die Sensibilisierung der Effektorzellen der Haut entscheidend von der Sensibilisierung der Immunzellen in anderen Geweben, wie z.B. den Mastzellen und basophilen Granulozyten in der Lunge unterscheiden (MCGORUM et al., 1993a).

2.2. Diskussion der Ergebnisse aus dem FIT

Der Funktionelle In Vitro Test zeigte mit insgesamt 45% (181 von 405 getesteten Allergenpräparationen) eindeutig positiven Resultaten (Labor: 1+ bis 4+) die meisten positiven Ergebnisse bei den verwendeten Allergietests. Dabei gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe (48%) und der RAO-Gruppe (43%). Die Erkenntnisse von BRÜNNLEIN (2001), dass RAO (COB)-Pferde signifikant häufiger eine Sensibilisierung gegen Milbenantigene aufweisen als gesunde Tiere konnte nicht bestätigt werden, da es bei der vorliegenden Untersuchung in beiden Gruppen gleich viele positive Resultaten auf Milbenantigen (56%) gab. Auch die Ergebnisse der Histaminfreisetzung nach Inkubation mit einer Schimmelpilz-Mischung unterscheiden sich deutlich von den Ergebnissen von BRÜNNLEIN (2001). Während in der vorliegenden Arbeit bei 100% der Pferde in der RAO-Gruppe und 67% der Pferde in der Kontrollgruppe

eine Sensibilisierung nachgewiesen wurde, konnte BRÜNNLEIN nur bei 4 von 46 RAO-Pferden (9%) und bei keinem der 10 Kontrollpferden eine positive Reaktion auf die gleiche Schimmelpilzmischung nachweisen. DIRSCHERL (2001) konnte im FIT ebenfalls nur bei 7% der RAO Pferde (n=14) und bei keinem der gesunden Pferde (n=8) ein positives Ergebnis auf die gleiche Schimmelpilzmischung erzielen. Obwohl das Vorhandensein einer IBH (Insect Bite Hypersensitivity; Sommerexzem) ein Ausschlusskriterium für die Aufnahme in die vorliegende Studie darstellte, gab es 74% (40 von 54) positive Resultate bei den 9 getesteten Insektenallergenen in der Kontrollgruppe und 56% positive Resultate (46 von 81) in der RAO-Gruppe. Somit liegt zwar eine deutliche Sensibilisierung der basophilen Granulozyten gegen Insekten bei den untersuchten Pferden vor, allerdings scheinen regulative Mechanismen des Immunsystems eine Ausprägung der Erkrankung bei diesen Pferden zumindest zum jetzigen Zeitpunkt zu verhindern.

Der FIT ist nach Aussage vieler Untersucher (KAUL, 1998; GEIBEN, 2003) sehr empfindlich im Nachweis einer Sensibilisierung der basophilen Granulozyten auf die entsprechenden Allergene ohne dass es jedoch zur Ausprägung eines klinischen Krankheitsbildes kommen muss. Eine Sensibilisierung der basophilen Granulozyten ist eine entscheidende Grundvoraussetzung für eine Typ-I-Immunreaktion, ohne die diese nicht erfolgen kann. Kommt es dennoch nicht zu klinischen Symptomen, sind laut TRAUB (2005) folgende Gründe in Betracht zu ziehen:

- Die in vitro eingesetzten Allergenpräparationen unterscheiden sich von den Antigenen, denen das Tier in vivo ausgesetzt ist.
- Die in vivo vorkommenden Antigene stimmen mit denen im in-vitro-Test überein, kommen jedoch nicht in ausreichender Menge und Form an die sensibilisierten Zellen heran, um sie zu einer Typ-I-Reaktion zu aktivieren.
- Die sensibilisierten Zellen unterliegen im lebenden Organismus regulativen Immunkontrollen, so dass die Ausprägung der Aktivierung und somit die Entwicklung klinischer Symptome unterdrückt wird

Darüber hinaus stellt sich im Hinblick auf die RAO die Frage, ob die Mastzellen der Lunge die gleiche Sensibilisierung erfahren haben, d.h. den gleichen Besatz von aktivierenden Fc-Rezeptoren haben wie die basophilen Granulozyten im Blut.

TRAUB (2005) konnte die Mastzellen aus der bronchoalveolaren Lavage (BALF) von RAO-Pferden im Gegensatz zu den basophilen Granulozyten im Blut derselben Pferde nicht mit Antikörpern gegen equines IgE und IgG zu einer Histaminfreisetzung aktivieren. Als Grund sieht TRAUB den mangelnden Antikörperbesatz der pulmonalen Mastzellen oder aber andere Zellen in der BALF mit regulativ hemmendem Einfluss. Somit könnte eine Sensibilisierung der Blutzellen ohne große Relevanz für allergische Lungenerkrankungen sein und wäre somit für die ätiologische Diagnose der RAO ungeeignet.

Da in beiden Pferdegruppen der vorliegenden Arbeit in allen Allergengruppen, insbesondere gegen Schimmelpilze und Milben ähnlich viele positive Sensibilisierungen nachgewiesen wurden, ist der praktische Nutzen der Aussage aus diesem Test für die RAO lediglich begrenzt.

2.3. Diskussion der Ergebnisse aus dem FcEpsilon-RT und dem IBL

Obwohl beide Tests nach dem gleichen Prinzip freie IgE-Antikörper im Serum der Pferde messen, das für beide Tests aus der gleichen Blutprobenentnahme stammte, gab es keine grundsätzlichen Übereinstimmungen zwischen den Ergebnissen aus beiden Tests auf gleiche Allergene oder Allergengruppen. Insgesamt gab es ähnlich viele positive Ergebnisse in beiden Tests (Gesamt 9% im HESKA vs. 7% im IBL), jedoch auf unterschiedliche Allergengruppen. So zeigte im HESKA kein Pferd ein positives Resultat auf eine der vier getesteten Schimmelpilze (0 von 60), während es im IBL 10 positive Ergebnisse bei den sechs getesteten Schimmelpilzen gab (10 von 90; 11%). Dagegen gab es im IBL nur ein positives Ergebnis bei der Gattung Milben (1 von 90; 1%), während es im HESKA 18 positive Resultate auf die fünf getesteten Milbenarten (18 von 75; 24%). Die Gesamtzahl positiver Resultate auf Pollenallergene ist mit 8% in beiden Tests (HESKA: 30 von 360; IBL: 19 von 225) gleich hoch. Allerdings gibt es keine Korrelation zwischen den Ergebnissen in beiden Tests, weder bei Betrachtung der Gesamtpositiven bei gleichen Pollen-Allergenen noch bei der Betrachtung der gleichen Pollen-Allergene bei den einzelnen Pferden. Zum Beispiel gibt es auf das Allergen „Birke“ im HESKA-Test 3 positive Ergebnisse (3 von 15; 20%), im IBL gibt es bei keinem der 15 Pferde ein positives Ergebnis auf das Allergen „Birke“. Andererseits kann ein Allergen, z.B. „Erle“ beim gleichen Pferd im IBL hoch positiv sein, während das Ergebnis im HESKA negativ ist und umgekehrt. Da beide Tests freie IgE-Antikörper messen, sind diese

unterschiedlichen Ergebnisse wohl auf das unterschiedliche Bindungsvermögen der verwendeten Allergienlösungen an die Fc-ε-Rezeptoren zurückzuführen.

Kritisch muss auch hier wieder angemerkt werden, dass beide Tests mit unterschiedlich hergestellten Allergienlösungen arbeiten und sie somit nicht vergleichbar sind. Außerdem sagt der Nachweis freier Antikörper im Serum gegen ein bestimmtes Antigen nichts aus über eine ausreichende Sensibilisierung der Typ-I-Effektorzellen des Patienten und ihre Reaktionsfähigkeit auf dieses Antigen (LEIBOLD et al., 2011). HALLIWELL et al. (1993) konnten eine erhöhte Konzentration lokaler IgE und IgA Antikörper gegen *M. faeni* und *A. fumigatus* in der BALF von Pferden mit COPD nachweisen, nicht jedoch im Serum. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen von SCHMALLENBACH et al. (1998), die bei COPD Pferden eine signifikant höhere Konzentration von IgE und IgG gegen *A. fumigatus* und ein rekombinantes *A. fumigatus* 1/a Allergen in der BALF messen konnten als in der Kontrollgruppe. Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass es sich bei der RAO möglicherweise um ein lokales Geschehen ohne Auswirkung auf die Antikörperkonzentration im Serum handelt und die Messung von Serum-Antikörperkonzentrationen somit für die Diagnostik von allergischen Lungenerkrankungen ungeeignet ist. Dadurch und durch die grundlegend unterschiedlichen Resultate in beiden Tests auf gleiche Allergengruppen stellt sich die Frage nach der Bewertung und dem klinischen Nutzen dieser Testergebnisse.

2.4. Vergleich der Allergietests

Ein Vergleich der Ergebnisse aus den durchgeführten Allergietests gestaltete sich problematisch, da in jedem Allergietest viele unterschiedliche Allergene getestet wurden. Selbst bei übereinstimmenden Allergenen blieb das Problem der unterschiedlich produzierten Allergienlösungen, da bei deren Herstellung unweigerlich verschiedene Epitope zerstört wurden. Es ist bekannt, dass selbst verschiedene Chargen des gleichen Herstellers zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können. Außerdem werden in den verschiedenen Tests unterschiedliche immunologische Parameter gemessen. So kann man die Sensibilisierung der Hautmastzellen (IKT) nicht mit der Sensibilisierung der basophilen Granulozyten im peripheren Blut (FIT) oder der Konzentration freier Antikörper im Serum (HESKA und IBL) vergleichen, da es sich hierbei um grundsätzlich unterschiedliche immunologische Mechanismen handelt. Weitere Studien, die die

Ergebnisse verschiedener Allergietests miteinander verglichen haben kamen zu ähnlich unterschiedlichen Ergebnissen wie in der vorliegenden Arbeit. So verglichen LORCH et al. (2001b) die Ergebnisse des IKT mit 73 Allergenen bei insgesamt 55 Pferden (10 Pferde mit Recurrent Urtikaria, 7 mit atopischer Dermatitis, 16 mit COPD und 22 ohne Atopie) mit drei verschiedenen Serum-Allergietests. Die Autoren stellten insgesamt eine niedrige Sensitivität für alle Serum-Allergietests fest und raten daher ab, einen dieser drei Allergietests als Screeningtest für eine Allergen-Hypersensitivität zu verwenden. TAHON et al. (2009) führten bei 14 gesunden Kontrollpferden und 14 Pferden mit RAO einen IKT mit 17 verschiedenen Allergenen durch und verglichen die Ergebnisse mit denen aus dem CAST und dem Fc-Epsilon-Rezeptortest der gleichen Pferde. Sie stellten wie auch in der vorliegenden Studie in allen drei Tests am häufigsten positiven Resultate gegen Milbenextrakt fest (64%, 74% und 88%) und sehr wenige positive Reaktionen bei Schimmelpilzen, jedoch ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Dennoch sollen die Ergebnisse aller hier angewandten Tests eine Aussage über die Bereitschaft zu einer Typ-I-Allergie treffen. Daher überraschen die grundlegend unterschiedlichen Ergebnisse in den vier Allergietests dennoch und stellen die Aussagekraft der Tests vor allem für den praktischen Tierarzt und den Pferdebesitzer in Frage. Die Ergebnisse aus den bisher verfügbaren Allergietests sollten daher sehr vorsichtig interpretiert werden und nur von erfahrenen Personen zur Unterstützung einer ausführlichen Anamnese und klinischen Untersuchung verwendet werden.

3. Diskussion der Ergebnisse der Provokations-Inhalationen

3.1. Durchführung und Ergebnisse des Histamin-Inhalations- Provokations-Test (HIPT)

Die Testlösungsapplikation und die Lungendruckmessung mit dem Ventigraphen bereiteten während der Durchführung des HIPT keine Schwierigkeiten. Die Abbruchkonzentration konnte auf Grund klinischer Symptome wie starke Unruhe, anhaltender Husten, deutliche Erhöhung der Herz- oder Atemfrequenz oder deutliche Anzeichen für eine Dyspnoe bei allen Pferden gut erkannt werden. Größere Schwierigkeiten bereitete dagegen die Beurteilung der gemessenen Lungendrucke mit dem Ventigraphen. Da man beim Pferd auf die individuelle physiologische Atmung angewiesen ist, schwankten die Messwerte zum Teil beträchtlich. Einige Pferde in der lungengesunden Gruppe hatten während der gesamten Messdauer inklusive den Basiswerten deutlich erhöhte Lungendruckwerte, die für sich allein genommen für eine obstruktive Lungenerkrankung sprechen würden, obwohl alle anderen Untersuchungsparameter, inkl. der Histamin-Abbruchkonzentration keine Hinweise auf eine Lungenerkrankung ergaben. Bei einigen der gesunden Kontrollpferde wurde die Messung des Lungendrucks daher zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt, um technische Fehler auszuschließen. Die Pplmax war auch bei den wiederholten Messungen annähernd konstant, so dass eine fehlerhafte Lage der Sonde bei der Durchführung des HIPT und der AIPts ausgeschlossen wurde. Daher kann nur vermutet werden, dass bei diesen Pferden auf Grund des hohen Alters und durch die überwiegende Boxenhaltung bei wenig Bewegung und Training die Elastizität und Compliance der Lunge stärker nachlässt. In der Humanmedizin ist bekannt, dass fehlende sportliche Betätigung zu einer schnelleren „Erstarrung“ des knöchernen Brustkorbes und somit zusätzlich zur altersbedingten Fibrosierung des Bindegewebes, zu einem erhöhten Lungendruck mit zunehmenden Alter führt (HAINBUCH, 2005; SCHMIDT u. THEWS, 2013). Im Gegenzug dazu konnten bei einigen Pferden in der RAO-Gruppe, die sich zum Zeitpunkt der Untersuchungen in einer klinischen Remissionsphase befanden, Pplmax-Werte unter 10 mmH₂O und somit im physiologischen Bereich gemessen werden. Daher wurden für die statistischen Berechnungen die Drucksteigerungen in % zum Ausgangswert verwendet. Bei den eigenen Untersuchungen stieg die Pplmax meist mit steigenden HDC-Konzentrationen an. Bei einigen Pferden mit

einer drastischen Erhöhung der Atemfrequenz fiel die Pplmax aber auch gelegentlich ab. Dieses Phänomen konnte auch KLEIN (1984) bei seinen Untersuchungen zum HIPT feststellen. Ein Grund für die schwierige Auswertung der Ergebnisse stellte auch die in individuell unterschiedlichen Testphasen aufgetretenen Verbesserungen der Lungendruckwerte dar. Diese kurzfristigen Lungenfunktionsverbesserungen könnten auf Grund einer Adrenalinausschüttung nach Aufregung zu Stande kommen und somit auch die Ergebnisse in der vorliegenden Studie erklären. Diese Verbesserung hält nach KLEIN (1984) für eine Dauer von 5-10 Minuten an, was auch mit unseren Beobachtungen weitgehend übereinstimmt.

Für die Beurteilung der bronchopulmunalen Antwort auf inhalierte Histaminlösungen eignet sich nach den Untersuchungen von KLEIN (1984) am besten der Compliance-Abfall. Diese konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht bewertet werden, da sie nur mit den Werten einer zusätzlichen pneumotachographischen Untersuchung während der Durchführung der Inhalationen errechnet werden können. Ein Pneumotachograph stand für die eigenen Untersuchungen jedoch nicht zur Verfügung. Die alleinige Bewertung des HIPT anhand der gemessenen Lungendruck-Änderung mit einer Ösophagusdrucksonde ist möglicherweise nicht ausreichend sensibel und zu störanfällig für eine objektive Beurteilung. Deshalb wäre es ratsam, für zukünftige Studien dieser Art eine zusätzliche pneumotachographische oder plethysmographische Messung vorzunehmen.

3.2. Durchführung und Ergebnisse des Allergen-Inhalations- Provokations-Test (AIPT)

Die Allergen-Inhalationen beim AIPT wurden analog zur Versuchsanordnung des HIPT gestaltet. Bei allen 13 Pferden, bei denen Allergeninhalationen durchgeführt wurden, konnte ohne größere Schwierigkeiten die Ösophagusdrucksonde bis auf Höhe der Herzbasis vorgeschoben werden. Bei keinem der Pferde konnte ein signifikanter Anstieg der Atem- oder Herzfrequenz gemessen werden. Der Lungendruck war in der RAO Gruppe sechs Stunden nach Inhalation von Allergen 1 signifikant gestiegen, nicht jedoch während der Inhalationen. Dies ist vor allem auf den deutlichen Lungendruck-Anstieg um über 300% bei zwei Pferden (Nr. 13 und Nr. 14) nach der Inhalation von *Aspergillus fumigatus* bzw. *Cladosporium herbarum* zurückzuführen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang

mit den Ergebnissen von MCGORUM et al. (1993c), die nach der Inhalation der Schimmelpilze *Aspergillus fumigatus* und *Faenia rectivirgula* in der COPD-Gruppe (n=8) einen erhöhten Atemwegswiderstand ebenfalls erst nach 5 Stunden messen konnten, nicht jedoch nach 1,5 Stunden. In der Kontrollgruppe (n=8) konnten dort ebenso wie in unserer Studie keine signifikanten Änderungen der Lungenfunktionsparameter nach der Inhalation ermittelt werden. Dieselben Autoren konnten nach einer natürlichen Heustaubexposition mit schimmeligem Heu und Stroh eine erhöhte Histaminkonzentration in der „pulmonary epithelial lining fluid“ dieser Pferde ebenfalls erst nach 5 Stunden, nicht aber nach 30 Minuten nachweisen (MCGORUM et al., 1993e). Nach einer transendoskopischen endobronchialen Provokation mit PBS, *Micropolyspora faeni* und Schimmelheu-Extrakt konnten die Autoren im Gegensatz zur Inhalations-Provokation mit den gleichen Substanzen keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BALF nach 5 Stunden zwischen der Kontrollgruppe und der COPD-Gruppe feststellen (MCGORUM et al., 1993d), die Vernebelung der Allergene scheint damit notwendig um eine Bronchokonstriktion zu verursachen.

DERKSEN et al. (1988) konnten nach einer endotrachealen Inhalation von 30 ml aerosolisiertem *Micropolyspora faeni* Antigen in ihrer Studie mit 12 Ponies mit RAO in klinischer Remission und 6 gesunden Kontrollieren bei allen Pferden eine erhöhte Anzahl an neutrophilen Granulozyten, Leukozyten, eine erhöhte Albuminkonzentration und eine verminderte Anzahl an Makrophagen in der BALF nach 5 Stunden feststellen. Veränderungen in der Lungenfunktion wie ein erhöhtes respiratorisches Minutenvolumen, ein erhöhter Lungenwiderstand und ein erniedrigter arterieller Sauerstoffpartialdruck fanden dagegen wie in der vorliegenden Arbeit nur in der RAO-Gruppe statt. DERKSEN et al. schließen aus ihren Ergebnissen, dass eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten an sich keine Einschränkung der Lungenfunktion verursacht. *M. faeni* sprechen sie eine große Bedeutung in der Ätiologie der RAO zu. Leider stand für die vorliegenden Untersuchungen kein *M. faeni* Antigen-Extrakt zur Verfügung und die Ergebnisse der vorangegangenen Autoren konnten daher nicht wiederholt werden.

MCPHEARSON et al. (1979a & b) versuchten wie in der vorliegenden Studie die Übereinstimmung der Ergebnisse aus dem Intrakutantest mit denen einer gezielten Allergeninhalation zu vergleichen. Hierfür wurde bei 100 Pferden (unterteilt in 3

Gruppen: COPD erkrankt, fragliche Kategorie und nicht erkrankt) ein IKT mit Gräserpollen, Baumpollen, Schimmelpilzmix, *C. herbarum*, Actinomycete spp., *A. fumigatus* und *M. faeni* durchgeführt. Bei der anschließenden Inhalations-Provokation mit *A. fumigatus*, Schimmelheuextrakt und Weidelgras-Pollen zeigten ausschließlich Pferde der Gruppe A (erkrankt) eine positive Reaktion, bei *M. faeni* zumindest überwiegend. Eine positive Antwort auf die Inhalations-Provokation wurde nach Definition der Autoren bereits bei einer Steigerung der ΔP_{pl} von 15% erreicht. Diese Steigerung liegt allerdings im Rahmen der individuellen und tageszeitlichen Druckschwankung und wurde daher in der vorliegenden Arbeit noch nicht als positive Reaktion bewertet. MCGORUM et al. (1993c) kritisieren, dass es sich bei den Pferden der Gruppe A um symptomatisch erkrankte Tiere handelt und es sich daher auch um eine unspezifische Reaktion auf die inhalierten Substanzen handeln kann. MCPHEARSON et al. (1979a) kamen in oben genannter Studie wie wir ebenfalls zu der Schlussfolgerung, dass die Ergebnisse des Intrakutantests nicht gut mit den Ergebnissen der Inhalations-Provokation korrelieren.

In der vorliegenden Arbeit haben lediglich zwei Pferde in der RAO-Gruppe (n=9) auf die Allergeninhalation nach 6 Stunden mit einer deutlichen Erhöhung des Lungendrucks reagiert. Bei den anderen Pferden in dieser Gruppe gibt es folgende Möglichkeiten:

- Es liegt eine allergische Genese ihrer Erkrankung vor, allerdings wurden nicht die ursächlichen Allergene für die Inhalation ausgewählt
- Es wurden die ursächlichen Allergene ausgewählt, allerdings waren sie auf Grund der Aufbereitung, Konservierung oder zu niedriger Konzentration nicht wirksam
- Es liegt keine allergische Ursache für die Erkrankung vor
- Eine positive Reaktion auf die Allergeninhalation hat stattgefunden, jedoch war die Lungendruckmessung und die klinischen Parameter nicht sensibel genug um diese zu erkennen

Da es bei allen erhobenen Parametern während der Allergeninhalation in der vorliegenden Arbeit große individuelle Schwankungen auch bei den Basalwerten ohne Inhalation, bzw. bei der Inhalation von PBS gab, wurden möglicherweise mildere positive Reaktionen nicht erkannt, da sie sich z.B. von

erregungsbedingten Veränderungen nicht unterscheiden ließen. Da jedoch auch aufwendigere Methoden zur Lungenfunktionsanalyse diesen Einschränkungen unterliegen bleibt die Erkennung milder allergischer Reaktionen auf Allergeninhalationen weiterhin schwierig. Möglicherweise können diese Probleme umgangen werden, indem die Lungendruck-Werte über einen längeren Zeitpunkt gemessen und Durchschnittswerte errechnet werden. Eine Lungendruckmessung über mehrere Stunden bis Tage wäre über eine Plethysmographie mit einem elastischen Gurt möglich.

5. Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen die Hypothese vieler Autoren, (DEATON et al., 2007, McGORUM et al., 1993 a-c, TAHON et al., 2009) dass es sich bei der RAO nicht um eine reine Typ-I-Allergie vom Soforttyp handeln kann. Da bei zwei Pferden in der vorliegenden Studie eine allergen-induzierte Exazerbation 6 Stunden nach Allergeninhalation nachgewiesen wurde, jedoch bei keinem Pferd eine Sofortreaktion messbar war, müssen zumindest bei einigen an RAO erkrankten Pferden andere Allergiemechanismen involviert sein. Eine Zytokin induzierte Spätform der Typ-I-Allergie kann hierfür ebenso verantwortlich sein wie eine Typ-III oder Typ-IV Allergie, eine Kombination mehrerer Mechanismen oder eine noch unbekannte lokale Hypersensitivität. Bei den RAO-Pferden in dieser Studie, die auf die Allergeninhalation keine Reaktion zeigten, liegt entweder keine allergische Genese für ihre Erkrankung vor, oder es wurden nicht die ursächlichen Allergene für die Inhalation ausgewählt. Da alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Allergietests (bis auf die Spätreaktionen im IKT) ausschließlich die Allergiebereitschaft für eine Typ-I-Allergie nachweisen können, ist die Aussage dieser Tests für die Diagnose der Ursache einer RAO nicht hilfreich. Nach derzeitigen Erkenntnissen ist daher eine gezielte Allergeninhalation die einzige Möglichkeit, eine allergische Ursache für eine Lungenerkrankung beim Pferd nachzuweisen. Da die Durchführung, v. a. für die Austestung mehrerer Allergene, in der Routinediagnostik jedoch zeit- und materialaufwendig ist, bleibt sie wohl vorerst Einzelfällen und der Forschung vorbehalten. Weitere Studien mit größeren Patientenzahlen und möglicherweise sensibleren Messapparaturen sind notwendig, um weitere Erkenntnisse über das komplexe, aber sehr bedeutende Krankheitsgeschehen der RAO in Erfahrung zu bringen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Inhalationsprovokationstest mit spezifischen Allergenen bei Pferden mit „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO)

Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Ergebnisse vier verschiedener Allergietests bei Pferden mit und ohne RAO zu vergleichen und die Wertigkeit der Testergebnisse mittels einer gezielten Allergen-Inhalations-Provokation zu evaluieren. Dazu wurden bei 9 Pferden mit RAO und bei 6 lungengesunden Kontrollpferden neben einer erweiterten klinischen Lungenuntersuchung, eine arterielle Blutgasanalyse und eine Bronchoskopie mit Gewinnung von Tracheobronialsekret (TBS) und bronchoalveolärer Lavage-Flüssigkeit (BALF) durchgeführt. Für die Allergietests wurde venöses Vollblut für den Funktionellen-In-Vitro-Test (FIT) und Serumproben (Fc-Epsilon-Rezeptortest und IBL) in die entsprechenden Labore zur weiteren Auswertung gesandt. Ein Intrakutantest mit 38 verschiedenen Allergenen wurde bei allen 15 Pferden selbst durchgeführt. Anschließend wurde unter indirekter Lungendruckmessung mit Hilfe einer Ösophagusdrucksonde ein Histamin-Inhalations-Provokationstest (HIPT) und im Abstand von 24 Stunden zwei Allergen-Inhalations-Provokationstests (AIPT) mit individuell ausgewählten Allergenen durchgeführt.

Bei keinem der vier Allergietests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der RAO- Gruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Ebenso gab es keine Korrelation zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Tests. Die Histamin-Abbruchkonzentration im HIPT war jedoch in der Kontrollgruppe signifikant niedriger als in der RAO-Gruppe. Die gemessenen Interpleuraldrücke zeigten große individuelle Schwankungen und waren auch bei den Pferden in der Kontrollgruppe zum Teil deutlich erhöht. Eine eindeutige positive Reaktion auf den AIPT konnte nur bei zwei Pferden 6 Stunden nach der Allergeninhalation (*Aspergillus fumigatus* und *Cladosporium herbarum*) in der RAO-Gruppe festgestellt werden. Bei beiden Pferden war der Intrapleuraldruck um über 300% im Vergleich zum Ausgangswert bei der Inhalation von PBS angestiegen.

Somit scheint ein Typ-I allergisches Geschehen vom Soforttyp als Ursache für die Ausprägung einer RAO unwahrscheinlich. Da bei zwei Pferden eine eindeutige Reaktion auf die Allergeninhalation nach 6 Stunden festgestellt werden konnte,

sollten zumindest bei einigen an RAO-erkrankten Pferden andere Allergiemechanismen vermutet werden. Da alle hier verwendeten Allergietests lediglich die Bereitschaft für eine Typ-I Allergie nachweisen können, scheinen diese nicht für die ätiologische Diagnose einer RAO geeignet.

Möglicherweise wurden weitere, weniger deutliche positive Reaktionen auf die Allergen-Inhalation auf Grund der erheblichen individuellen Schwankungen der Ausgangswerte bei allen Parametern nicht erkannt. Daher sind weitere Studien mit größeren Patientenzahlen und möglicherweise sensibleren Messapparaturen notwendig, um weitere Erkenntnisse über das komplexe, aber sehr bedeutende Krankheitsgeschehen der RAO in Erfahrung zu bringen.

VII. SUMMARY

Inhalation provocation with specific allergens in horses affected with Recurrent Airway Obstruction (RAO)

The aim of this study was to compare results of four different allergy tests from healthy and RAO-affected horses and to evaluate the clinical relevance of positive tested allergens via specific inhalation provocation test. Nine RAO-affected horses and 6 healthy horses underwent a complete lung examination including clinical parameters, arterial blood gas analysis, bronchoscopy with cytology of tracheobronchial secretion (TBS) and bronchoalveolar lavage (BAL). For allergy testing venous blood samples were collected for the functional in vitro test (FIT) and serum samples for the Fc-Epsilon receptor test and the Allergie-40 Profil IgE (Pferd) ELISA (IBL-Hamburg), and were submitted to specialized laboratories. An intradermal skin test (IDT) with 38 different allergens was performed by the author in all 15 horses. Subsequently a histamine inhalation provocation test (HIPT) was performed in all horses and the intrapleural pressure was indirectly measured via an esophageal probe. For each horse two individual allergens were chosen for allergen inhalation provocation test (AIPT) based on ICT results and were inhaled in increasing concentrations (one allergen per day).

None of the four allergy tests revealed a significant difference between healthy and RAO-affected horses. There was also no correlation between the results of the allergy tests. The histamine concentration which caused signs of dyspnoea was significantly lower in the group of healthy horses. The intrapleural pressure results showed a large individual variability and were also increased in some healthy horses. A significantly positive reaction within the AIPT was only detectable within two RAO-affected horses 6 hours after allergen inhalation with *Aspergillus fumigatus* and *Cladosporium herbarum*. The measured intrapleural pressure of these two horses increased close to 300% in comparison to baseline (PBS inhalation). During inhalation no changes of pressure were detectable in these two horses. Therefore, a pure type I immediate hypersensitivity reaction is unlikely to be involved in causing the symptoms of RAO in this group of horses. Because of the delayed reaction after allergen provocation other immune mechanisms (e.g. type IV hypersensitivity) could be reasonable.

VII. Summary

Because all allergy tests used in this study can only detect type I immune reactions, these tests are probably not suitable for an etiological diagnosis of RAO according to these results.

It is plausible that in this study low intensity immune reactions against the allergen challenge remained undetected because of great individual variations of baseline parameters. Further studies with a larger sample size and more sensitive evaluation parameters are needed in order to elucidate the complex and important immunopathogenesis of RAO.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ABDEL-SALAM, M. N. 1989. *Nachweis des Allergieverdachts bei Pferden mit COPD durch tracheobronchoskopische und zytologische Untersuchungen sowie durch in-vitro-Histaminfreisetzung aus Blut und Tracheobronchialsekret.* Inaugural - Dissertation, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

AINSWORTH, D. M. & CHEETHAM, J. 2010. Recurrent Airway Obstruction. *In: REED, S. M., BAYLY, W. M. & SELLON, D. C. (Herausgeber) Equine Internal Medicine (Dritte Auflage).* St. Louis: Saunders Elsevier.

AINSWORTH, D.M., MATYCHAK, M., REYNER, C.L., ERB, H.N. & YOUNG, J.C. 2009. Effects of in vitro exposure to hay dust on the gene expression of chemokines and cell-surface receptors in primary bronchial epithelial cell cultures established from horses with chronic recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 365-372.

AINSWORTH, D. M., GRUNIG, G., MATYCHAK, M. B., YOUNG, J., WAGNER, B., ERB, H. N. & ANTCZAK, D. F. 2003. Recurrent airway obstruction (RAO) in horses is characterized by IFN-gamma and IL-8 production in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96, 83-91.

BEELER-MARFISI, J., CLARK, M.E., WEN, X., SEARS, W., HUBER, L., ACKERLEY, C., VIEL, L. & BIENZLE, D. 2010. Experimental induction of recurrent airway obstruction with inhaled fungal spores, lipopolysaccharide, and silica microspheres in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 682-689.

BOERMA, S., MEEUS, P. & SASSE, H. H. 1985. Intrathoracic pressure in the Horse. Correlation between intrapleural and esophageal pressures. *In: DEEGEN, E. & BEADLE, R. (Herausgeber) Lung Function and Respiratory Diseases in the Horse, Int. Symposium.* Hannover: Hippatrika Verlagsgesellschaft.

BRACHER, V., VON FELLEBERG, R., WINDER, C. N., GRUENIG, G., HERMANN, M. & KRAEHENMANN, A. 1991. An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses. *Equine Veterinary Journal*, 23, 136-141.

BRUENNLEIN, G. 2001. *Funktioneller in-vitro-Test (FIT) für Typ I-Allergien beim Pferd: Nachweis allergischer Sensibilisierung bei Pferden mit chronisch obstruktiver Bronchitis (COB) sowie Einflüsse verschiedener Therapiemaßnahmen auf den Sensibilisierungsgrad von Patienten*. Inaugural - Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

COCKCROFT, D. W., KILLIAN, D. N., MELLON, J. J. A. & HARGRAEVW, F. E. 1977. Bronchial reactivity to inhaled histamine: A method and clinical survey. *Clinical Allergy*, 7, 235-243.

CORDEAU, M.-E., JOUBERT, P., DEWACHI, O., HAMID, Q. & LAVOIE, J.-P. 2004. IL-4, IL-5 and IFN-[gamma] mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 97, 87-96.

COSTA, L. R. R., JOHNSON, J., BAUR, M. & BEADLE, R. E. 2006. Temporal clinical exacerbation of summer pasture-associated recurrent airway obstruction and relationship with climate and aeroallergens in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 67 (9), 1635-1642.

COUËTIL, L., HOFFMAN, A. M., HODGSON, J., BUECHNER-MAXWELL, V., VIEL, L., WOOD, J. L. N. & LAVOIE, J. P. 2007. Inflammatory Airway Disease of Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 356-361.

DEATON, C. M., DEATON, L., JOSE-CUNILLERAS, E., VINCENT, T. L., BAIRD, A. W., DACRE, K. & MARLIN, D. J. 2007. Early onset airway obstruction in response to organic dust in the horse. *Journal of Appl. Physiology*, 102, 1071-1077.

DEEGEN, E. 1992. Entwicklung der Therapie obstruktiver Atemwegserkrankungen des Pferdes in den letzten 20 Jahren. Ventipulmin 2000, Symposium zur Therapie obstruktiver Atemwegserkrankungen des Pferdes. Bingen, 21.09.1992. Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Referatesammlung, 1–5

DEEGEN, E. & KLEIN, H.-J. 1987. Intrapleuraldruckmessungen und Bronchospasmolysetests mit einem transportablen Ösophagusdruckmeßgerät beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, 3, 213-221.

DERKSEN, F. J. & ROBINSON, N. E. 1980. Esophageal and intrapleural pressures in the healthy conscious pony. *American Journal of Veterinary Research*, 41, 1756–1761.

DERKSEN, F. J., ROBINSON, N. E., SCOTT, J. S. & STICK, J. A. 1988. Aerosolized *Micropolyspora faeni* antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway-obstruction (heaves). *American Journal of Veterinary Research*, 49, 933-938.

DIECKMANN, M. P. 1987. *Zur Wirksamkeit von Ambroxolhydroxid (Mukovent®) bei lungenkranken Pferden – klinische, funktionelle und zytologische Untersuchungen*. Inaugural – Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

DIRSCHERL, P. 2001: *Allergiediagnostik beim Pferd: Untersuchungen an basophilen Granulozyten und Lymphozyten gesunder und chronisch lungenkranker Pferde*. Inaugural – Dissertation, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

DIRSCHERL, P., GRABNER, A. & BUSCHMANN, H. 1993. Responsiveness of basophil granulocytes of horses suffering from chronic obstructive pulmonary-disease to various allergens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 38, 217-227.

EDER, C., CRAMERI, R., MAYER, C., EICHER, R., STRAUB, R., GERBER, H., LAZARY, S. & MARTI, E. 2000. Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 73, 241-253.

EHRMANN, C. & FEY, K. 2011. Therapie chronisch entzündlicher Atemwegserkrankungen beim Pferd. *Der Praktische Tierarzt, Supplement für die ATF-anerkannte Fortbildung*, 92, 16-26.

EVANS, A. G., PARADIS, M. R. & O'CALLAGHAN, M. 1992. Intradermal testing of horses with chronic obstructive pulmonary disease and recurrent urticaria. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 203–208

FEY, K. 2006. Chronisch obstruktive Bronchi(oli)tis. In: DIETZ, O. & HUSKAMP, B. (Herausgeber) *Handbuch der Pferdepraxis (dritte Auflage)*. Stuttgart: Enke Verlag, 327-332.

FRANCHINI, M., GILLI, U., AKENS, M. K., FELLEBERG, R. V. & BRACHER, V. 1998. The role of neutrophil chemotactic cytokines in the pathogenesis of equine chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66, 53-65.

GEHLEN, H. & MAY, A. 2011. COB - Chronisch obstruktive Bronchitis beim Pferd. *Continuing Veterinary Education*, Veterinär Verlag, 1, 1-28.

GEIBEN, T. 2003. *Untersuchungen zum Sommerekzem sowie zum Einfluss des Immunmodulators Baypamun N® auf die Typ I-Allergie der Pferde*. Inaugural – Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

GELL, P. G. H. & COOMBS, R. P. A. 1968. Classification of allergic reactions for clinical hypersensitivity disease. In: GELL, P. G. H. & COOMBS, R. P. A. (Herausgeber) *Clinical aspects of immunology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 575–579.

GERBER, H. 1980. Zur Pathogenese der chronischen Bronchitis des Pferdes. 7. Arb.-Tagg. der Fachgruppe für Pferdekrankheiten, DVG, Hamburg, 1-16

GERBER, V., BALERI, D., KLUKOWSKA-ROTZLER, J., SWINBURNE, J. E. & DOLF, G. 2009. Mixed Inheritance of Equine Recurrent Airway Obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 626-630.

GERBER, V., ROBINSON, N. E., LUETHI, S., MARTI, E., WAMPFLER, B. & STRAUB, R. 2003. Airway inflammation and mucus in two age groups of asymptomatic well-performing sport horses. *Equine Veterinary Journal*, 35, 491-495.

GERBER, V., TESSIER, C., MARTI, E. 2014. Genetics of upper and lower airway diseases in the horse. *Equine Veterinary Journal*

GRAUBNER, C., DROGEMULLER, M., FOUCHE, N. & GERBER, V. 2012. RAO- are genes to blame? *Tieraerztliche Umschau*, 67, 471-473.

HAINBUCH, F. 2005. *Die Verbesserung der Vitalkapazität der Lunge in Folge eines gezielten moderaten, halbjährigen Ausdauertrainings*. Göttingen: Cuvillier Verlag, 40-53.

HALLIWELL, R. E. W., MCGORUM, B. C., IRVING, P., DIXON, P. M. 1993. Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 38, 201-215.

HAMPEL, S., ROHWER, J., LEINEMANN, H., SCHROP, C., ESCH, R. E., LEIBOLD, W. (2008): Der Intrakutantest beim Pferd: Realistischere Betrachtung zur Anwendung – Wissenschaftliche Grundlagen und praktische Durchführung. *Pferdeheilkunde*, 24, 381-396.

HARE, J. E., VIEL, L., CONLON, P. D. & MARSHALL, J. S. 1999. In vitro allergen-induced degranulation of pulmonary mast cells from horses with recurrent airway obstruction (heaves). *American Journal of Veterinary Research*, 60, 841-847.

HERHOLZ, C., STRAUB, R., IMHOF, A. & BUSATO, A. 2003. Early detection of pulmonary dysfunction in the horse – an introduction. *Pferdeheilkunde*, 19,365-378.

HOROHOV, D. W., BEADLE, R. E., MOUCH, S. & POURCIAU, S. S. 2005. Temporal regulation of cytokine mRNA expression in equine recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108, 237-245.

HOROHOV, D. W., MILLS, W. R. & GLUCK, M. 2009. *Specific and Innate Immunity in the Lung as it Relates to Equine RAO* [Online]. Ithaca: Veterinary Information Service. Verfügbar unter: <http://www.ivis.org/proceedings/weas/2009/Horohov.pdf> [Zuletzt aufgerufen am 10.03.2015].

HOTCHKISS, J. W., REID, S. W. & CHRISTLEY, R. 2006. Construction and validation of a risk-screening questionnaire for the investigation of recurrent airway obstruction in epidemiological studies of horse populations in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, 75, 8-21.

JANEWAY, C. A., TRAVERS, P., WALPORT, M. & SHLOMCHIK, M. 2002. *Immunobiology*. 5. Auflage, Verlag Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 505–536.

JOST, U., KLUKOWSKA-ROTZLER, J., DOLF, G., SWINBURNE, J. E., RAMSEYER, A., BUGNO, M., BURGER, D., BLOTT, S. & GERBER, V. 2007. A region on equine chromosome 13 is linked to recurrent airway obstruction in horses. *Equine Veterinary Journal*, 39, 236-241.

KAUL, S. 1998. *Typ I-Allergien beim Pferd: prinzipielle Entwicklung eines funktionellen in vitro – Nachweises*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

KLEIN, H.- J. & DEEGEN, E. 1986a. Histamine inhalation provocation test: Method to identify nonspecific airway reactivity in equids. *American Journal of Veterinary Research*, 47, 1796-1800.

KLEIN, H.-J. & DEEGEN, E. 1986b. Beurteilung von Blutgasparametern des arteriellen Blutes von Pferden unter besonderer Berücksichtigung der alveoloarteriellen Sauerstoffdifferenz. *Pferdeheilkunde*, 2, 331–336.

KLEIN, H.–J. & DEEGEN, E. 1987. Die interpleurale Druckmessung – eine Methode zur Beurteilung der Lungenmechanik beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, 3, 141–147.

KLIER, J. 2011. *Neuer Therapieansatz zur Behandlung der COB des Pferdes durch Immunstimulation von BAL-Zellen mit verschiedenen CpG-Klassen*. Inaugural-Dissertation, Ludwigs-Maximilians-Universität München.

KLUKOWSKA-ROTZLER, J., SWINBURNE, J. E., DROGEMULLER, C., DOLF, G., JANDA, J., LEEB, T. & GERBER, V. 2012. The interleukin 4 receptor gene and its role in recurrent airway obstruction in Swiss Warmblood horses. *Animal Genetics*. 43, 450-453.

KÜHN, H. 2004. *Das „flow-metrische System“ eine nicht-invasive Lungenfunktionsmessmethode beim Pferd*. Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.

KUNZLE, F., GERBER, V., VAN DER HAEGEN, M., WAMPFLER, B., STRAUB, R. & MARTI, E. 2007. IgE-bearing cells in bronchoalveolar lavage fluid and allergen-specific IgE levels in sera from RAO-affected horses. *Journal of Veterinary Medicine*, 54, 40-47.

LAVOIE, J. P., MAGHNI, K., DESNOYERS, M., TAHA, R., MARTIN, J. G. & HAMID, Q. A. 2001. Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 164, 1410-1413.

LECLERE, M., LAVOIE-LAMOUREUX, A. & LAVOIE, J.-P. 2011. Heaves, an asthma-like disease of horses. *Respirology*, 16, 1027-1046.

LEIBOLD, W. (2003): Allergien bei Pferden: Symptome, Mechanismen, Diagnostik und therapeutische Möglichkeiten. In: 15. Tagung über Pferdekrankheiten, Essen, 2003, Equitana 15, 92-93.

LEIBOLD, W., HAMPEL, S., ROHWER, J. 2011. Pruritus – Nicht immer ist es ein Sommereczem. Teil 2: Pathomechanismen, Diagnostik und Differentialdiagnosen. *Pferdespiegel*, 3, 125-134.

LITTLEWOOD, J. D. 1997. Diagnostic procedures in equine skin disease. *Equine Veterinary Education*, 3, 174-176.

LORCH, G., HILLIER, A., KWOCHKA, K. W., SAVILLE, W. J., KOHN, C.W. & JOSE-CUNILLERAS, E. 2001a. Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Veterinary Research*, 62, 389-397.

LORCH, G., HILLIER, A., KWOCHKA, K. W., SAVILLE, W. J., KOHN, C.W. & LeROY B. E. 2001b. Comparison of immediate intradermal test reactivity with serum IgE quantitation by use of a radioallergosorbent test and two ELISA in horses with and without atopy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol.218, 8, 1314-1322.

LUNN, P., HOROHOV, D. 2010: *The equine immune system*. In: REED S. M., BAYLY, W. M., SELLON, D. C.: *Equine internal medicine* (dritte Auflage). St. Louis: Saunders Elsevier, 2-56.

MARTI, E., GERBER, H., ESSICH, G., OULEHLA, J. & LAZARY, S. 1991. The genetic-basis of equine allergic diseases. 1. Chronic hypersensitivity bronchitis. *Equine Veterinary Journal*, 23, 457-460.

MCGORUM, B. C., DIXON, P. M. & HALLIWELL, R. E. W. 1993a. Evaluation of intradermal mold antigen testing in the diagnosis of equine chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Veterinary Journal*, 25, 273-275.

MCGORUM, B. C., DIXON, P. M. & HALLIWELL, R. E. W. 1993b. Phenotypic analysis of peripheral-blood and bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in control and chronic obstructive pulmonary-disease affected horses, before and after natural (hay and straw) challenges. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36, 207-222.

MCGORUM, B. C., DIXON, P. M. & HALLIWELL, R. E. W. 1993c. Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Veterinary Journal*, 25, 261-267.

MCGORUM, B. C. & DIXON, P. M. 1993d. Evaluation of local endobronchial antigen challenges in the investigation of equine chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Veterinary Journal*, 25, 269-272.

MCGORUM, B. C., DIXON, P. M. & HALLIWELL, R. E. W. 1993e. Quantification of histamine in plasma and pulmonary fluids from horses with chronic obstructive pulmonary disease, before and after 'natural (hay and straw) challenges'. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36, 223-237.

MCGORUM, B. C. & PIRIE, R. S. 2008. A review of recurrent airway obstruction and summer pasture associated obstructive pulmonary disease. *Ippologia*, 19, 11-19.

MCPHERSON, E. A., LAWSON, G. H. K., MURPHY, J. R., NICHOLSON, J. M., BREEZE, R. G. & PIRIE, H. M. 1979a. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) in Horses: Aetiological Studies: Responses to Intradermal and Inhalation Antigenic Challenge. *Equine Veterinary Journal*, 11, 159-166.

- MCPHERSON, E. A., LAWSON, G. H. K., MURPHY, J. R., NICHOLSON, J. M., BREEZE, R. G. & PIRIE, H. M. 1979b. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): Factors influencing the occurrence. *Equine Veterinary Journal*, 11, 167-171.
- MORAN, G. & FOLCH, H. 2011. Recurrent airway obstruction in horses – an allergic inflammation: a review. *Veterinarni Medicina*, 56, 1-13.
- MORAN, G., FOLCH, H., HENRIQUEZ, C., ORTLOFF, A. & BARRIA, M. 2012. Reaginic antibodies from horses with recurrent airway obstruction produce mast cell stimulation. *Veterinary Research Communications*, 36, 251-258.
- NEUHAUS, S., BRUENDLER, P., FREY, C. F., GOTTSTEIN, B., DOHERR, M. G. & GERBER, V. 2010. Increased Parasite Resistance and Recurrent Airway Obstruction in Horses of a High-Prevalence Family. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 407-413.
- NIEDZWIEDZ, A., JAWORSKI, Z., TYKALOWSKI, B. & SMIALEK, M. 2014. Neutrophil and macrophage apoptosis in bronchoalveolar lavage fluid from healthy horses and horses with recurrent airway obstruction (RAO). *BMC Veterinary Research*, 10:29.
- NORMAN, P. S., LICHTENSTEIN, M. & ISHIZAKA, K. (1973): Diagnostic tests in ragweed hay fever. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 52, 210-224.
- OHNESORGE, B., TRÖTSCHER, C. & DEEGEN, E. 1998a. Bestimmung von Totraum und expiratorischem Mischluftvolumen zur Diagnostik chronischer Lungenerkrankungen beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, 14, 450-455.
- PIRIE, R. S., COLLIE, D. D. S., DIXON, P. M. & MCGORUM, B. C. 2002a. Evaluation of nebulised hay dust suspensions (HDS) for the diagnosis and investigation of heaves. 2: Effects of inhaled HDS on control and heaves horses. *Equine Veterinary Journal*, 34, 337-342.

PIRIE, R. S., DIXON, P. M. & MCGORUM, B. C. 2002b. Evaluation of nebulised hay dust suspensions (HDS) for the diagnosis and investigation of heaves. 3: Effect of inhaled HDS on control and heaves horses. *Equine Veterinary Journal*, 34, 343-347.

PIRIE, R. S., COLLIE, D. D. S., DIXON, P. M. & MCGORUM, B. C. 2003a. Inhaled endotoxin and organic dust particulates have synergistic proinflammatory effects in equine heaves (organic dust-induced asthma). *Clinical and Experimental Allergy*, 33, 676-683.

PIRIE, R. S., DIXON, P. M. & MCGORUM, B. C. 2003b. Endotoxin contamination contributes to the pulmonary inflammatory and functional response to *Aspergillus fumigatus* extract inhalation in heaves horses. *Clinical and Experimental Allergy*, 33, 1289-1296.

PIRIE, R.S., 2014 Recurrent airway obstruction: A review. *Equine Veterinary Journal*, 46, 276-288.

RACINE, J., GERBER, V., FEUTZ, M. M., RILEY, C. P., ADAMEC, J., SWINBURNE, J. E. & COUETIL, L. L. (2011) Comparison of genomic and proteomic data in recurrent airway obstruction affected horses using ingenuity pathway analysis (R). *BMC Veterinary Research*, 7, 48.

RAMSEYER, A., GAILLARD, C., BURGER, D., STRAUB, R., JOST, U., BOOG, C., MARTI, E. & GERBER, V. 2007. Effects of Genetic and Environmental Factors on Chronic Lower Airway Disease in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 149-156.

REES C. A. 2001: Response to immunotherapy in six related horses with urticaria secondary to atopy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218, 753-755.

REITEMEYER, H. 1983. *Klinische und endoskopische Reihenuntersuchungen der oberen und tiefen Atemwege bei 3 – 7 jährigen Hannoveranischen Reitpferden*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

REYNER, C. L., WAGNER, B., YOUNG, J. C., AINSWORTH, D. M. 2009. Effects of in vitro exposure to hay dust on expression of interleukin-23, -17, -8, and -1 β and chemokine (C-X-C motif) ligand 2 by pulmonary mononuclear cells from horses susceptible to recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 1277-1283.

RING, J. 2007. Klinik und Einteilung allergischer Erkrankungen. In: RING, J. *Angewandte Allergologie (3. Auflage)*. München: Urban & Vogel GmbH.

ROBINSON, N. E., DERKSEN, F. J., OLSZEWSKI, M. A. & BUECHNER-MAXWELL, V. A. 1996. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. *British Veterinary Journal*, 152, 283-306.

ROBINSON, N. E. 2001. International Workshop on Equine Chronic Airway Disease, Michigan State University 16–18 June 2000. *Equine Veterinary Journal*, 33, 5-19.

ROBINSON, N. E. 2006. COPD, RAO, Heaves, IAD: Sorting out the Phenotypes of Chronic Airway Disease in the Horse. In: Proceedings of the Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology, Tucson, Arizona: International Veterinary Information Service.

[<http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2006/RobinsonNE.pdf>]

SASSE, H. H. L. 1971. Some pulmonary function tests in horses: an aid to an early diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease (heaves) in horses. Utrecht, Universiteit Utrecht, PhD Thesis

SASSE, H. H. L. 1995. C.O.B. - Prognose und Behandlungsmaßnahmen. C.O.P.D. - Prognosis and Therapy. *Collegium Veterinarium XXV in Praktischer Tierarzt* 76, 66–69

SASSE, H. H. L., BOERMA, S. & SMOLDERS, F. A. 1985. The Relationship Between Pulmonary Function Tests and Other Parameters. Results of a Research Project into the Etiology of C.O.P.D. in Horses. In: E. DEEGEN u. R. BEADLE (Herausgeber): *Lung function and respiratory diseases in horses*. Internationales Symposium, Hannover, 27.-29.6.1985 Verlag Hippatrika, Calw, 46–48

SCHÄPER, W. 1939. Untersuchungen über die Erbllichkeit und das Wesen des Lungendampfes beim Pferd. *Tierärztliche Rundschau*, 45, 595-601.

SCHATZMANN, U. 1970. *Untersuchungen zur Ätiologie chronischer Lungenerkrankungen des Pferdes*. Inaugural-Dissertation, Veterinärmedizinische Universität Bern.

SCHATZMANN, U. und GERBER, H. 1972. Untersuchungen zur Ätiologie chronischer Lungenerkrankungen des Pferdes. *Zbl. Vet. Med. A.*, 19, 89-101.

SCHLEUNIGER, P. N., FREY, C. F., GOTTSTEIN, B., SWINBURNE, J. E., DOLF, G. & GERBER, V. 2011. Resistance against strongylid nematodes in two high prevalence equine recurrent airway obstruction families has a genetic basis. *Pferdeheilkunde*, 27, 664-669.

SCHMALLENBACH, K. H., RAHMAN, I., SASSE, H. H. L., DIXON, P. M., HALLIWELL, R. E. W., MCGORUM B. C. , CRAMERI, R. & MILLER, H. R. P. 1998. Studies on pulmonary and systemic *Aspergillus fumigatus*-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66, 245-256.

SCHMIDT, R. F. & THEWS, R. 2013. Lungenatmung. In: *Physiologie des Menschen*. Berlin: Springer-Verlag, 574-592.

TAHON, L., BASELGIA, S., GERBER, V., DOHERR, M. G., STRAUB, R., ROBINSON, N. E. & MARTI, E. 2009. In vitro allergy tests compared to intradermal testing in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127, 85-93.

THOM, N., NEIGER, R., LINEK, M. 2009. Diagnostic specificity of the Fcε-receptor based allergy screening test. *Tierärztliche Praxis*, 37, 239-243.

TRAUB, P. M. 2005. *Klinische und immunologische Untersuchungen zur Ausprägung der Chronisch Obstruktiven Bronchitits*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

VAN DER HAEGEN, A., KUNZLE, F., GERBER, V., WELLE, M., ROBINSON, N. E. & MARTI, E. 2005. Mast cells and IgE-bearing cells in lungs of RAO-affected horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108, 325-334.

WATSON, J. L., STOTT, J. L., BLANCHARD, M. T., LAVOIE, J. P., WILSON, W. D., GERSHWIN, L. J. and WILSON, D. W. 1997. Phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease and in normal controls. *Veterinary Pathology*, 34, 108-116.



WINDER, N. C. u. R. VON FELLEBERG 1987. Chronic small airway disease in horses slaughtered in Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 129, 585-593.

WONG, D. M., BUECHNER-MAXWELL, V. A., MANNING, T. O. & WARD, D. L. 2005a. Comparison of results for intradermal testing between clinically normal horses and horses affected with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1348-1355.

WONG, D. M., BUECHNER-MAXWELL, V. A., MANNING, T. O. & WARD, D. L. 2005b. Evaluation of the precision of intradermal injection of control substances for intradermal testing in clinically normal horses. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1341-1347.

IX. ANHANG

1. Informationsblatt und Einverständniserklärung

	LUDWIG- MAXIMILIANS- UNIVERSITÄT MÜNCHEN	TIERÄRZTLICHE FAKULTÄT DER LMU ZENTRUM FÜR KLINISCHE TIERMEDIZIN KLINIK FÜR PFERDE ABTEILUNG FÜR INNERE MEDIZIN PROF. DR. HEIDRUN GEHLEN, DIPL. ECEIM	
---	---	---	---

Informationsblatt und Einverständniserklärung des Pferdebesitzers für eine vollständige Lungenuntersuchung inkl. Endoskopie, arterieller Blutentnahme, Intrakutantest sowie Provokations-Inhalationen von Histamin und Allergenlösungen

Sehr geehrte Pferdebesitzerin, sehr geehrter Pferdebesitzer,

Ihnen wurde angeboten, mit Ihrem Pferd an einer klinischen Forschungsstudie teilzunehmen.

Beschreibung der Studie

Die chronisch obstruktive Bronchitis des Pferdes wird als eine überwiegend allergische Überempfindlichkeit des Immunsystems auf Staubpartikel, Schimmelpilzsporen und andere Allergene angesehen. Die zurzeit etablierte Therapiemethode der COB des Pferdes ist der Einsatz von Bronchodilatoren, Schleimlösern und Kortikosteroiden. Die medikamentöse Behandlung kann aber nur eine vorübergehende Verbesserung der Symptome erreichen. Das Hauptaugenmerk sollte immer auf einer Verbesserung der Haltungsbedingungen hinsichtlich einer Vermeidung von Kontakt zu Stroh und staubigem Heu und der Umstellung der Haltung zur Offenstallhaltung bzw. einer überwiegenden Weidehaltung liegen.

Ziel dieser Studie ist es herauszufinden, ob ihr Pferd eine Allergie gegen ein bestimmtes inhalatives Allergen hat.

Praktische Durchführung

Zur Erhebung des aktuellen Lungenstatus erfolgt eine klinische, laborchemische, endoskopische und zytologische Untersuchung. Zur Erfassung der Reagibilität der Bronchien wird ein Histamin-Inhalations-Provokationstest durchgeführt. Zur Verifizierung eines in den vorhergegangenen Allergietests positiven Ergebnisses werden maximal 2 Allergene im Abstand von 24 Stunden inhaliert.

Nebenwirkungen

Als Reaktion auf die Inhalation kann es in seltenen Fällen zu vorübergehendem vermehrtem Nasenausfluss und kurzfristigem Hustenreiz kommen.

Equine Clinic Veterinärstr. 13 80539 Munich Germany	LMU München Leopoldstr. 3/1 80802 München	Bayerische Landesbank München Kto. 24 868 BLZ 700 500 00 UST-IdNr. DE 811 205 325
--	---	---

Ziel der Studie

Ziel dieser Studie ist es, Ergebnisse herkömmlicher Allergietests bei Pferden mit reversiblen Atemwegsobstruktionen zu vergleichen und die Bedeutung der positiv getesteten Allergene in Bezug auf die tatsächliche Reaktion der Atemwege durch eine Inhalations-Provokation zu testen.

Vertraulichkeit

Die gewonnenen Daten werden vertraulich behandelt. Es werden keine persönlichen Daten von Patienten und Besitzern veröffentlicht.

Kosten

Die anfallenden Kosten für die Lungenuntersuchung und die Allergietests werden nicht berechnet. Wir erheben lediglich eine Kostenpauschale von 185 € um die Eigenkosten der Praxis für Medikamente, Laborkosten und Unterkunft ihres Pferdes zu decken.

Einverständniserklärung des Pferdebesitzers zur Teilnahme an einer klinischen Forschungsstudie nach vorheriger Aufklärung

1. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass mein Pferd in die oben aufgeführte Studie der Pferdeklunik der LMU München aufgenommen wird.
2. Ich bestätige hiermit, dass ich Eigentümer (bzw. bevollmächtigter Vertreter des Eigentümers) des teilnehmenden Pferdes bin.
3. Der Tierarzt hat mir den Ablauf der Studie erklärt. Der Tierarzt hat alle meine Fragen bezüglich der Studie beantwortet.
4. Ich habe den Tierarzt nach bestem Wissen über alle Medikamente aufgeklärt, die meinem Pferd während der letzten 2 Monate verabreicht worden sind. Ich verpflichte mich, meinem Pferd während der Studie keine anderen Medikamente ohne vorherige Absprache mit dem Tierarzt zu verabreichen.
5. Ich lasse mein Pferd freiwillig an dieser Studie teilnehmen und bin mit seiner Behandlung einverstanden.
6. Ich bin einverstanden mit dem Tierarzt so zusammenzuarbeiten, dass die Studie nach dem Prüfplan durchgeführt werden kann. Ich weiß, dass es mir freisteht, die Studie jederzeit abzubrechen. Ich werde den Tierarzt sofort informieren, sollte ich beschließen, mein Pferd nicht weiter an der Studie teilnehmen zu lassen.
7. Ich bin einverstanden, mein Pferd dem Tierarzt zu den vereinbarten Untersuchungstagen vorzustellen und mein Pferd für die Dauer der Untersuchungen in der Tierarztpraxis Thurmading einzustellen.

8. Für etwaige, durch die Studie dem Pferd entstehende Schäden, vereinbaren die Parteien einen umfassenden Haftungsausschluss. Hiervon ausgenommen ist die Haftung für Schäden aus der Verletzung des Lebens, des Körpers oder der Gesundheit, die auf einer mindestens fahrlässigen Pflichtverletzung der Hochschule, ihres gesetzlichen Vertreters oder Erfüllungsgehilfen beruht sowie für sonstige Schäden, die durch eine mindestens grob fahrlässige Pflichtverletzung der Hochschule, ihres gesetzlichen Vertreters oder Erfüllungsgehilfen entstanden sind.
9. Sollte eine Vereinbarung dieses Vertrages unwirksam sein, bleiben die übrigen dennoch bestehen.
Mit der Unterschrift erklärt der Pferdeeigentümer, die Vereinbarung gelesen und verstanden zu haben, sowie einverstanden zu sein.

Name des Pferdes	
Vor- und Nachname des Besitzers	
Unterschrift des Besitzers	
Datum	

2. Untersuchungsprotokolle

2.1. Vorbericht

<u>Vorbericht</u>	
Patient NR	_____
Name des Besitzers	_____
Name des Pferdes	_____
1) Lebensnummer	_____
2) Schlachttier	<input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein
3) Equidenpass liegt vor	<input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein
4) Alter des Pferdes	_____ Jahre
5) Geschlecht	<input type="checkbox"/> Hengst <input type="checkbox"/> Wallach <input type="checkbox"/> Stute
6) Gewicht	_____ kg
7) Stockmaß	_____ cm
8) Verwendungszweck	<input type="checkbox"/> Turnierpferd (Disziplin: _____) <input type="checkbox"/> Freizeitpferd <input type="checkbox"/> Beistellpferd <input type="checkbox"/> Zucht <input type="checkbox"/> sonstiges: _____
Das Pferd wird ca _____ */Woche, jeweils ca _____ Stunden bewegt.	
9) Haltung	<input type="checkbox"/> Aussenbox <input type="checkbox"/> Innenbox _____ Stunden Auslauf/ Weide am Tag <input type="checkbox"/> Paddockbox <input type="checkbox"/> Offenstall <input type="checkbox"/> Sonstiges: _____
10) Einstreu	<input type="checkbox"/> Stroh <input type="checkbox"/> Sägemehl <input type="checkbox"/> gereinigte Sägespäne <input type="checkbox"/> sonstiges: _____
Beurteilung der Qualität der Einstreu:	
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6
<input type="checkbox"/> staubig	<input type="checkbox"/> schimmelig <input type="checkbox"/> verschmutzt

11) Futter

- Heu trocken Heu nass
 Silage/ Heulage Gras-/Heucobs
 Kraftfutter: _____
 Mineralfutter: _____

Beurteilung der Qualität des Futters (insbesondere Heu)

- 1 2 3 4 5 6
 staubig schimmelig verschmutzt
 sonstiges: _____

12) Krankengeschichte

Wann traten das erste Mal Symptome auf? _____

Welcher Art waren die Symptome zu Beginn? _____

Wie war der weitere Verlauf? _____

Bisherige Untersuchungen/ Ergebnisse/ Unterlagen? _____

Gibt es jahreszeitliche Besonderheiten? _____

13) Derzeitiger Gesundheitszustand

Welche Medikamente wurden dem Pferd in den letzten 3 Monaten verabreicht?

Derzeitige Symptome:

- Husten: nur bei Belastung auch in Ruhe

Beschreibung: _____

- Atemnot: nur bei Belastung auch in Ruhe

- Nasenausfluss: nur bei Belastung auch in Ruhe

Beschreibung: _____

- Weitere Symptome: _____

Sind ihnen weitere Erkrankungen oder Allergien bei ihrem Pferd bekannt? Wenn ja, welche? _____

(Datum und Unterschrift Pferdebesitzer)

2.2. Klinische Untersuchung

Tierarztpraxis Thurmading, Thurmading 2, 84568 Pleiskirchen

B) Klinische Untersuchung

Patient NR : _____
 Name des Besitzers : _____
 Name des Pferdes : _____

- 1) Allgemeinverhalten und Körperhaltung: ruhig und aufmerksam (obB)

- 2) Ernährungszustand : gut _____
- 3) Haarkleid : glatt, glänzend, anliegend

- 4) Hautoberfläche : obB

- 5) Hautelastizität : erhalten _____
- 6) IKT : _____ °C
- 7) Maulschleimhaut : blassrosa _____
 KFZ: < 2 sec _____ sec
- 8) Nase, Nasenschleimhaut, Nebenhöhlen: obB

 NAF: keiner ggr. mgr. hgr.
 serös mukös purulent
- 9) Obere Halsgegend, Kehlkopf, Husten: obB

 spontaner Husten Husten auslösbar
 trockener Husten Sekret/ Auswurf
- 10) Hals, Drosselrinne, Blutangebot: obB

- 11) Lymphknoten: obB _____

IX. Anhang

Tierarztpraxis Thurmading, Thurmading 2, 84568 Pleiskirchen

12) Puls, Kreislauf : _____ Schläge/min

kräftig, regelmäßig und gleichmäßig, Arterie ist gut gefüllt und gespannt

13) Atmung : _____ Atemzüge/min

Kostoabdominaler Typus, regelmäßig, ggr. vertieft

Dyspnoe: _____

Atemgeräusche: _____

Dampfwinne Afteratmung

Intercostale Atmung Nüsternblähen

verlängerte Ausatmung

14) Perkussion Lunge : Mittlere Lungengrenzen im _____ ICR

beiderseits heller und lauter Schall

überlauter Schall Dämpfung

Erweiterung Lungenfeld:

3 Finger handbreit mehr als handbreit

15) Auskultation Lunge :

vesikuläres Atmungsgeräusch, tiefes Inspirium rein

Rasseln Giemen Knistern

16) Auskultation Herz: _____ Schläge/min

Kräftig, regelmäßig, Herztöne gut abgesetzt, keine Herzgeräusche

17) Abdomen: obB

Weitere Anmerkungen:

Thurmading, den _____

Untersucher: _____

2.3. Endoskopie

Tierarztpraxis Thurmading, Thurmading 2, 84568 Pleiskirchen

Endoskopie

Patient NR : _____
 Name des Besitzers : _____
 Name des Pferdes : _____

Sedation mit : Nasenbremse
 _____ ml Detomidinhydrochlorid (Domosedan)
 _____ ml 1% Butorphanoltartrat (Torbugesic)
 _____ ml _____

1) Nasengänge : o.b.B
 Befunde : _____

2) Siebbein : o.b.B
 Befunde : _____

3) Rec. Pharyngicus : o.b.B. Rötung Zubildung
 Sonstiges: _____

4) Pharynx : o.b.B. Rötung Zubildung
 Sonstiges: _____
 Sekret aus Luftsackklappen
 re li beidseits

5) Luftsack : o.b.B
 Befunde : re li beidseits

IX. Anhang

Tierarztpraxis Thurmading, Thurmading 2, 84568 Pleiskirchen

6) Larynx : o.b.B.
 Rötung Zubildung Sekret
 Hemiplegia links rechts
Sekretmenge (Skala 0 – 5) : _____
Sekretviskosität (Skala 0 – 5) : _____

7) Trachea : o.b.B.
 Rötung Zubildung Sekret
Sekretmenge (Skala 0 – 5) : _____
Sekretviskosität (Skala 0 – 5) : _____

8) Hauptbronchien : o.b.B. Rötung Sekret

9) Carina tracheae : o.b.B.
 Befunde : _____

 ggrd. mgrd. hgrd. verbreitert

10) Mikrobiologie : durchgeführt nicht durchgeführt
 eigenes Labor Fremdlabor
Ergebnis(se) : _____

11) TBS Analyse (Laborergebnisse der TBS Analyse als Anhang)

12) BAL (Laborergebnisse der BAL Analyse als Anhang)

Sonstige Anmerkungen:

Thurmading, den _____ Untersucher: _____

2.4. Intrakutantest

Pferd:

Datum:

Uhrzeit (Beginn):

Nr.	Allergen	30 min	1 h	2 h	4 h	24 h
1	neg					
2	pos					
3	Schafwolle 1:10					
4	Alternaria 1:100					
5	Aspergillus 1:100					
6	Cladosporium 1:100					
7	Epithelia Mix 1:100					
8	Kakerlake 1:2					
9	Stubenfliege 1:10					
10	Mosquito 1:5					
11	Buche 1:5					
12	Ahorn 1:5					
13	gemeine Hasel 1:5					
14	Silberpappel 1:5					
15	Quecke 1:5					
16	Weidelgras 1:5					
17	weißer Gänsefuß 1:5					
18	Beifuß 1:5					
19	echte Goldrute 1:5					
20	Knäuelgras 1:5					
21	weißes Straußgras 1:5					
22	Wiesenrispengras 1:100					
23	Wiesenfuchsschwanz 1:5					
24	Hundszahngras 1:5					
25	Ambrosie 1:5					
26	kleiner Sauerampfer 1:5					
27	wolliges Honiggras 1:5					
28	Spitzwegerich 1:100					
29	Glaskraut 1:100					
30	Raps 1:100					
31	Baumpollen 1					
32	Baumpollen 2					
33	Derm. farinae					
34	Derm. pteronyssinus					
35	Tyrophagus					
36	Acarus siro					

IX. Anhang

37	Katzenepithelien					
38	Floh					
39	Heumilbe/Lepidoglyphus					
40	Kräuterpollenmix					
41	Spitzwegerich 1:5					
42	Glaskraut 1:5					
43	Raps 1:5					
44	Knäulgras 1:100					
45	neg					
46	pos					

2.5. Histamin-Inhalations-Provokationstest (HIPT)

Patient NR _____

Name des Besitzers _____

Name des Pferdes _____

Anfangskonzentration Histamin: _____ mg/ml

Messungen:

Dosis (mg Histamin)	Herz-frequenz	Atem-frequenz	Allgemein-befinden	ΔpPI (mmH ₂ O)	Besonderheiten
Leerwert					
Pufferlösung					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					
mg/ml HDC					

Abbruch HIPT bei einer Histaminkonzentration von _____ mg auf Grund

Bemerkungen: _____

Durchführender Tierarzt: _____

Weitere Anwesende Personen: _____

Datum und Unterschrift

2.6. Allergen-Inhalations-Provokationstest (AIPT)

Patient NR _____

Name des Besitzers _____

Name des Pferdes _____

Allergen _____

Ursprungskonzentration Allergenlösung: _____ mg/ml

Messungen:

Dosis	Herz- frequenz	Atem- frequenz	Allgemein- befinden	ΔpPI (mmH ₂ O)	Besonder- heiten
Leerwert					
Pufferlösung					
1:1000					
1:100					
1:10					

Abbruch AIPT bei einer Allergenkonzentration von _____ auf Grund

Bemerkungen: _____

Durchführender Tierarzt: _____

Weitere Anwesende Personen: _____

Datum und Unterschrift

3. Auflistung aller Ergebnisse

	Pferd				ja = 1, nein = 0	nach Ohnesorge	mmHg	nach Die	Carina Tracheae	Endoskopiepunkte nach Ohnesorge (1998)
	Grunddaten	Vorbericht	Klinische Untersuchung	Blutgase						
		Gesund = 0, RAO = 1								
#01	0	15	478	158	0	0	105	37	0	0
#02	0	14	524	163	0	0	89	44	1	0
#03	0	14	538	161	0	0	89	43	2	0
#04	0	6	403	142	0	0	93	43	0	0
#05	0	25	610	165	0	0	95,3	43,8	0	0
#06	0	28	430	140	0	0	95,8	41,6	0	0
#07	1	15	430	149	0	0	90	37	7	1
#08	1	18	451	156	1	0	87	47	4	0
#09	1	15	520	154	1	1	73	41	25	2
#10	1	12	500	149	1	0	95	42	2	0
#11	1	22	510	151	1	1	93	39	10	1
#12	1	10	478	156	1	1	82	49	11	1
#13	1	6	543	172	1	1	73	48	19	2
#14	1	13	433	152	1	1	87	49	7	1
#15	1	16	418	147	1	1	86	48	5	0

IX. Anhang

	Pferd																	
	-, = keine vorhanden, + = ggf. vorh., ++ = mgr. vorh., +++ = hgr. vorh., ++++ = das Zellbild dom. Zytologie des Tracheobronchialsekrets																	
	BAL-Zytologie nach Sedimentausrich																	
#01	++	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
#02	++	++	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
#03	+++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
#04	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
#05	++	+	++	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1
#06	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	0
#07	++	+	+++	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	6
#08	++	+	+++	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	4
#09	+	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
#10	++	-	++	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	5
#11	+	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	7
#12	++	-	++++	+	++	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	11
#13	++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
#14	+	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
#15	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	11
Gesamtpunkte nach Ohnesorge																		

IX. Anhang

#Pferd	Allergen-Inhalations-Provokationstest Allergen 1															Allergen-Inhalations-Provokationstest Allergen 2																									
	Δ Ppl (PBS)	AF (PBS)	HF (PBS)	Δ Ppl (Allergenlösung 1: 1000)	AF (Allergenlösung 1:1000)	HF (Allergenlösung 1:1000)	Δ Ppl (Allergenlösung 1:100)	AF (Allergenlösung 1:100)	HF (Allergenlösung 1:100)	Δ Ppl (Allergenlösung 1:10)	AF (Allergenlösung 1:10)	HF (Allergenlösung 1:10)	Δ Ppl (4-6 Std nach Allergen 1)	AF (4-6 Std nach Allergen 1)	HF (4-6 Std nach Allergen 1)	Δ Ppl (PBS)	AF (PBS)	HF (PBS)	Δ Ppl (Allergenlösung 1: 1000)	AF (Allergenlösung 1:1000)	HF (Allergenlösung 1:1000)	Δ Ppl (Allergenlösung 1:100)	AF (Allergenlösung 1:100)	HF (Allergenlösung 1:100)	Δ Ppl (Allergenlösung 1:10)	AF (Allergenlösung 1:10)	HF (Allergenlösung 1:10)	Δ Ppl (4-6 Std nach Allergen 2)	AF (4-6 Std nach Allergen 2)	HF (4-6 Std nach Allergen 2)											
#01	15,1	9,0	40,0	21,8	9,0	40,0	22,7	11,0	48,0	22,1	8,0	60,0			14,8	9,0	28,0	17,1	10,0	32,0	17,7	10,0	36,0	23,7	10,0	36,0															
#02	5,9	9,0	36,0	6,5	9,0	32,0	6,9	10,0	32,0	6,2	10,0	32,0	6,4	10,0	32,0	7,5	9,0	32,0	6,5	10,0	32,0	7,9	9,0	32,0	7,7	9,0	32,0	7,1	9,0	32,0	7,1	9,0	36,0								
#03	16,5	12,0	36,0	14,2	13,0	36,0	15,0	11,0	36,0	13,7	12,0	32,0	15,0	15,0	32,0	15,2	12,0	32,0	15,7	12,0	32,0	17,5	15,0	36,0	22,8	15,0	36,0	13,8	15,0	32,0											
#04	23,4	16,0	36,0	30,5	20,0	40,0	35,5	19,0	44,0																																
#05	27,0	12,0	40,0	31,9	14,0	32,0	32,3	15,0	36,0	30,1	14,0	36,0	2,9	10,0	32,0	29,5	10,0	40,0	32,7	10,0	40,0	28,4	11,0	40,0	26,4	10,0	32,0														
#06	6,4	14,0	32,0	5,7	21,0	44,0	4,5	18,0	32,0	4,4	16,0	32,0	4,8	17,0	32,0	6,2	12,0	32,0	6,6	13,0	32,0	7,1	13,0	32,0	7,6	14,0	32,0	5,1	16,0	36,0											
#07	6,9	11,0	32,0	7,9	9,0	32,0	8,3	9,0	32,0	8,4	9,0	28,0	7,7	10,0	32,0	8,2	7,0	32,0	8,1	7,0	28,0	8,5	6,0	28,0	10,5	6,0	28,0	11,0	7,0	32,0											
#08	2,9	20,0	32,0	3,4	24,0	32,0	3,8	20,0	26,0	2,7	18,0	32,0	3,1	20,0	36,0	3,1	20,0	36,0	3,2	20,0	36,0	3,3	22,0	36,0	3,1	24,0	32,0	3,3	22,0	32,0											
#09																																									
#10	9,7	13,0	32,0	11,4	15,0	32,0	15,1	13,0	36,0	15,4	14,0	40,0	12,6	13,0	36,0	14,8	11,0	40,0	19,2	10,0	40,0	16,9	11,0	36,0	16,7	12,0	40,0	14,4	11,0	40,0											
#11	6,1	16,0	40,0	5,5	18,0	36,0	5,6	19,0	36,0	6,9	23,0	32,0	13,1	15,0	40,0	13,2	14,0	40,0	15,2	18,0	36,0	10,0	17,0	36,0	11,4	16,0	40,0	6,1	23,0	40,0											
#12	5,9	15,0	40,0	4,5	16,0	40,0	6,7	17,0	28,0	4,5	17,0	32,0	7,2	14,0	36,0	5,0	15,0	36,0	5,9	15,0	40,0	6,2	15,0	28,0	6,0	14,0	28,0	5,9	15,0	36,0											
#13	6,8	15,0	32,0	8,3	16,0	32,0	7,8	17,0	36,0	6,6	16,0	44,0	22,9	17,0	48,0																										
#14	8,0	27,0	40,0	12,8	29,0	60,0							29,4	27,0	44,0																										
#15																																									

AF = Atemfr., HF = Herzfr., Δ Ppl = MW der Druckänd. aus 10 Atemz. in cm H₂O

IX. Anhang

Pferd	Intrakutantest 0,5 - 1 h (Seite 1)																																			
	neg	pos	Schafwolle 1:10	Alternaria 1:100	Aspergillus 1:100	Cladosporium 1:100	Epithelia Mix 1:100	Kakerlake 1:10	Stubenfliege 1:100	Mosquito 1:100	Buche 1:100	Ahorn 1:100	gemeine Hasel 1:100	Silberpappel 1:100	Quecke 1:100	Weidelgras 1:100	weißer Gänsefuß 1:100	Beifuß 1:100	echte Goldrute 1:100	Knäuelgras 1:100	weißes Straußgras 1:100	Wiesenrispengras 1:100	Wiesenfuchsschwanz 1:100	Hundszahngas 1:100	Ambrosie 1:100	kleiner Sauerampfer 1:100	wolliges Honiggras 1:100	Spitzwegerich 1:100	Glaskraut 1:100	Raps 1:100	Baumpollen 1	Baumpollen 2				
#01	0	4	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	
#02	0	4	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1		
#03	0	4	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
#04	0	4	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
#05	0	4	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
#06	0	4	2	2	1	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0		
#07	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
#08	0	4	0	0	1	1	1	0																												
#09	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
#10	0	4	1	1	1	1	1	0																												
#11	0	4	0	0	0	0	0	0																												
#12	0	4	0	0	1	1	1	0																												
#13	0	4	1	1	1	2	1																													
#14	0	4	0	2	0	0	0																													
#15	0	4	0	0	0	1	1																													

IX. Anhang

Intrakutantest 2-24 h (Seite 2)																	
	Derm. farinae																
	Derm. pteronyssinus																
	Tyrophagus																
	Acarus siro																
	Katzenepithelien																
	Floh																
	Heumilbe/Lepidoglyphus																
	Kräuterpollenmix																
	Kakerlake 1:2																
	Stubenfliege 1:10																
	Mosquito 1:5																
	Buche 1:5																
	Ahorn 1:5																
	gemeine Hasel 1:5																
	Silberpappel 1:5																
	Gemeine Quecke 1:5																
	Weidelgras 1:5																
	Weißer Gänsefuß 1:5																
	Beifuß 1:5																
	Echte Goldrute 1:5																
	Knäuelgras 1:5																
	Weißes Straußgras 1:5																
	Wiesenrispengras 1:5																
	Wiesenfuchsschwanz 1:5																
	Hundszahngas 1:5																
	Ambrosie																
	kleiner Sauerampfer 1:5																
	wolliges Honiggras 1:5																
	Spitzwegerich 1:5																
	Glaskraut 1:5																
	Raps 1:5																
	neg																
	pos																
3	3	1	2	0	3	1	2	3	0	4	0	1	2	2	2	0	4
4	3	2	2	1	1	0	1	1	0	4	0	3	4	0	1	0	4
3	3	2	1	2	1	0	2	1	0	3	0	1	0	0	1	3	0
1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	1	0	0	1	0	3
4	3	0	4	2	1	0	3	3	0	3	0	0	2	2	2	0	4
5	5	2	1	1	0	2	2	1	0	4	0	1	0	1	0	1	4
3	2	1	0	0	0	2	1	0	0	3	0	2	2	0	0	2	3
5	4	4	2	0	0	3	2	2	1	2	1	2	0	0	0	2	4
3	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	2	0	0	2	1	0	4
4	3	2	0	0	0	2	1	2	0	3	1	2	0	0	1	0	4
4	2	0	0	0	2	2	2	4	0	3	0	2	0	0	0	0	3
3	3	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	2	0	4
4	4	2	1	2	2	1	0	1	0	2	0	2	1	1	0	2	4
4	4	0	0	1	2	2	0	2	0	3	1	1	2	0	3	2	4
3	3	1	2	0	0	3	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	4

0 = negativ, 1 = grenzwertig positiv, 2 = schwach positiv, 3 = positiv, 4 = stark positiv, 5 = sehr stark positiv

IX. Anhang

	FIT (Funktioneller in Vitro Test)																													
	Pferd	Culicoides nubeculosus	Wadenstecher	Kriebelmücke	Eintagsfliege	Motte	Stechmücke	Pferdebremse	Hausfliege	Feuerameise	Gräser-Mix (Pollen)	Baum-Mix (früh)	Baum-Mix (spät)	Spätpollen-Mix	Derm. pter.	Lep. Destr.	Acarus siro	Mais	Roggen	Weizen	Hafer	Gerste	Haselnuss	Raps	Birke	Gräser-Mix (Korn)	Schimmelpilz-Mix	Hautpilz-Mix		
#01	4	4	4	4	4	5	5	5	5	4	0	1	2	2	3	1	3	2	2	0	0	0	0	0	3	1	1	3	1	
#02	2	2-3	3	3	3	5	2-3	4	2	3	0	2	1	1	3	2	3	3	2	3	2	1	0	0	3	0	3	2	1	
#03	2	2	2	2	4	2	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	0	0	
#04	3	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
#05	1	0	2	2	3-4	3	2	0	2	0	0	0	0	0	3	0	3	0	2	0	0	2	0	0	3	0	0	2-3	2	
#06	2	2	1	4	4	2	2	2	3	2-3	0	0	2	1	3	4	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	2	0	
#07	4	3	3	4	2-3	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3	3-4	3	3	4	4	4	3	3-4	1	4	3	4	3	1	
#08	2	0	2	2	3	2	2	2	0	3	0	2	2	2	3	2	2	3	2	3	4	3	3	3	2	2	3	2	3	
#09	3	1	0	2	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
#10	2	3	2	3	3	4	3	3	3	3	0	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3	0	0	2	0	0	0	3	0	
#11	1	0	2	2	3	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	
#12	0	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	0	0	0	0	3	0	0	3	0	2	4	0	
#13	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	
#14	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
#15	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	3	0	

IX. Anhang

	Pferd		Fce-Rezeptor Test (HESKA)
#01	0	2	
#02	0	0	0
#03	0	0	0
#04	0	0	0
#05	0	0	0
#06	0	2	0
#07	0	0	0
#08	0	3	0
#09	0	2	1
#10	0	2	3
#11	0	1	0
#12	0	0	0
#13	0	0	0
#14	0	1	0
#15	0	0	0
	0 = negativ, 1 = grenzwertig positiv, 2 = schwach positiv, 3 = positiv, 4 = stark positiv, 5 = sehr stark positiv		
	Ctenocephalides salivae (Floh)		
	Derm. farinae		
	Derm. pteronyssinus		
	Tyrophagus putrescentiae		
	Lepidoglyphus destructor		
	Acarus siro		
	Felis catus epithelium (Katzenepithelien)		
	Blattella germanica (Deutsch Schabe)		
	Alternaria alternata		
	Cladosporium herbarum		
	Aspergillus fumigatus		
	Penicillium sp.		
	Gramineae mixtum (Süßgräser-Mix)		
	Agrostis alba (Weißes Straußgras)		
	Cynodon dactylon (Hundszahngras)		
	Sorghum halepensis (Wilde Mohrenhirse)		
	Rumex crispus (Krauser Ampher)		
	Plantago lanceolata (Spitzwegerich)		
	Artemisia vulgaris (Beifuß)		
	Chenopodium album (Weißer Gänsefuß)		
	Urtica dioica (Brennnessel)		
	Ambrosia mixtum		
	Parietaria officinalis (Aufrechtes Glaskraut)		
	Salsola kali (Kali-Salzkraut)		
	Betula sp. (Birke)		
	Alnus sp. (Erle)		
	Quercus sp. (Eiche)		
	Cupressus sp. (Zypresse)		
	Corylus avellana (Haselnuss)		
	Ulmus campestris (Feldulme)		
	Fagus sylvatica (Rotbuche)		
	Populus sp. (Pappel)		
	Acer pseudoplatanus (Bergahorn)		
	Salix sp. (Weide)		
	Olea europaea (Olivenbaum)		
	Cryptomeria sp. (Zeder)		

4. **Abbildungverzeichnis**

<i>Abbildung 1: Punktion der A. carotis communis dextra</i>	26
<i>Abbildung 2: Durchführung der Tracheobronchoskopie</i>	27
<i>Abbildung 3: Sekretbildung in der Trachea</i>	29
<i>Abbildung 4: Intradermale Injektion der Allergenlösungen</i>	33
<i>Abbildung 5: Intrakutantest 10 Minuten nach Injektion der Allergenlösungen ...</i>	33
<i>Abbildung 6: Inhalationsmaske mit aufgesetztem Vernebler (Bild NEBUTEC Medical Products)</i>	42
<i>Abbildung 7: Aerosolverteilung des Ultraschallverneblers SaHoMa-II (Bild NEBUTEC Medical Products)</i>	42
<i>Abbildung 8: Lage der Ösophagussonde (Bild Böhringer Ingelheim)</i>	44
<i>Abbildung 9: Lungendruckmessung während der Inhalation</i>	44
<i>Abbildung 10: Verdünnte Allergenlösungen für die Provokationsinhalation</i>	46
<i>Abbildung 11 : Anzahl der gesamtpositiven Ergebnisse in den vier Allergietests in %</i>	62
<i>Abbildung 12: Vergleich der positiven Ergebnisse aus den vier Allergietests auf Schimmelpilze in %</i>	63
<i>Abbildung 13: Anzahl der positiven Ergebnisse in den vier Allergietests auf Milben in %</i>	64
<i>Abbildung 14: Abbruchkonzentrationen im HIPT</i>	66

X. LEBENSLAUF

Persönliche Angaben

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

XI. DANKSAGUNG

Zum Abschluss möchte ich all jenen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Zuerst danke ich Frau Prof. Dr. Heidrun Gehlen für das Überlassen des anspruchsvollen und hochinteressanten Themas, die freundliche Unterstützung und die Durchsicht des Manuskripts.

Ich danke Dr. Franziska Aumer, die mir in der Anfangszeit meiner Dissertation eine große Hilfe war und die mir viele wichtige Aspekte der Allergiediagnostik näher gebracht hat.

Dr. John Klier, meinem Betreuer, möchte ich für seinen unermüdlichen Beistand, die praktische Hilfe bei den Untersuchungen am Pferd und die hilfreiche Kritik beim Korrekturlesen meiner Arbeit danken.

Mein Dank gilt auch Prof. Ralf Müller für die wertvollen Anregungen und Kritiken und für die Organisation des HESKA-Tests und der Allergenlösungen für den Intrakutantest und die Inhalationen.

Bei Herrn PD Dr. Sven Reese möchte ich mich für die Unterstützung bei der statistischen Aufarbeitung meiner Ergebnisse bedanken.

Mein Dank gilt auch meinem lieben „Chef“, Dr. Marcus Menzel, für die Überlassung seiner Patienten und das zur Verfügung stellen seiner Praxisräume und –geräte für die Durchführung der praktischen Untersuchungen.

Herrn Kern von der Firma NeBuTec danke ich für die Überlassung des SaHoMaII Inhalationsgerätes.

Der Firma Synlab, insbesondere Frau Dr. Ina Luz danke ich für die große Unterstützung beim Versuch den CAST in meiner Arbeit zu etablieren und für die Überlassung der Testergebnisse aus dem IBL.

Danke an meinen Mann Martin, dafür dass du mich immer wieder motiviert hast. Der größte Dank gilt jedoch meinen Eltern für die Unterstützung während meines Studiums und die vielen Babysitter – Nachmittage, ohne die ich meine Arbeit niemals fertig schreiben können hätte.

XII. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Mehring, den 16.09.2016

Daniela Lindner