

# Antikörperspiegel gegen *Aspergillus fumigatus* in Seren von Pferden mit Atemwegs- und Hauterkrankungen aus der tierärztlichen Praxis und Klinik

Katharina Meissner, W. Schrödl

Institut für Bakteriologie und Mykologie  
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

*Aspergillus (A.) fumigatus* ist ein heterotropher Schimmelpilz mit saprophytärer Lebensweise und ubiquitärem Vorkommen (Heu, Stroh, Stallluft, Erdboden usw.). Er kann an der Entstehung von Atemwegs- und Hauterkrankungen als Mykose oder Allergen beteiligt sein. Die Luftsackmykose ist eine sporadisch auftretende Einzeltierkrankung, die durch verschiedene Schimmelpilze (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucorales* sp.) hervorgerufen wird, wobei *A. fumigatus* häufig nachzuweisen ist. Pilzproteine werden je nach Umgebungskonzentration quantitativ unterschiedlich aerogen aufgenommen und können allergische Immunreaktionen induzieren und somit als Allergen wirken. Bei dem Sommerekzem kann eine allergische Reaktion mit primär unterschiedlicher Kausalität vorliegen, wobei Pilzallergene – insbesondere von *A. fumigatus* – mit beteiligt oder verstärkend wirkend sind.

## Zielstellung

Das Ziel war die quantitative Bestimmung der Antikörperspiegel gegen *Aspergillus fumigatus* (Af) im Blut von Pferden mit verschiedenen Krankheitsbildern, wobei die unterschiedlichen Immunglobulinklassen berücksichtigt werden sollten. Dabei war insbesondere zu untersuchen, ob bei definierten Proteinfractionen (Molekülgrößenbereich) des Pilzantigens eine besonders hohe Antikörperbindung erfolgt.

## Methodik

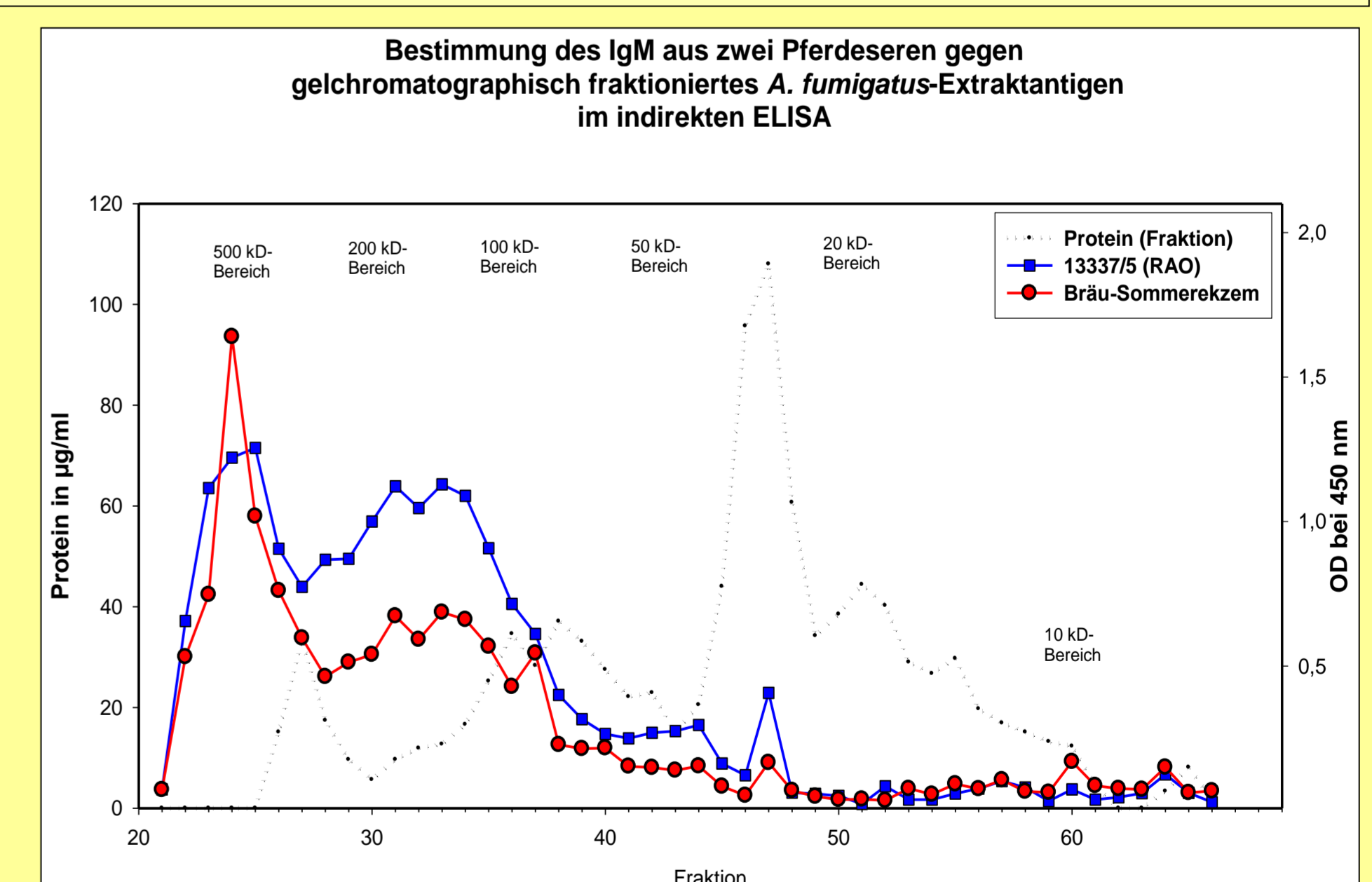
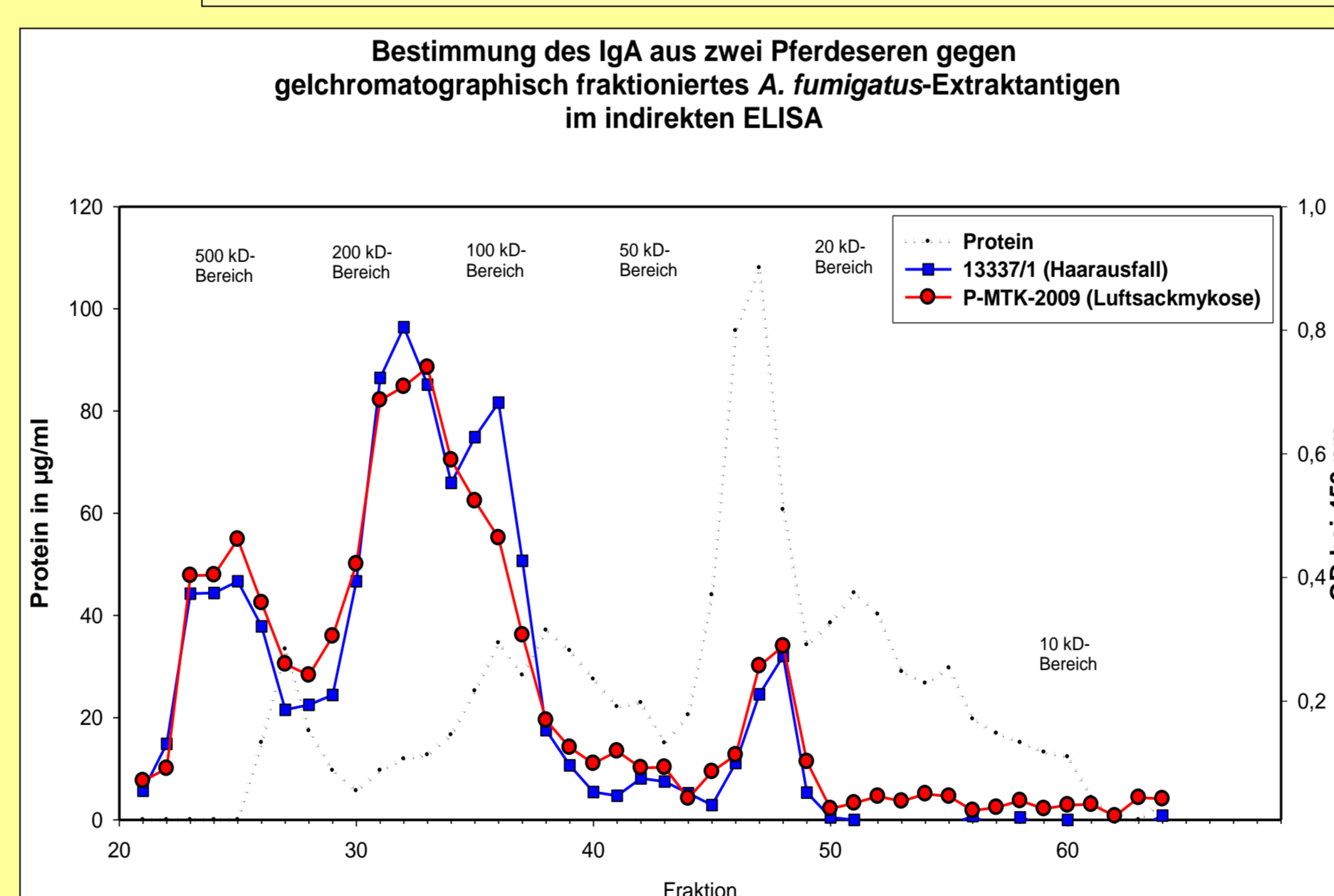
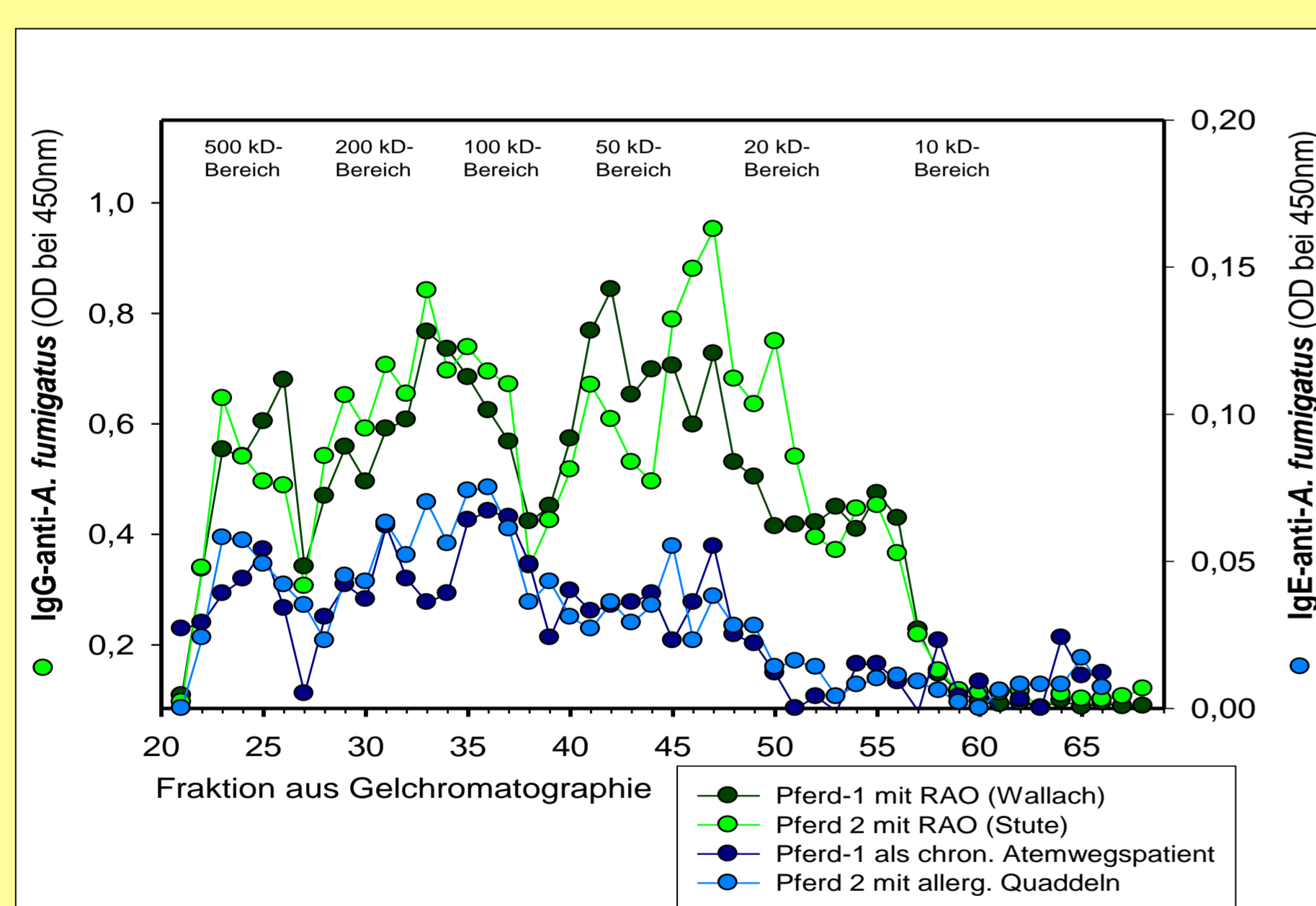
Der Kulturüberstand (7 Tage bei 37°C) von *A. fumigatus* wurde bei einer Ausschlussgrenze von 5 kD eingengt und in PBS (pH 7,35, nach Dulbecco) aufgenommen. Das konzentrierte Af-Antigen war die Basis für die Entwicklung indirekter ELISA, mit denen die Blutproben von Pferden aus der tierärztlichen Praxis, Klinik und Privatbesitz untersucht wurden. Die Auswertung der Messdaten erfolgte in Bezug auf einen laborinternen Standard (Poolprobe von über 500 Pferden und Normierung auf 100%). Das aufkonzentrierte Af-Filtrat wurde gelchromatographisch fraktioniert. Mit jeder einzelnen Fraktion als auch mit drei gemischten sowie nochmals aufkonzentrierten Fraktionen (Fraktion 1: > 200 kD, Fraktion 2: 50-200 kD, Fraktion 3: 10-50 kD) wurden die Blutproben im indirekten ELISA untersucht.

## Ergebnisse

Erkrankungen	IgG-anti-Af* ( $\bar{x}$ : % der Kontrolle)	IgM-anti-Af* ( $\bar{x}$ : % der Kontrolle)	IgA-anti-Af* ( $\bar{x}$ : % der Kontrolle)	IgE-anti-Af* ( $\bar{x}$ : OD <sub>450nm</sub> )
RAO (n=6)	258	311	93	0,096
Sommerekzem (n=5)	283	418	141	0,098
Luftsackmykose (n=1)	182	198	88	0,081
allergische Quaddeln (n=1)	520	229	575	0,107
lokal begrenzter Haarausfall (n=1)	213	347	97	0,085
Bezugskontrolle	100	100	100	0,073

\* unfraktioniertes Af-Filtrat

1. Bei den an RAO und Sommerekzem erkrankten Tieren waren erhöhte Anti-Af-IgM- und -IgG-Spiegel messbar, was auf eine verstärkte humorale Immunreaktion hindeutet (s. Tab. und Abb. links und rechts)
2. Bei einem Pferd mit allergischen Quaddeln ist bei der Af-Fraktion 3 (10 bis 50 kD-Bereich) das IgG fast 6-fach und bei der Fraktion 2 (50 bis 200 kD-Bereich) das IgA 15-fach in Bezug auf die interne Poolkontrolle erhöht. In der Tabelle sind die Ergebnisse bei dem unfraktionierten Af-Antigen zusammengefasst.
3. Bei der Luftsackmykose ist bei der Fraktion 3 das IgA 6-fach im Vergleich zur Poolkontrolle erhöht (s. mittlere Abb.)
4. Das Pferd mit Haarausfall zeigte bei Fraktion 2 eine fast 10-fache Erhöhung von IgA zur Internkontrolle (s. mittlere Abb.).



## Schlussfolgerungen

1. Mit dem *A. fumigatus*-Kulturüberstandsfiltrat sowie mit Fraktionen dessen konnten ELISA entwickelt werden, die eine quantitative Bestimmung von Antikörpern aller Immunglobulinklassen im Blut von Pferden ermöglichen. Bei Pferden mit Sommerekzem können insbesondere erhöhte Anti-Af-IgM-Spiegel (bei Fraktion 1, 2 und 3 im Mittel fünffach) bestimmt werden. Bei einem Pferd mit allergischen Quaddeln war dagegen der Anti-Af-IgA-Spiegel (15-fache Erhöhung) auffällig erhöht.
2. Bei IgM und IgA sind offenbar Af-Proteine definierter Größen für die Ak-Bindungsmessung besonders geeignet, da diese einen nahezu identischen Peak (IgM: 440 bis 530 kD und IgA: 130 bis 150 kD) im höhermolekularen Bereich - selbst bei verschiedenen Krankheitsbildern - zeigten.
3. Bei IgG und IgE scheint ein größeres Spektrum an Antigenproteinen zu existieren, da mehrere Fraktionen ähnliche Bindungen aufwiesen und sich diese im höher- und niedermolekularen Bereich befanden.
4. Weiterführende Untersuchungen müssen mit umfangreicheren Probenmaterial von klinisch eindeutig charakterisierten Patienten erfolgen. Für die weitere Testetablierung kann die Antigenauswahl und Charakterisierung hinsichtlich Ausschluss von Kreuzreaktionen fortgeführt werden.