

**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

**Band:** 123 (1981)

**Artikel:** Histologische und morphologische Charakterisierung von Pferde-Reagin (IgE) mittels Prausnitz-Küstner-Technik

**Autor:** Suter, Mark / Tschärner, Claudia von / Arnold, Pierre

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-593609>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 07.10.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Aus dem Veterinär-Bakteriologischen Institut<sup>1</sup>, dem Institut für Tierpathologie<sup>2</sup>  
und der Klinik für Nutztiere<sup>3</sup> der Universität Bern

## Histologische und morphologische Charakterisierung von Pferde-Reagin (IgE) mittels Prausnitz-Küstner-Technik

von Mark Suter<sup>1</sup>, Claudia von Tscharnner<sup>2</sup>, und Pierre Arnold<sup>3</sup>

### Einleitung

Überempfindlichkeitsreaktionen vom Soforttyp (Typ 1 nach *Coombs* und *Gell*, 1975) entfalten ihre Wirkung analog Fig. 1. Nach einer Allergisierung, in unserer Untersuchung mit einem künstlichen Hapten, bildet der Körper nebst andern Immunglobulinen (IgM, IgG etc.) vorzugsweise IgE, das sich im Blut an basophile Granulocyten, im Gewebe an Mastzellen fixieren kann (Homocytophilie). Eine zweite Allergenexposition führt zur Degranulation und Freisetzung von Histamin und andern Mediatoren aus den genannten Zellen, was eine örtliche Entzündung provoziert, andererseits aber eosinophile Granulocyten anlockt, die offensichtlich eine IgE-abhängige allergische Reaktion modulieren können (*Butterworth* et al., 1977) und zur Beseitigung von Antigen-Antikörperkomplexen befähigt sind (*Capron* et al., 1981). Im Hauttest können somit Seren oder gereinigte Serum-Fractionen auf den Gehalt von cytophilinen Immunglobulinen geprüft werden. Damit wollten wir die erfolgreiche Allergisierung von Versuchspferden prüfen sowie die Reinigungsschritte von Pferde IgE verfolgen (*Suter und Fey*, 1981).

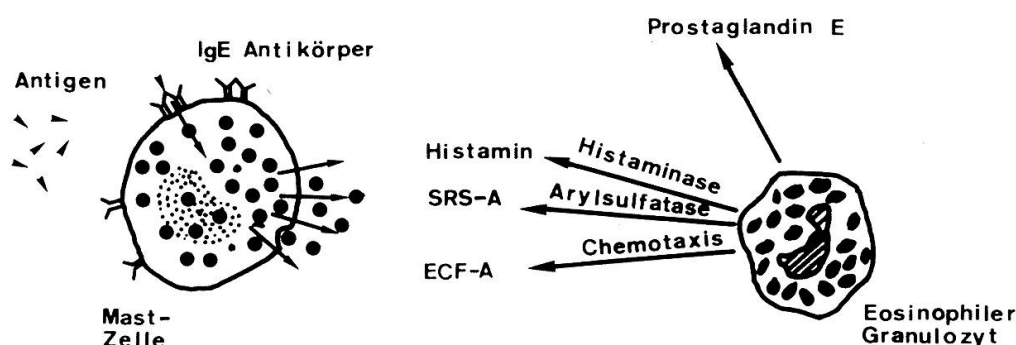


Fig. 1 Schematische Darstellung der Typ I-Reaktion wie im Text (S. 647) beschrieben (modifiziert aus *Tizard*, 1977)

<sup>1</sup> Korresp. Adresse: Dr. M. Suter, Vet.-bakteriol. Institut, Postfach 2735, CH-3001 Bern

### Material und Methoden

#### a) Antigen.

Wir benutzten das Hapten o-Dinitrocarboxyphenol (o-DNCP), das nach der Methode von Schneider et al., (1974) an bovines Albumin gekoppelt wurde. Wir errechneten 50 Haptenmoleküle pro Molekül Albumin (o-DNCP<sub>50</sub>-BSA).

#### b) Immunisierung der Pferde.

Es wurden drei Pferde immunisiert (ein 9-jähriges Vollblut und zwei Halbblut, 6, resp. 15 Jahre alt). Wöchentlich wurde ihnen folgendes Inoculum subcutan verabreicht: 100 µg o-DNCP<sub>50</sub>-BSA in 0,5 mg Al(OH)<sub>3</sub> (Serva, Heidelberg) wurden mit 0,5 ml 0,1 N NaOH gemischt und mit PBS pH 7,2 zu 1 ml aufgefüllt (PBS = 0,01 M Na-Phosphat gepufferte physiologische Kochsalzlösung). Nach drei Wochen wurde die Reaktion von 10, 50, 100 µg Antigen in 0,1 ml physiol. Kochsalzlösung im direkten Hauttest geprüft und mit den Reaktionen vor der Immunisierung verglichen.

c) Die Isolierung von Pferde IgE erfolgte nach der Methode von Suter und Fey (1981).

#### d) Prausnitz-Küstner (PK)-Reaktion.

PK-Reaktionen führten wir nach Schatzmann et al., (1973) aus. Die Hautreaktion wurde nach 30 Minuten, 7 und 24 Stunden (h) abgelesen. Der Durchmesser der Hautschwellung wurde gemessen und wie folgt klassifiziert: 0–5 mm negativ, 5–10 mm +, 10–15 mm ++, > 15 mm +++.

#### e) Hautbiopsie und histologische Methoden.

Die Entnahmestellen wurden mit Xylocain (2%, Vifor, S.A. Genf) umspritzt und anschliessend die Biopsien mit dem Drillstanzbesteck nach Dr. Schreiber® (6 mm) entnommen. Die zylinderförmigen Hautstücke wurden mit einer Augenpinzette und einem kleinen Skalpell von der Subcutis getrennt, umgehend in 4% Formalin-Phosphatpuffer pH 7,4 gegeben und während 48 h fixiert. Danach wurden die Gewebestücke halbiert und beide Hälften in Paraffin oder Methacrylat eingebettet. Die 5 µm dicken Hautschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin, Orcein-Giemsa und PAS-Alcianblau gefärbt.

### Resultate

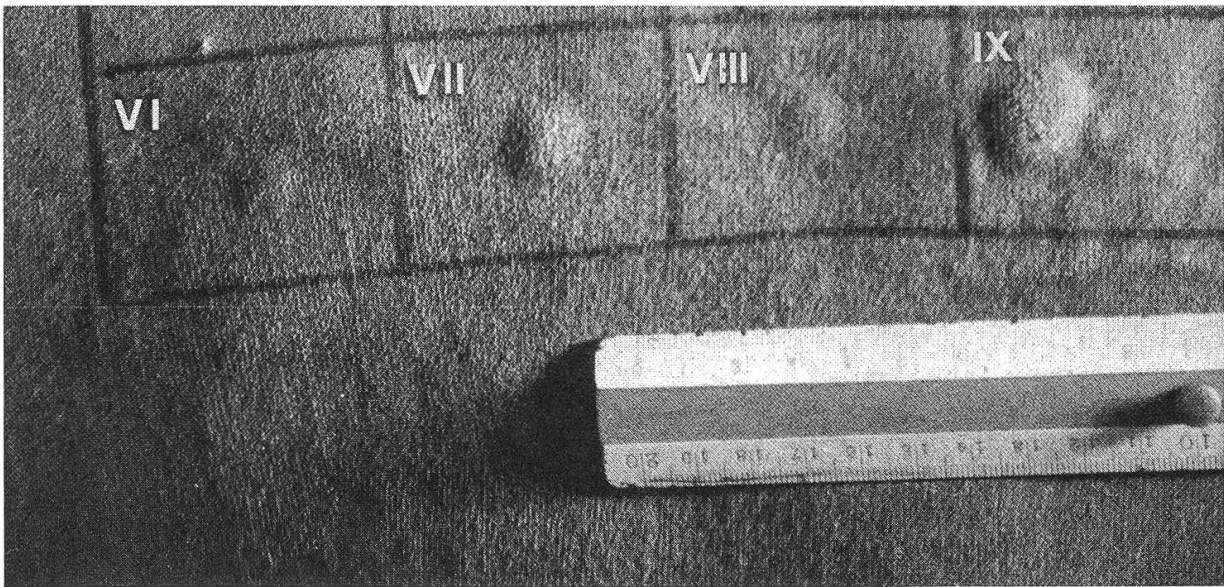
#### a) Prüfung der Immunisation der Pferde.

Eine Woche nach der letzten Immunisierung wurde die Immunreaktion der Pferde mit 10, 50, 100 µg o-DNCP<sub>50</sub>-BSA geprüft. Die Hautreaktionen fielen bei allen Tieren positiv aus (+). Die positiven Hautreaktionen verschwanden aber nach 30 Minuten nicht, sondern die entzündliche Reaktion verstärkte sich (vermehrte lokale Wärme, Lymphgefässe angeschwollen).

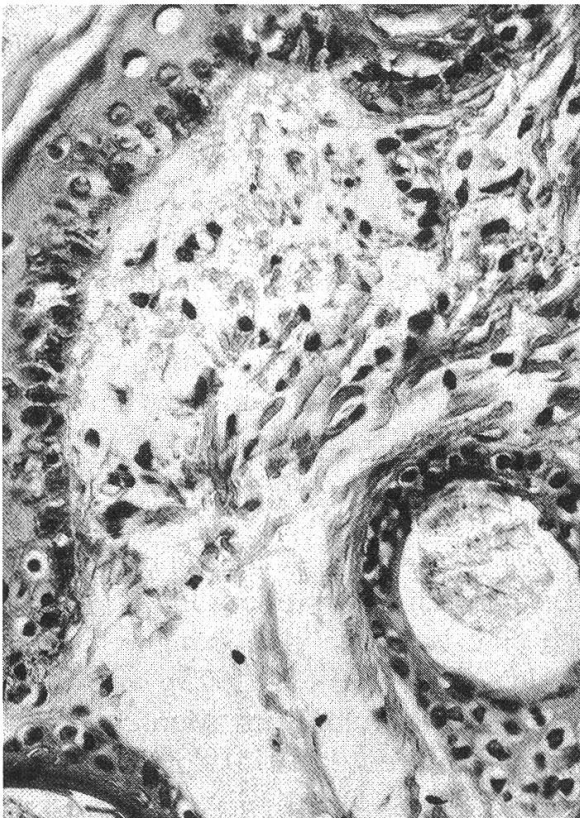
Identische Reaktionen konnten wir im PK-Test sehen (Abb. 2 und 4). Auch gereinigte Fraktionen, die IgE enthielten, provozierten im selben Test verzögerte Reaktionen, wie in Abb. 4 dargestellt. Alleinige Antigengabe führte ebenfalls zu leichtgradigen Reaktionen, die von der jeweiligen Antigenkonzentration abhingen und nach ungefähr sieben h abgeklungen waren.

#### b) Histologische Befunde.

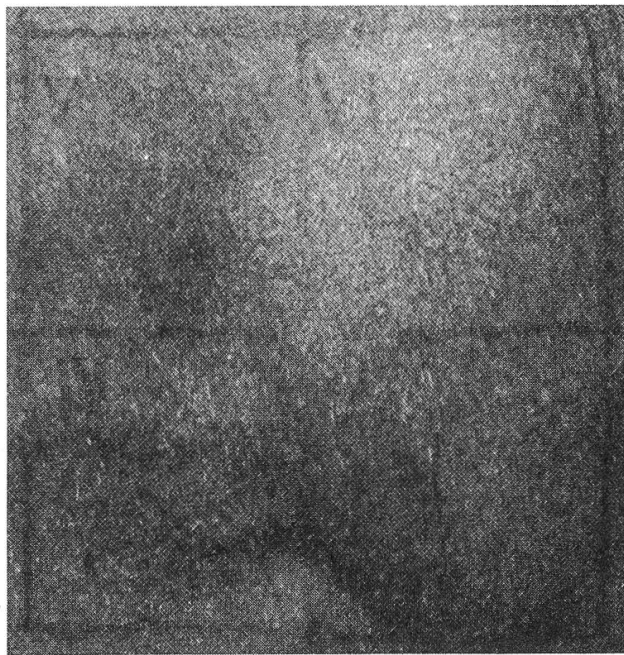
Normale Haut (Sattellage) liess sich von passiv sensibilisierter Haut ohne Antigengabe nicht unterscheiden. Es waren nur vereinzelt eosinophile Granulocyten zu finden (Abb. 3). Zehn Minuten nach Antigengabe hingegen waren in den Gefässen



2



3



4

Fig. 2 PK-Reaktion 30 Min. nach Antigengabe. Im Feld VI wurden  $50 \mu\text{g}$  und im Feld VII  $100 \mu\text{g}$  o-DNCP<sub>50</sub>-BSA eingespritzt. Die Felder VIII (physiologische NaCl-Lösung) und IX (Histamin) wurden als Kontrollen benutzt.

Fig. 3 Normale Haut mit geringgradiger, subepidermal gelegener mononukleärer Infiltration. HE Vergr.  $330 \times$

Fig. 4 PK-Reaktion 24 h nach  $100 \mu\text{g}$  Antigengabe. Die eingezeichneten Quadrate haben wie bei Abb. 2 eine Seitenlänge von 5 cm.

der tiefen Dermis vermehrt Eosinophile im Lumen und an den Gefässwänden zu beobachten. Einige lagen bereits in der Gefässwand (Abb. 5). Zur selben Zeit konnten wir auch Mastzellen finden, die gehäuft in der Nähe von Kapillaren waren (Abb. 6). Die Zahl der eosinophilen Granulozyten, deren Granula grösstenteils entleert waren, erreichte das Maximum nach 1 h. Die genannten Zellen waren vorwiegend perivaskulär zu finden (Abb. 7). Danach wurde das histologische Bild durch eine grosse Zahl von neutrophilen Granulozyten geprägt, die entweder am Gefässendothel hafteten, oder in der verdickten und hyalinisierten Gefässwand lagen (ungefähr 7 h, Abb. 8). Nach 24 h gesellten sich nebst einer massiven Ödematisierung mononukleäre Zellen zu den übrigen Abwehrzellen.

Alleinige Antigengabe ohne passive Sensibilisierung führte zu einer leichtgradigen, perivaskulären Ansammlung von Eosinophilen nach etwa 1 h gefolgt von einigen polymorphkernigen Leukocyten.

### Diskussion

Natürliche Allergene (Heustaub, Arthropodenstiche) sind Gemische von verschiedenen Allergenen, die im Hauttest zum Teil ganz verschiedene Reaktionen auslösen können (*Kristensen et al., 1978*). Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, immunisierten wir Pferde nur mit einem hochreinen Allergen (o-DNCP). Aber auch damit gelang es uns nicht, im direkten Hauttest oder der PK-Reaktion eine ähnlich starke Typ I-Reaktion auszulösen wie sie beim Menschen bekannt ist (*Coombs et al., 1975*). Bei allen positiven Sofortreaktionen verstärkte sich die makroskopisch sichtbare Entzündung stufenlos während etwa 24 h und die Hautschwellung war je nach der Stärke der Typ I-Reaktion nach 48–72 h verschwunden. Ähnliche Beobachtungen zeichneten *Schatzmann et al.* schon 1973 auf. Diese Spätreaktionen im direkten Hauttest sind auch bei andern Spezies bekannt (*Kristensen et al., 1978, Li Hsü et al., 1979*) und werden mikroskopisch als Arthus Reaktionen (Typ III, Auftreten 4 h nach Antigengabe) resp. verzögerte zelluläre Überempfindlichkeitsreaktion (Typ IV, Auftreten 24–48 h nach Antigengabe) angesehen (*Halliwell et al., 1979*). Vergleichbare histologische Bilder beschrieben *Pauli et al., 1972*) bei Pferden mit «farmer's lung».

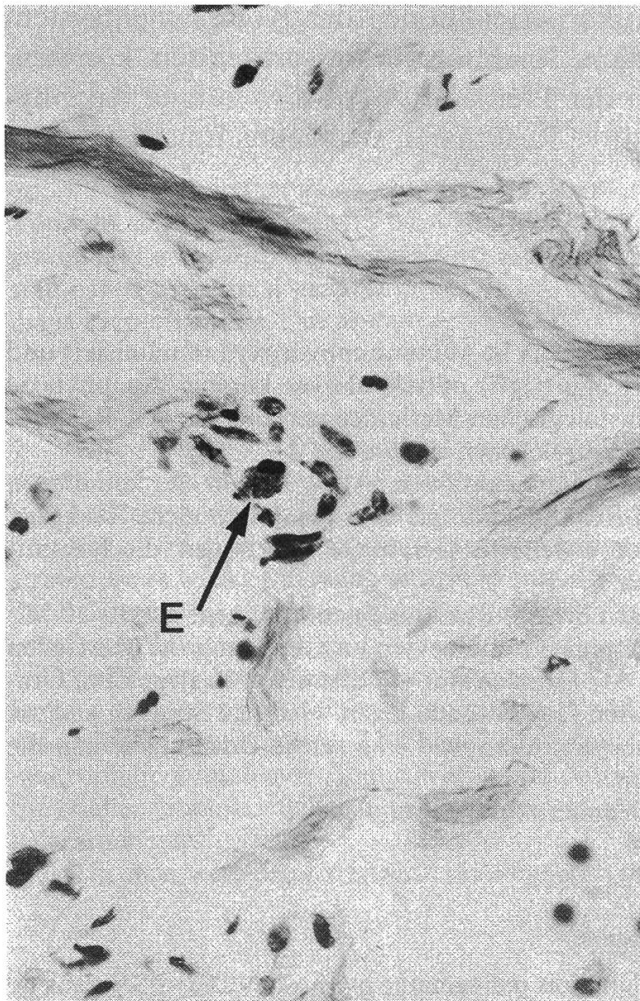
Offenbar kann aber beim Menschen auch eine isolierte IgE-abhängige Typ I-Allergie eine Arthus-ähnliche Reaktion verursachen (*Dolovich et al., 1973*), wie wir sie bei unsern PK-Testen ebenfalls feststellen konnten. Sowohl beim Menschen (*De Shazo et al., 1979*), wie auch beim Kaninchen (*Pinckard et al., 1975*) konnte gezeigt

Fig. 5 Eosinophiler (E) Granulocyt in einer Kapillare der Dermis 10 Min. nach Antigengabe. HE Vergr. 330 ×

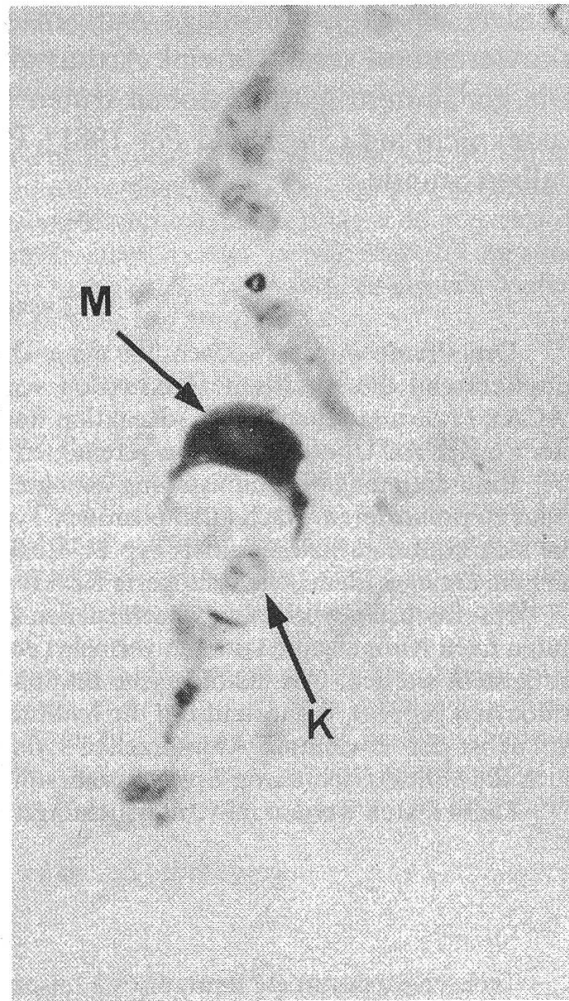
Fig. 6 Mastzelle (M) direkt an Kapillarwand anliegend (10 Min. nach Antigengabe). Toluidinblau Vergr. 2600 ×

Fig. 7 Intakte (E) und degranulierte (G) eosinophile Granulocyten in Dermis 1 h nach Antigengabe. HE Vergr. 330 ×

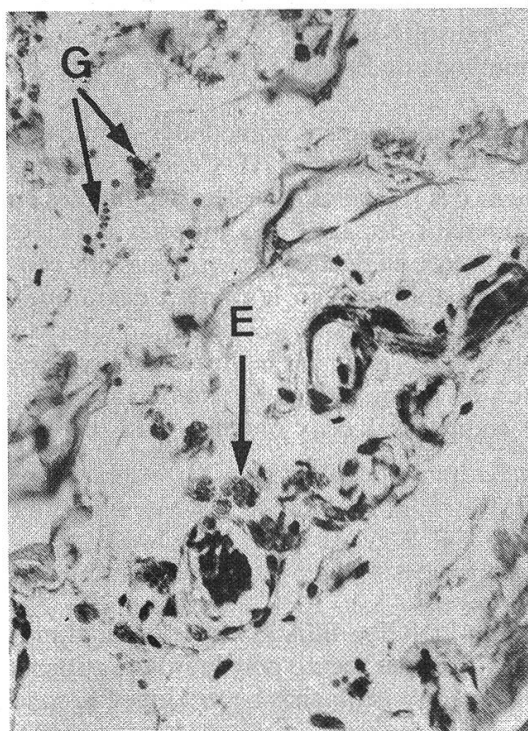
Fig. 8 Neutrophile Granulocyten (N) in Gefässblumen und in Gefässwand, sowie noch einzelne Eosinophile (E) 7 h nach Antigengabe.



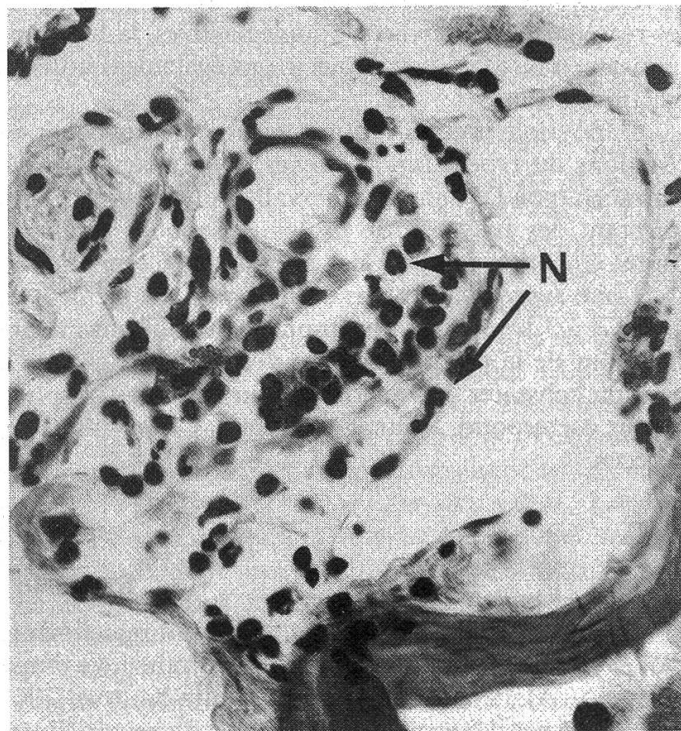
5



6



7



8

werden, dass IgE-abhängige Antigen-Antikörperreaktionen das Komplementsystem aktivieren und somit für eine Arthus-ähnliche Reaktion verantwortlich sein könnten. Die genannten Spätreaktionen traten bei der Pferde-PCA (passive cutane Anaphylaxie) nicht auf (Suter und Fey 1981). Positive Reaktionen erschienen innerhalb einer halben Stunde.

### Zusammenfassung

Drei Pferde wurden wöchentlich mit o-DNCP<sub>50</sub>-BSA in Aluminiumhydroxyd immunisiert und anschliessend die spezifische Produktion von Reagin (IgE) mittels aktiver kutaner Anaphylaxie (ACA), Prausnitz-Küstner (PK)-Reaktion und histologischen Methoden geprüft. Die PK-Reaktionen wurden zur Überprüfung von gereinigten Serumfraktionen eingesetzt.

Eine dreimalige Immunisierung genügte, um Sofortreaktionen (ACA, PK) in der homologen Haut zu provozieren. Nach allen positiven Typ-I Reaktionen folgte eine Typ III-ähnliche Reaktion, die sich kontinuierlich zu einer Typ IV-Reaktion erweiterte. Gereinigte Fraktionen, die IgE enthielten, ergaben identische verzögerte Reaktionen.

Hautbiopsien wurden zu verschiedenen Zeiten bei PK-Reaktionen entnommen. Bereits 10 Minuten nach Antigengabe konnten vermehrt eosinophile Granulocyten und degranulierte Mastzellen festgestellt werden. Das histologische Bild nach 4–7 Stunden war vor allem von neutrophilen Granulocyten geprägt, die in und um die hyalinisierten Gefässwände lagen. Nach 24 Stunden stellten wir nebst den erwähnten Abwehrzellen Lymphocyten fest sowie eine starke Ödematisierung, die auch die klinisch sichtbaren Ergebnisse bestätigten.

Diese Daten werden mit Untersuchungen an andern Species verglichen.

### Résumé

Trois chevaux ont été immunisés à raison d'une fois par semaine avec o-DNCP<sub>50</sub>-BSA dans de l'hydroxyde d'aluminium. Puis nous avons contrôlé la production de réagines (IgE) en observant les réactions d'anaphylaxie cutanée actives, la réaction de Prausnitz-Küstner (PK) et en effectuant un examen histologique. Nous avons également utilisé la méthode de PK pour vérifier la pureté des fractions sériques.

Une triple immunisation a suffi pour provoquer des réactions cutanées immédiates. Toutes les réactions du type I furent suivies d'une réaction semblable à celle du type III. Celle-ci se transforma en type IV dans un intervalle de 24 heures. On obtient des réactions retardées semblables en injectant des fractions de protéines sériques purifiées contenant des IgE. Des biopsies cutanées furent effectuées à intervalles différents. Dix minutes après l'injection de l'antigène nous avons constaté une augmentation des eosinophiles, de même que des mastocytes pour la plupart dégranulés. Après 4 à 7 heures, les neutrophiles dominaient l'image histologique; ils se trouvaient à l'intérieur et autour de la paroi hyalinisée des vaisseaux. Après 24 heures, en plus des cellules mentionnées, on a pu constater une augmentation nette des lymphocytes, de même qu'une forte œdématisation, ce qui correspond à l'image clinique. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus chez d'autres espèces.

### Riassunto

Tre cavalli sono stati immunizzati settimanalmente con o-DNCP<sub>50</sub>-BSA in idrossido di alluminio; subito dopo è stata controllata la produzione di reagine (IgE) per mezzo dell'anafilassi cutanea attiva (ACA), della reazione di Prausnitz-Küstner (PK) e di metodi istologici. Le reazioni PK sono state usate per il controllo di frazioni sieriche purificate.

Una serie di tre interventi di immunizzazione è stata sufficiente a provocare una reazione immediata nella cute omologa. A tutte le reazioni positive di tipo I è seguita una reazione simile al tipo III che si è progressivamente ampliata in una reazione di tipo IV. Frazioni purificate che contenevano IgE hanno dato reazione ritardate identiche.

Biopsie cutanee sono state prelevate in tempi diversi in corso di reazione PK. Già 10 minuti dopo la somministrazione di antigene si è osservato aumento di granulociti eosinofili e degranolazione dei mastociti. Il quadro istologico dopo 4–7 ore era soprattutto caratterizzato da presenza di granulociti neutrofili, localizzati nella parete di vasi ialinizzati ed intorno ad essi. Dopo 24 ore sono stati osservati, oltre ai succitati tipi cellulari, linfociti; si è rilevato anche un forte edema che confermava i reperti clinici. Questi dati sono confrontati con ricerche in altre specie.

### Summary

Three horses were immunized weekly with o-DNCP<sub>50</sub>-BSA in Al (OH)<sub>3</sub>. The production of reagin (IgE) directed against the allergen was shown by active cutaneous anaphylaxis (ACA, Prausnitz-Küstner-reaction (PK) and histological methods. The PK-reaction was also used to detect IgE in purified fractions. Homocytotropic antibodies capable of sensitizing equine skin were demonstrated three weeks following antigenic stimulation. In all cases with a positive type I-reaction, the dermal reactions continued to enlarge until 24 hours. The same was true using purified fractions containing IgE.

In PK reactions skin biopsies were taken at different times. Ten minutes after the antigen challenge a considerable number of eosinophils could be seen and most mast cells surrounding blood vessels were degranulated. The histological findings after 4–7 hours consisted predominantly of neutrophilic granulocytes found within and outside the hyalinized vessels. Twenty four hours after the challenge, mononuclear cells could be seen together with edema and the mentioned neutrophilic granulocytes.

The data were compared with investigations carried out on other species.

### Literatur

*Butterworth A. E.*: The eosinophil and its role in immunity to helminth infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 77, 127, 127–168 (1977). – *Capron M., Bazin H., Joseph M. and Capron A.*: Evidence for IgE-dependent cytotoxicity by rat eosinophils. *J. Immunol.* 126, 5, 1764–1768 (1981). – *Coombs R. A. and Gell P. G. H.*: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and diseases. In: *Gell P. G. H., Coombs R. R. A., and Lachmann P. J.*: Clinical Aspects of Immunology, (Oxford, Blackwell Sci. Publ.) p. 761–790 (1975). – *Dolovich J., Hargreave F. E., Chalmers R., Shier K. J., Gauldie J., and Bienenstock J.*: Late cutaneous allergic responses in isolated IgE-dependent reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 52, 1, 38–46 (1973). – *Halliwell R. E. W., Fleischmann J. B., Mackay M., Beech J., and Gunson D. E.*: The role of allergy in chronic pulmonary diseases of horses. *JAVMA*, 174, 3, 277–281 (1979). – *Kristensen S., and Kieffer M.*: A study of skin diseases in dogs and cats. *Nord. Vet.-Med.* 30, 414–423 (1978). – *Li Hsü S. Y., Hsü H. F., Penick G. D., Hanson H. O., Schiller H. J., and Cheng H. F.*: Immunoglobulin E, mast cells, and eosinophils in the skin of rhesus monkeys immunized with X-irradiated cercariae of *Schistosoma japonicum*. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 59, 383–393 (1979). – *Pauli B., Gerber H., und Schatzmann U.*: «Farmer's lung» beim Pferd. *Path. Microbiol.* 38, 200–214 (1972). – *Pinckard R. N., Tanigawa C., and Halonen M.*: IgE induced blood coagulation alterations in the rabbit: Consumption of coagulation factors XII, XI and IX in vivo. *J. Immunol.* 115, 525–530 (1975). – *De Shazo R. D., Levinson A. I., Dvorak H. F., and Davis R. W.*: The late phase skin reaction: Evidence for activation of the coagulation system in an IgE-dependent reaction in man. *J. Immunol.* 122, 2, 692–698 (1979). – *Schatzmann U., de Weck A. L., Gerber H., Lazary S., Straub R., and Pauli B.*: Active and passive cutaneous anaphylaxis in the horse following immunization with Benzylpenicilloyl-bovine gamma globulin (BPO<sub>20</sub>-BGG). *Res. Vet. Sci.* 15, 347–352 (1973). – *Schneider C. H., Lazary S., Wirz W., and de Weck A. L.*: Solubility enhancing haptens: Preparation and some properties of conjugates with Dinitrocarboxyphenyl (DNCP) groups. *Immunochemistry*, 11, 447–452 (1974). – *Suter M.*,



and Fey H.: Isolation and characterisation of horse IgE (Zur Publikation angenommen Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B) (1981). – Tizard I. R.: An Introduction to Veterinary Immunology, (Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto), p.261 und 270 (1977). Deutsch: Tizard I. R.: Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie, (Pareys Studentexte, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg) (1981).

### Verdankungen

Wir möchten Herrn Prof. Fey, Vet. Bakt. Institut Bern, für seine tatkräftige Unterstützung herzlich danken. Ein Teil der histologischen Schnitte wurden mit grosser Sorgfalt von Frau Kopf, Institut für Tieranatomie Bern hergestellt.

Arbeit unterstützt vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung Projekt Nr. 3.349.0.78.

Manuskripteingang: 4. 7. 1981

## BUCHBESPRECHUNG

**Pferdepraxis**, von Peter Rossdale; Vorwort von Hans Merkt; 237 Seiten, 312 Abbildungen, 15 Tabellen; Enke Verlag Stuttgart, 1981. DM 48.—.

Peter Rossdale ist einer der bedeutendsten Pferdepraktiker von England. Er wohnt und praktiziert zusammen mit seinen vier Partnern in Newmarket. Seit Jahren beschäftigt er sich mit der klinischen Forschung auf dem Gebiet der Physiologie und Pathophysiologie des Fohlens und der Fortpflanzung beim Pferd. In unserem Sprachraum wurde er als Autor des Buches «Das Pferd», welches von Heinz Gerber aus dem Englischen übersetzt und bearbeitet wurde, bekannt. Mit seinem neuen Buch «Pferdepraxis» richtet er sich hauptsächlich an die englischen Studenten der Veterinärmedizin.

Das Buch Pferdepraxis ist in 6 Kapitel eingeteilt: Diagnose/Medizinische Technik/Chirurgische Technik/Prognose/Therapie und Pathologie.

In der Einleitung geht der Autor hauptsächlich auf die Probleme der Studenten im allgemeinen, auf die Beziehung zwischen Praktikern und Klient, auf die Stellung des Praktikers innerhalb des Berufsstandes, auf die Beziehung des Praktikers zur Hochschule, usw. ein. Trotzdem die Probleme im Vergleich zur Schweiz in England anders gelagert sind und vor allem die Ausbildungsmöglichkeiten der Studenten und Praktiker auf dem Gebiet der Spezialgebiete der Pferdemedizin in England viel grösser sind, regt die Einleitung sowohl den Studenten wie auch den interessierten Praktiker zum Denken an.

Im ersten Kapitel «Diagnostik» werden Krankheiten mit Hilfe von Zeichnungen, Photos und Tabellen veranschaulicht bzw. erläutert. Die Tabellen sind vollständig und übersichtlich. Einzelne Kapitel wie z.B. Lahmheitsdiagnostik werden sehr summarisch abgehandelt, andere wiederum werden sehr gut und ausführlich beschrieben. Das zweite und dritte Kapitel ist den medizinischen bzw. chirurgischen Techniken gewidmet. Mit vielen Photos und einer speziellen Tabelle über die Bauchhöhlenchirurgie wird versucht, dem Studenten einen Einblick in alle Techniken zu geben. Gewisse Teilgebiete sind nach unserem Gutdünken für den Studenten zu speziell und werden zu oberflächlich abgehandelt, als dass sie für den Studenten von Nutzen sein könnten. Die letzten Kapitel sind der Prognose, Therapie und Pathologie gewidmet. Auf spezielle Therapieformen oder auf eine systematische Pathologie wird nicht eingegangen. Der Autor begnügt sich lediglich, den Leser zum kritischen Denken anzuregen, was ihm mit seinem stimulierenden Schreibstil gelingen dürfte.

Obwohl Rossdale sein Buch den Studenten widmete, bringt sein Skript viel Interessantes und Lesenswertes auch für den bereits im Beruf erfahrenen Tierarzt.

R. Straub, Bern