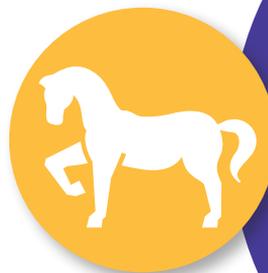


ANTECH



A

ATEMWEGSSERVICE PFERD

Unsere Expertise für Ihre Diagnose





Atemwegsservice Pferd

Unser Atemwegsservice Pferd bietet folgende neue Leistung für Sie:

- Sie erhalten einen durch unsere Pferdeexpertinnen kommentierten Endbefund unter Berücksichtigung aller Untersuchungsergebnisse und des von Ihnen angegebenen Vorberichtes.
- Alle für die Atemwege relevanten Untersuchungsanforderungen finden Sie gebündelt auf einem Anforderungsschein.
- Sie können direkt auf dem Schein wichtige Angaben zum Vorbericht, Krankheitsverlauf und bisheriger Therapie vermerken. Je ausführlicher Sie hierbei Auskunft über den Vorbericht Ihres Patienten geben, desto präziser kann unsere Bewertung ausfallen.

- Die zytologische Untersuchung erfolgt wie bisher durch unsere Expertinnen für Zytologie, weitere angeforderte Untersuchungen (z. B. bakteriologische Untersuchung, PCR) werden in den entsprechenden Abteilungen durchgeführt.

Die Abarbeitung der verschiedenen Untersuchungen im selben Labor bietet die bestmögliche Diagnostik für Ihren Patienten, da die Ergebnisse der zytologischen Untersuchung bei der Auswertung der weiteren Proben entsprechend berücksichtigt werden können.

Unser Team für Zytologie



Anne-Kathrin Baxter
DipACVP (Clin Path), MVetMed



Dr. med. vet. Erika Furman
EBVS® European Specialist in Veterinary Clinical Pathology DipECVCP,
Freie Mitarbeiterin bei Antech



Dr. med. vet. Julia Schüttler
Fachtierärztin für klinische Labordiagnostik

... und für Pferde



Dr. med. vet. Beatrice Briese
Fachtierärztin für Pferde,
Fachtierärztin für Innere Medizin der Pferde
FEI Permitted Treating Veterinarian



Dr. med. vet. Judith Winter
DipECEIM, Fachtierärztin für
Innere Medizin der Pferde, PhD



Dr. med. vet. Marion van Marwick

TBS oder BAL

Atemwegserkrankungen und insbesondere das Equine Asthma zählen zu den häufigsten gesundheitlichen Problemen bei Pferden. Sie führen in milden Fällen zu einer Leistungsminderung und können in schweren Fällen lebensbedrohlich sein. Mit Hilfe einer gezielten Atemwegsdiagnostik kann einerseits bei klinisch uneindeutigen Fällen zwischen verschiedenen Erkrankungen differenziert werden (sind beispielsweise in der mikrobiologischen Untersuchung gefundene bakterielle Erreger klinisch relevant, zum anderen kann der Schweregrad der Erkrankung eingeschätzt werden. So können Sie ein bestmögliches Behandlungsregime wählen und eine Prognose für den weiteren Verlauf stellen. Zusätzlich gibt es neben Equinem Asthma weitere Atemwegserkrankungen, die nur durch gezielte Diagnostik aufgedeckt werden können.

Grundsätzlich gilt: Tracheobronchialsekret (TBS) oder eine TBS-Spülprobe können einfach und schnell entnommen werden. Sie eignen sich als Screening-Untersuchung und für die Diagnostik von bakteriellen Infekten. Außerdem können sie bei Pferden mit einer schweren Atemwegserkrankung (z. B. schweres Equines Asthma in akuter Exazerbation), bei denen keine BAL durchgeführt werden kann, gewonnen werden.

Eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) bildet das Zellbild der tiefen Atemwege ab. Sie eignet sich damit zur Diagnosestellung und Feststellung des Schweregrads bei Equinem Asthma, der chronisch interstitiellen Pneumopathie, EMPF (Equine multinoduläre pulmonäre Fibrose), belastungsinduziertem Lungenbluten und der idiopathischen eosinophilen Pneumonie. Da der BAL-Katheter ungeschützt durch die oberen Atemwege vorgeschoben wird, ist die BAL meist mit der physiologischen oropharyngealen Flora kontaminiert und bildet nicht den Bakteriengehalt der tiefen Atemwege ab. Sie eignet sich daher nicht für eine mikrobiologische Untersuchung. Sie sollte bei Verdacht auf einen Atemwegsinfekt auch deshalb nicht entnommen werden, um Keime nicht in den tiefen Atemwegen zu verteilen. Bei Patienten mit ausgeprägter Ruhedyspnoe ist sie außerdem zu belastend und sollte ebenfalls durch andere Diagnostik ersetzt werden.

Durchführung einer TBS-Entnahme

Zur TBS-Probenentnahme während einer Bronchoskopie für eine bakteriologische Untersuchung sollte die Spitze des TBS-Katheters mit einem sterilen Gel verschlossen werden. Hierzu wird die Katheterspitze aus dem Arbeitskanal vorgeschoben, in ein steriles Gel eingetaucht und am anderen Katheterende mit Hilfe einer Spritze leicht angesaugt. Bevor während der Untersuchung in der Trachea Sekret aspiriert wird, wird der TBS-Katheter mit etwas Luft „freigeblasen“. Die geringe Menge sterilen Gels hat keine gesundheitsschädigenden Auswirkung für den Patienten.

Ist nur wenig Sekret in der Trachea sichtbar kann eine TBS-Spülprobe (mit etwa 20ml Kochsalzlösung) durch das Endoskop oder auch nach lokaler Anästhesie durch die Haut gewonnen werden. Vermeiden Sie starkes Kratzen über die Schleimhaut, da es so zur Abschilferung von Epithelzellen kommen kann, die das tatsächliche Vorkommen der Epithelzellen im TBS fälschlich erhöhen. Je nach Sekretmenge in den Atemwegen kann es nötig sein, die Probe vor dem Ausstreichen zu zentrifugieren.

Der Ausstrich der TBS Probe sollte möglichst zügig, spätestens innerhalb von 30 Minuten nach Entnahme erfolgen. Es sollte ein kleiner Tropfen Sekret dünn ausgestrichen werden, damit sich die Zellen nicht überlagern. Bitte achten Sie darauf, dass sehr zähes Sekret eventuell verdünnt werden muss, um einen gut auswertbaren Ausstrich zu erzielen. Hierzu kann die Probe vor dem Ausstreichen mit einer kleinen Menge Kochsalzlösung verdünnt werden.



BAL-Entnahme

Benötigtes Material:

- Levomethadon (0,05–0,1 mg/kg; = 2–4 ml L-Polamivet/100 kg KGW)
- 300 – 500 ml NaCl oder PBS* (körperwarm) (*PBS= phosphatgepufferte Kochsalzlösung für bessere Zellstabilität bei Versandproben)
- 30 ml Lidocain
- 100 ml Spritzen (zur schnelleren Eingabe der Flüssigkeit)
- Gefäß zum Abfüllen der gewonnenen Flüssigkeit
- Silikonkatheter mit Ballon und ggf. Luerlock

Es ist hilfreich das Pferd vor der Bronchoskopie zusätzlich zu einem Alpha 2-Agonisten mit Levomethadon (0,05–0,1 mg/kg; = 2–4 ml L-Polamivet/100 kg KGW) zu sedieren um den Hustenreiz zu mindern. Während der Bronchoskopie können außerdem etwa 15ml Lidocain durch den Arbeitskanal des Endoskops an die Bifurkation der Trachea (da dort viele Hustenrezeptoren sitzen) sowie bei Bedarf im Kehlkopfbereich appliziert werden. Die BAL kann im Anschluss an die Endoskopie entweder durch den Arbeitskanal des Endoskops oder über einen BAL-Katheter mit Ballon durchgeführt werden. Da die Methode mittels Ballonkatheter einfacher in der Handhabung und üblicher ist wird sie hier beschrieben.

Durchführung einer BAL-Entnahme

Der Ballonkatheter wird auf Dichtigkeit getestet und bei gestreckter Kopf-Hals-Haltung durch die Nüstern bis zum Kehlkopf geschoben. Die Streckung begünstigt das Platzen des Katheters in der Trachea, es ist bei weiterem Vorschieben kein Widerstand fühlbar. Das Einführen des Katheters kann auch unter endoskopischer Sichtkontrolle erfolgen, hierbei wird das Endoskop bis vor den Kehlkopf zurückgezogen und der BAL-Katheter durch die andere Nüster eingeführt. Der Katheter wird nun weiter durch die Trachea vorgeschoben bis ein Widerstand gespürt wird, der Katheter ist in den Bronchien angelangt. Hier beginnt das Pferd häufig zu husten, weshalb weitere 15 ml Lidocain (und Luft im Anschluss) durch den BAL-Katheter in die Lunge eingegeben werden können. Nach kurzem Warten wird der Ballon entsprechend der Herstellerangaben mit Luft aufgeblasen, was den Katheter im Bronchus verankert. Überprüfen Sie den sicheren Sitz durch einen leichten Zug am Katheter. Falls das Pferd gehustet hat,

muss der Sitz des Katheters unbedingt erneut überprüft werden, da er verrutscht sein könnte. Sitzt der Katheter sicher und der Patient hustet nicht, können Sie die körperwarme Flüssigkeit in ein oder zwei Fraktionen eingeben. Wichtig ist, dass die Flüssigkeitssäule nicht abreißt und keine Luft in den Katheter gelangt. Hierbei kann Ihnen ein Luerlock-Aufsatz auf dem Katheterende helfen. Bei einem Patienten mit deutlichem Hustenreiz ist die Eingabe in zwei Fraktionen vorteilhaft, da die Gefahr besteht, dass Sie nach einem eventuellen Verrutschen des Katheters die eingegebene Flüssigkeit nicht wieder absaugen können. Im Anschluss an die Eingabe saugen Sie die Flüssigkeit direkt wieder ab. Eine schaumige Konsistenz der zurückgewonnenen Flüssigkeit spricht für eine gute diagnostische Aussagekraft, da sie Surfactant enthält. Der Ballon des Katheters wird anschließend entblockt und der Katheter vorsichtig entfernt. Das Pferd sollte in den nächsten 24 Stunden zweimalig Fieber gemessen bekommen (da sich in sehr seltenen Fällen ein Resorptionsfieber entwickeln kann) und 48 Stunden nicht sportlich belastet werden.

Weitere Bearbeitung der BAL-Probe

Wenn möglich sollte die BAL-Flüssigkeit zeitnah vor Ort zentrifugiert und das Pellet ausgestrichen werden. Da es sich in der Regel um große Flüssigkeitsmengen handelt, können Sie die Probe zunächst für 2 Stunden im Kühlschrank sedimentieren lassen, den Überstand verwerfen und nur die verbleibende Flüssigkeit in 10ml Portionen für 5 Minuten bei 300g zentrifugieren. Verwerfen Sie auch hier wieder den Überstand und fertigen Sie aus dem Zellpellet Ausstriche an wie unten beschrieben. Senden Sie uns die Ausstriche und die restliche Flüssigkeit (gekühlt) zu, so haben wir die Möglichkeit im Zweifelsfall noch nachträglich eigenen Ausstriche anzufertigen. Wenn Sie keine Möglichkeit zur Zentrifugation haben, kann die gesamte Flüssigkeitsmenge gekühlt zu uns versendet werden (unbeschichtete oder EDTA-Röhrchen). Hierbei ist zu beachten, dass der Zellgehalt durch Lagerung und Transport deutlich sinken kann.

Anfertigen von Ausstrichen zur zytologischen Untersuchung (TBS und BAL)

Ein Tropfen des Materials (native Flüssigkeit bei TBS, Sediment bei BAL) wird auf einen Objektträger aufgebracht. Ein zweiter, sauberer Objektträger wird flach auf den ersten gelegt und beide Objektträger werden mit einer raschen, fließenden Bewegung ohne Druck seitlich auseinander gezogen (siehe Abb. 1). Sollte doch zu viel Material auf den Objektträger gelangt sein, kann ein zweiter Objektträger vorsichtig flach aufgetupft und damit Material auf einen dritten Objektträger übertragen und ausgestrichen werden. Dies kann so oft wiederholt werden, bis auf dem ersten Objektträger ausreichend wenig Material übrig bleibt und ausgestrichen werden kann (Abb 2.). Bitte verwenden Sie keine Deckgläschen!

Gerade bei TBS-Proben ist es wichtig darauf zu achten, dass die Ausstriche nicht zu dick werden, da dies zu einer schlechten zytologischen Beurteilbarkeit führt (Abb. 4). Bei sehr zähflüssigem Sekret (betrifft meist nur native TBS-Proben) kann es daher nötig sein, die Proben vor dem Aufbringen auf den Objektträger mit ein paar Tropfen NaCl zu verdünnen.

Alle Objektträger sollten sofort nach der Herstellung an der Luft getrocknet werden. Vermeiden Sie das Einpacken von noch nassen Ausstrichen, da dies häufig zur Zerstörung der Zellen (Zelllyse) führt. Dünn ausgestri-

chenes Material trocknet rasch an Raumluft. Notfalls kann man mit einem Ventilator oder Fön (nur kalte Luft) nachhelfen, wir empfehlen dies jedoch nicht standardmäßig.

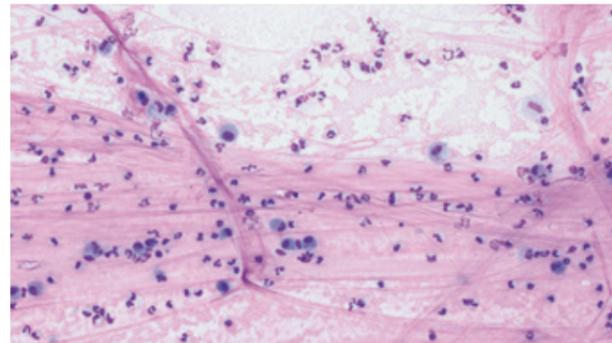


Abb. 3: Gut auswertbarer Ausstrich

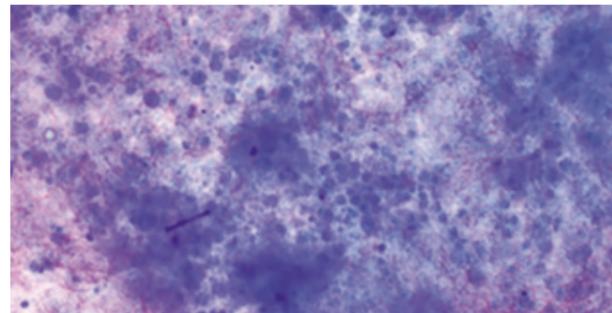


Abb. 4: Schlecht auswertbarer Ausstrich mit mehreren, sich überlagernden Zellschichten

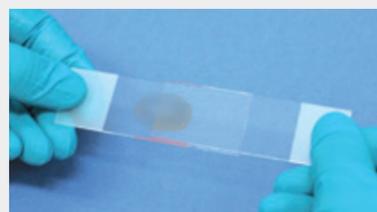


Abb. 1a[®] 1c: Anfertigung von Ausstrichen für die zytologische Untersuchung

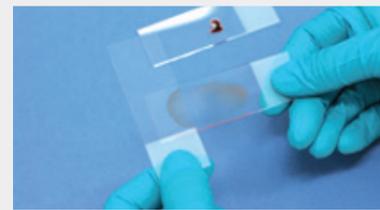
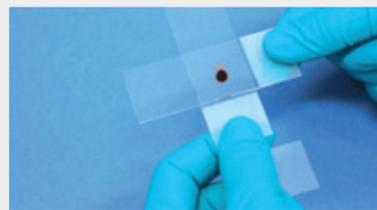


Abb. 2a[®] 2c: Ausstrichtechnik für den Fall, dass zu viel Material aufgetragen wurde

Wir empfehlen die Verwendung von Objektträgern mit Mattrand, die mit Bleistift beschriftet werden können. Andere Beschriftungsarten, z. B. mit Kugelschreiber, Filzstiften, auch wasserfesten Stiften, führen bei der Färbung der Objektträger häufig zur Ablösung der Beschriftung. Um Verwechslungen zu vermeiden, sollten alle Objektträger eindeutig dem Patienten zugeordnet werden können. Daher ist eine Beschriftung der Objektträger mit mindestens Halternamen (+ 4 stellige Praxis-Alias) oder Probennummer (8-stellige Nummer, beginnend mit 24) wichtig. Besonders wenn mehrere Proben (TBS und BAL) vom selben Patienten eingesandt werden, ist es sehr wichtig, auch dies auf dem Objektträger zu vermerken.

Verpackung für den Transport

Objektträgerhüllen mit gepolsterter Umverpackung schützen die Glasobjektträger während des Transportes. Die OT-Hüllen können mit dem Barcode-Aufkleber versehen werden, bitte beschriften Sie dennoch zusätzlich die Objektträger. Falls Sie uns zusätzlich Flüssigkeiten einsenden, können Sie hierfür unbeschichtete oder EDTA-Röhrchen verwenden. Die Verwendung von EDTA-Röhrchen führt zu einer minimal besseren Zellstabilität, allerdings ist hieraus keine bakteriologische Untersuchung möglich. Bitte vermerken Sie auch auf diesen Röhrchen, ob es sich um TBS- oder BAL-Proben handelt und bekleben Sie mit dem entsprechenden Barcode.



Abb. 5: Optimale Beschriftung des Objektträgers mit Bleistift



Abb. 6: Mögliche Röhrchen für den Versand von TBS/BAL-Flüssigkeit

Zytologische Bewertung

Bei der Beurteilung des mikroskopischen Bildes werden die Zellzusammensetzung und -morphologie, aber auch das Vorkommen intra- und extrazellulär gelegener Bakterien, Curschmannspiralen, Pflanzenpartikeln, Pilzsporen oder -hyphen mit einbezogen. Im zytologischen Befund werden, wo aufgrund der Präparatequalität möglich, die prozentualen Zellanteile angegeben.

Je nach Autor und verwendeter Flüssigkeitsmenge bei der BAL werden in der Literatur verschiedene Referenzwerte für physiologische Zellgehalte in TBS und BAL angegeben. Wir verwenden bei SYNLAB Vet aktuell die folgenden Referenzwerte:

Zellarten	TBS	BAL
Neutrophile Granulozyten	10–30%	0–5%*
Makrophagen	30–55%	45–70%
Lymphozyten	25–30%	30–50%
Eosinophile Granulozyten	< 1%	< 1%
Mastzellen	< 1%	< 5%

Tab. 1: Physiologische Zellpopulationen in TBS und BAL

* bei der Durchführung mit 500 ml Spülflüssigkeit und bei Pferden < 15 Jahren werden bis zu 10% neutrophile Granulozyten toleriert.

Das TBS von gesunden Pferden ist zell- und schleimarm, mit feinen Mukusfäden, Atemwegsepithelzellen und Alveolarmakrophagen. Nur vereinzelt treten Neutrophile und Lymphozyten auf (siehe Tab. 1).

In einer BAL von gesunden Pferden sind normalerweise kaum oder keine Epithelzellen vorhanden. Die dominierenden Zellarten sind Alveolarmakrophagen und Leukozyten, während Neutrophile nur sehr vereinzelt vorkommen sollten. Die Gesamtzellzahl schwankt sehr stark in Abhängigkeit von Entnahmetechnik, zurückgewonnener Flüssigkeitsmenge, Bearbeitung und Transportzeit. Sie wird daher in unserem Labor nicht routinemäßig mit bestimmt. In Studien wird sie bei gesunden Pferden mit > 500 Zellen/µL angegeben.

Neutrophile Granulozyten

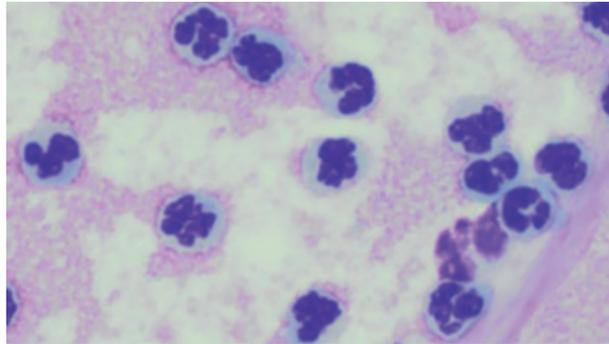


Abb. 7: Neutrophile Granulozyten besitzen einen dunklen polymorphen Kern

Neutrophile Granulozyten reagieren rasch auf unterschiedliche Entzündungsreize, sie sind daher bei verschiedenen Erkrankungen erhöht. Bei einer akuten Entzündungsreaktion sind sie die überwiegende Zellart, bei längerem Bestehen können auch Makrophagen in den Vordergrund treten. Bei **bakteriellen Infektionen** sind die Neutrophilen häufig **degeneriert (zerfallen)**, bei älteren Krankheitsgeschehen können sie hypersegmentiert sein.

Der **Anteil der Neutrophilen in der BAL** korreliert beispielsweise bei Equinem Asthma **mit dem Schweregrad der Erkrankung**: bei entsprechender klinischer Symptomatik sprechen **10–20%** neutrophile Granulozyten für **mildes**, **>20%** für **mittelgradig-schweres Equines Asthma**.

Makrophagen

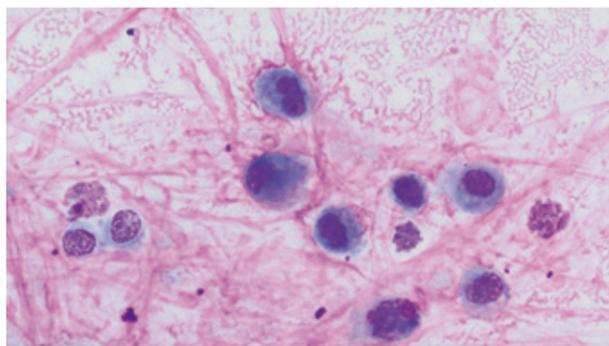


Abb. 8: Makrophagen sind große Zellen mit bohnenförmigem Kern

Makrophagen stellen bei gesunden Pferden den Hauptanteil der Zellen in TBS und BAL dar, sie können sich aber auch in **reaktive Phagozyten** umwandeln. In diesem Fall sind sie vergrößert und zeigen durch das phagozytierte Material ein „**schaumiges**“ Aussehen. Neben Sekret können Makrophagen auch Pflanzenpartikel, Pilzsporen oder -hyphen und Bakterien phagozytieren. Solche Befunde treten beispielsweise bei Pferden mit einer **Clearance-**

störung auf, wie sie beispielsweise bei Equinem Asthma vorkommt.

Eine erhöhte Anzahl an Makrophagen kommt bei verschiedenen entzündlichen Atemwegserkrankungen vor. Hierzu zählen die Bronchiolitis (Small Airway Disease), der **chronisch interstitiellen Pneumopathie** und auch bei **Equinem Asthma**. Hier beobachtet man eine erhöhte Makrophagenanzahl vor allem wenn die mukoziliäre Clearance nach vorangegangener Atemwegsobstruktion verbessert wurde (z. B. durch Bronchodilatoren und Sekretolytika). Diese Makrophagen sind dann meist „schaumig“ oder liegen als sogenannte Riesenzellen (Epitheloidzellen) im Verbund mit mehreren Makrophagen vor.

Makrophagen mit eingelagertem (=phagozytiertem) Hämosiderin oder Hämatoidin werden als Hämosiderophagen bezeichnet. Sie zeigen zunächst nur an, dass eine Blutung in den Atemwegen stattgefunden hat und Abbauprodukte der Erythrozyten phagozytiert wurden. Diese Blutung kann verletzungs- oder entzündungsbedingt sein, beides ist jedoch selten. Meist sprechen **Hämosiderineinlagerungen** für **EIPH** (Exercise Induced Pulmonary Hemorrhage = belastungsinduziertes Lungenbluten). Obwohl bei EIPH meist eine lokale Blutung im kaudodorsalen Bereich der Lunge stattfindet, ist die BAL eine sensitive Untersuchung und kann Blutungen je nach Schweregrad über einen Zeitraum von bis zu mehreren Wochen nachweisen, was dieses Untersuchungsverfahren als Diagnostikum für eine schon länger zurückliegende Leistungsinsuffizienz im Rahmen eines Rennens oder Turnieres bei Rennpferden und Sportpferden attraktiv macht.

Eosinophile Granulozyten

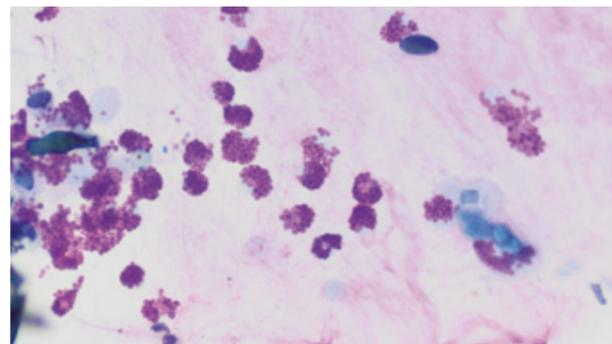


Abb. 9: Eosinophile Granulozyten mit typischen rötlich gefärbten Granula

Erhöhte Gehalte an eosinophilen Granulozyten sprechen für eine **Hypersensitivitätsreaktion** und werden bei einer **allergischen Bronchitis** (im Rahmen eines milden Equinen Asthmas) oder bei einer Erkrankung an **Lungenwürmern** (Dictyocaulus arnfieldi) nachgewiesen. Sehr hohe Gehalte an eosinophilen Granulozyten könnten auf eine **idiopa-**

thische eosinophile Pneumonie hinweisen, die durch eine Lungenbiopsie bestätigt werden kann. Erhöhte Eosinophile treten häufig gemeinsam mit einer erhöhten Makrophagenanzahl auf.

Mastzellen

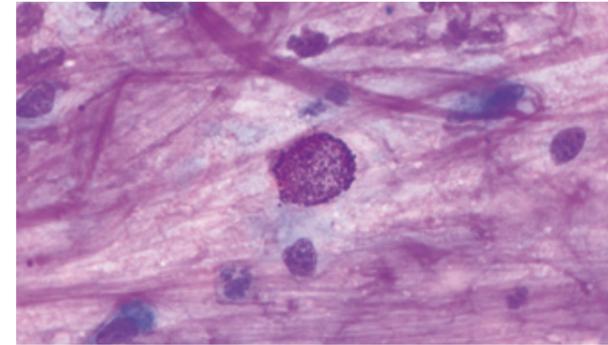


Abb. 10: Mastzelle mit kleinen, dunkel gefärbten Granula

Mastzellen im TBS oder der BAL sind beim Pferd selten und meist Anzeichen von **hyperreaktiven Bronchien** (=Überempfindlichkeit, die zu Bronchospasmus führt, z. B. im Rahmen des **Mastzellsubtypes des milden Equinen Asthmas**).

Epithelzellen

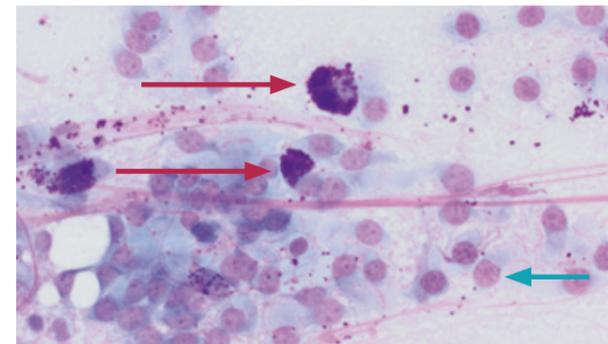


Abb. 11: Becherzellen mit lilafarbenen Granula im TBS-Ausstrich eines Patienten mit Dyskrinie
rote Pfeile: Becherzellen, blauer Pfeil: Epithelzellen im Verbund

Epithelzellen kommen **physiologischerweise** im TBS und kaum/nicht in der BAL-Flüssigkeit vor. Beim **Husten** und auch beim **Vorschieben des Katheters** auf der Schleimhautoberfläche können Epithelzellen abgelöst werden, diese entnahmebedingte Einbringung sollte möglichst vermieden werden.

Drei Arten von Epithelzellen werden hierbei unterschieden:

- zylindrische Flimmerepithelzellen
- Epithelzellen verschiedener Typen ohne Zilien
- schleimproduzierende Becher-Zellen

Werden bei der mikroskopischen Untersuchung vermehrt **Becherzellen** festgestellt, spricht dies für eine **Dyskrinie** im Rahmen irreversibler Umbauvorgänge an der Lunge. Daher werden Becherzellen als **prognostisch sehr ungünstig** angesehen. Neben den oben genannten Epithelzellarten können außerdem so genannte Creolakörperchen auftreten. Dies sind meist entnahmebedingte, von den Bronchien und Bronchiolen abgelöste, abgerundete Epithelzellverbände. Zu den pathologischen Veränderungen des Epithels zählen **Ziliozytophorie** und **Multinukleation**, die eine akute Epithelschädigung im Rahmen einer meist **schweren Virusinfektion** anzeigen können.

Curschmannspiralen



Abb. 12: Curschmannspirale als Anzeichen einer zurückliegenden Bronchokonstriktion

Curschmannspiralen sind spiralförmige Sekretaussüsse aus den Bronchiolen, die im zytologischen Bild sichtbar werden nachdem sich ein zuvor bestehender Bronchospasmus gelöst hat. Sie sprechen für eine **Beteiligung der tiefen Atemwege** und werden häufig bei Pferden nachgewiesen, die über längere Zeit viel Sekret produziert haben, das nun nach **beseitigtem Bronchospasmus** (z. B. durch entsprechende Therapie mit einem Bronchiendilatator) mobilisiert wurde.

Pflanzenpartikel und Pilz-Bestandteile

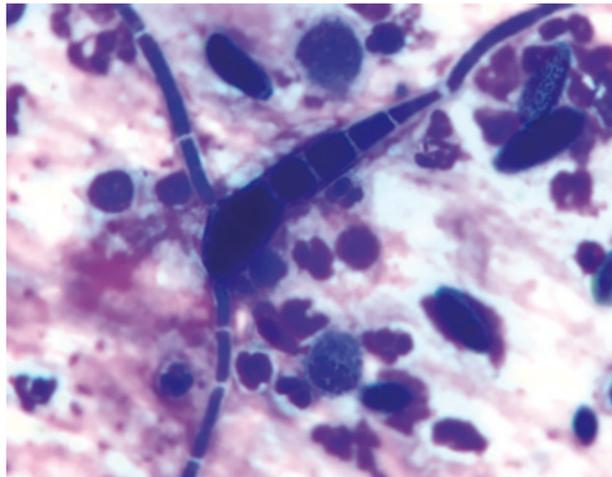


Abb. 13: *Alternaria Sprossen und Hyphen*
(Quelle Bild: Dr. Erika Furman)

Pflanzenpartikel oder -pollen sowie Pilzsporen und -hyphen können ebenfalls im TBS oder der BAL nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich meist um eine **entnahmebedingte Kontamination** aus den oberen Atemwegen. In selteneren Fällen kann es auch inhaliertes Material sein, das durch eine Dysphagie in die Atemwege gelangt oder durch eine **gestörte mukoziliäre Clearance** (z. B. bei Equinem Asthma) nicht wie gewöhnlich entfernt werden konnte. Bei einer Kontamination aus den oberen Atemwegen sind häufig auch Plattenepithelien zu sehen, die aus der Maulhöhle oder dem Pharynx stammen. Ein mikroskopischer Nachweis von Pilz-Bestandteilen bedeutet also nicht, dass bei diesem Patienten eine mykotische Pneumonie vorliegt. Diese Erkrankung ist in unseren Breitengraden extrem selten und die Diagnose kann nur zusammen mit weiteren klinischen Untersuchungen gestellt werden (Röntgenaufnahmen des Thorax, Lungenbiopsie). Die meisten mykotischen Pneumonien entstehen sekundär als Folge von Immunsuppressionen oder anderen schweren Erkrankungen (Sepsis, Endotoxämie, andere Lungenerkrankungen). *Aspergillus* spezie sind hierbei die am häufigsten nachgewiesenen Erreger.

Bakterien

Auch Bakterien können in TBS und BAL-Flüssigkeit sowohl als **Kontamination aus den oberen Atemwegen** als auch im Rahmen einer bakteriellen Infektion auftreten. Die Unterscheidung ist nur mittels zytologischer Untersuchung möglich und nicht immer ganz einfach, für die weitere Behandlung jedoch sehr wichtig. Klinisch relevant sind Bakterien in der Regel, wenn folgende Begleiterscheinungen auftreten:

- Vermehrte Sekretbildung
- Erhöhte Gesamtzellzahl (subjektiver Eindruck ausreichend)
- Erhöhte Anzahl an neutrophilen Granulozyten (degeneriert)
- Intrazellulär vorkommende Bakterien

Einige Bakterien sind typische Kontaminationskeime, andere sind primär lungenpathogen und wieder andere gelangen zwar aus den oberen Atemwegen in die Lunge, können dort aber zu einer klinischen Erkrankung führen. Einige relevante Keime finden Sie in Tabelle 2.

Für die Einschätzung der klinischen Relevanz der Erreger ist eine **korrekte Probenentnahme** (wie oben beschrieben) unerlässlich.

Typische Kontaminationskeime

- Staphylokokken
- Pseudomonaden (Arbeitskanal!)
- Proteus spp.

Häufige lungenpathogene Keime

- Streptokokkus zooepidemicus (u.a.)
- Rhodokokkus equi
- Actinobacillus
- Pasteurella spp.
- Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Enterobacter)

Zytologische Bilder bei wichtigen Atemwegserkrankungen

Bakterieller Infekt

Bakterielle Infekte kommen sowohl als Primärerkrankung bei ansonsten lungengesunden Pferden als auch als sekundäre Infektion bei Patienten mit vorangegangenem viralem Atemwegsinfekt, Equinem Asthma oder anderen Grunderkrankungen der Atemwege vor.

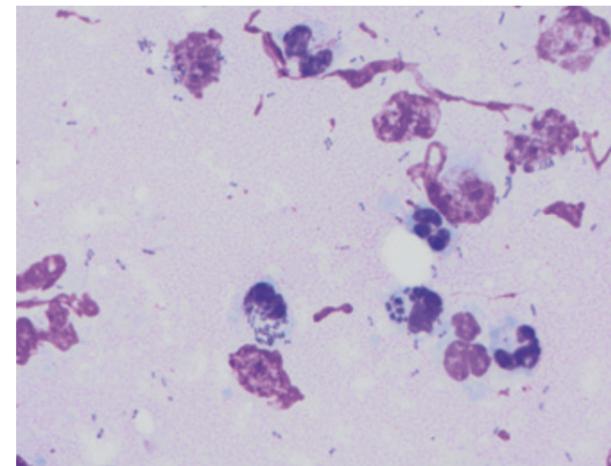


Abb. 14: Intrazellulär vorkommende Bakterien und degenerierte neutrophile Granulozyten bei einer bakteriellen Infektion im TBS eines Pferdes

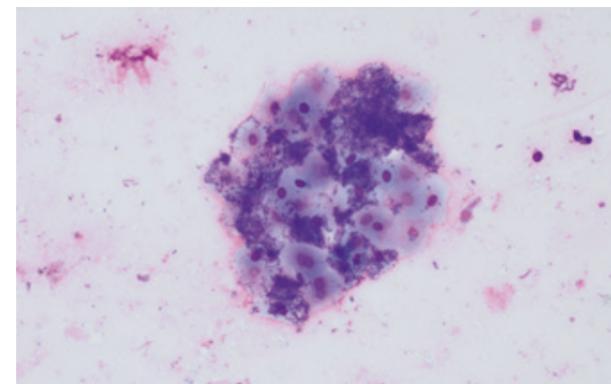


Abb. 15: Typisches mikroskopisches Bild einer Kontamination mit der oropharyngealen Flora, gekennzeichnet durch sehr viele extrazellulär liegende Bakterien und Plattenepithelien

Zeigt das zytologische Bild vorwiegend degenerierte Neutrophile, vermehrt Sekret (hier auch in der Endoskopie auf Sekretmenge und Viskosität achten!) und vorwiegend intrazellulär liegende Bakterien (Abb.14), ist eine mikrobiologische Untersuchung des TBS sinnvoll. Liegen die Bakterien vorwiegend extrazellulär und nur vereinzelt intrazellulär vor, ist eine Clearancestörung wahrscheinlicher. Liegen massenhaft Bakterien (ggf. zusammen mit Pflanzenpartikeln und Epithelzellverbänden) in Nestern vor, spricht dies für eine entnahmebedingte Kontamination aus den oberen Atemwegen (Abb. 15). Es ist kaum möglich, bei einem bakteriellen Infekt festzustellen, ob zusätzlich ein Equines Asthma vorliegt. Ein möglicher Hinweis hierauf wäre das Vorkommen von Curschmannspiralen, die für eine vorangegangene Bronchienkonstriktion sprechen, wie sie hauptsächlich bei Asthma auftritt. Häufig „triggert“ ein akuter bakterieller Infekt auch eine Exazerbation eines bestehenden Athmas. In unklaren Fällen empfiehlt sich daher immer eine Nachuntersuchung mit erneuter TBS-Zytologie nach circa 6–8 Wochen.

Equines Asthma

Equines Asthma ist die aktuelle Bezeichnung für die häufigste Atemwegserkrankung bei Pferden in Stall- oder Offenstallhaltung. Die Pathophysiologie dieser Erkrankung zeigt mehrere Parallelen zum humanem Asthma, woher auch ihr Name kommt. Sie ist charakterisiert durch eine staubinduzierte Entzündungsreaktion der tiefen Atemwege, die mit Bronchospasmen und Umbauvorgängen des Lungengewebes (sog. „remodeling“) einhergeht. Heu- und Strohstaub sind in den meisten Fällen der Auslöser, wobei hier verschiedene Komponenten (Schimmelpilze, Toxine, Milben, ggf. Gräserpollen, Feinstaub) eine Rolle zu spielen scheinen. Diese Überempfindlichkeit gegen Heu- und Strohstaub ist in meisten Fällen nicht rein IgE-mediert und damit in Allergietests in der Regel schwer nachweisbar. Entsprechend der früheren Unterscheidung zwischen IAD (Inflammatory Airway Disease) und RAO (Recurrent Airway Obstruktion) wird auch bei der aktuellen Bezeichnung Equines Asthma eine Einteilung in verschiedene Schweregrade vorgenommen.

Hierbei entspricht mildes Equines Asthma (MEA) in etwa der früheren IAD-Erkrankung. Es tritt häufiger bei jüngeren Sportpferden auf und ist durch erhöhte Gehalten an Neutrophilen, Eosinophilen und Mastzellen in der BAL gekennzeichnet (Abb. 16). Moderates und schweres Equines Asthma entsprechen der früheren Bezeichnung RAO, die mit erhöhten Neutrophilen in TBS oder BAL (Abb. 17), Bronchospasmen und (in schweren Fällen) erschwerte Atmung in Ruhe einhergeht. Die Unterscheidung zwischen mildem, moderaten und schwerem Equinem Asthma ist nur anhand von klinischen und zytologischen Befunden möglich. Sie ist vor allen Dingen für die Auswahl eines geeigneten Behandlungsregimes wichtig. Zusätzlich zu den oben beschriebenen Veränderungen sieht man bei Equinem Asthma zum Teil vermehrt schaumige Makrophagen als Zeichen einer gesteigerten Sekretbildung und Fremdmaterial (Pilze, Pflanzenpartikel, Staub), das auf eine gestörte Clearance hindeutet.

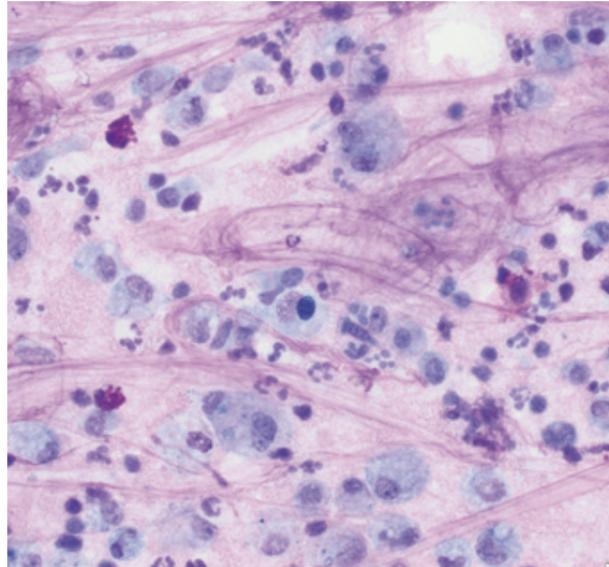


Abb. 16: Mildes Equines Asthma mit vermehrt eosinophilen Granulozyten im TBS

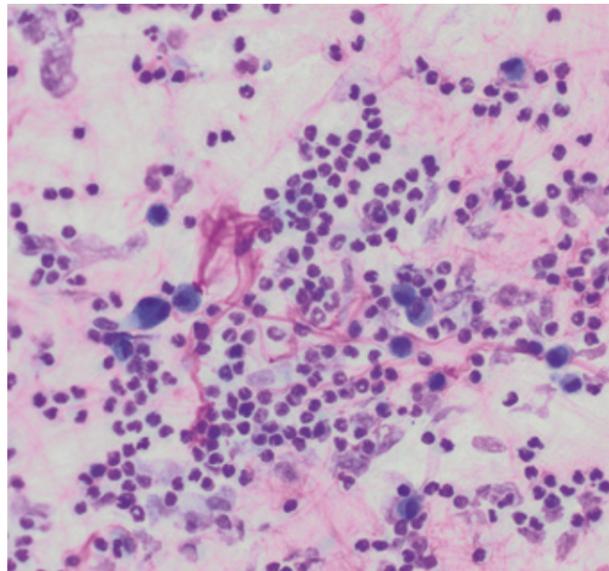


Abb. 17: Equines Asthma mit deutlich ausgeprägter Neutrophilie und vereinzelt Makrophagen im TBS eines Pferdes

EIPH

Das Belastungsinduzierte Lungenbluten (EIPH) ist definiert als das Auftreten von Blutungen während einer starken körperlichen Belastung. Diese Blutungen stammen aus den pulmonalen Kapillaren und treten vor allem im caudodorsalen Bereich der Lunge auf. Betroffen sind Pferde in solchen Disziplinen, die eine hohe kardiovaskuläre Aktivität verlangen. Grund der Blutung ist eine starke Druckdifferenz zwischen pulmonalen Kapillaren und Alveolen während der Inspiration, die zu einem Gewebsversagen führt. Der hohe Druck in den Kapillaren ist wiederum eine direkte Folge der hohen kardialen Leistung. Anders als lange vermutet gibt es keine Belege dafür, dass mildes Equines Asthma die Entstehung von EIPH begünstigt. Allerdings führt die Blutung in der Folge zu einer Infiltration mit Entzündungszellen (vor allem Makrophagen). Da nur wenige Pferde (etwa 5%) Epistaxis zeigen, wird die Diagnose „EIPH“ mittels Endoskopie und BAL gestellt. Die Einschätzung des Schweregrades ist anhand der BAL allerdings aufgrund von Schwankungen zwischen verschiedenen BAL-Proben (vor allem bei „blind“ gewonnenen Proben) eines Tieres schwierig. Hierzu eignet sich das endoskopische Bild besser. Betroffene Pferde zeigen in der BAL wie oben erwähnt erhöhte Gehalte an Makrophagen und anderen Entzündungszellen. Das aufgenommene Hämosiderin oder Hämatoidin stellt sich in einer Giemsa-Färbung je nach Alter olivgrün (jünger) bis gold (älter) dar (Abb. 18).

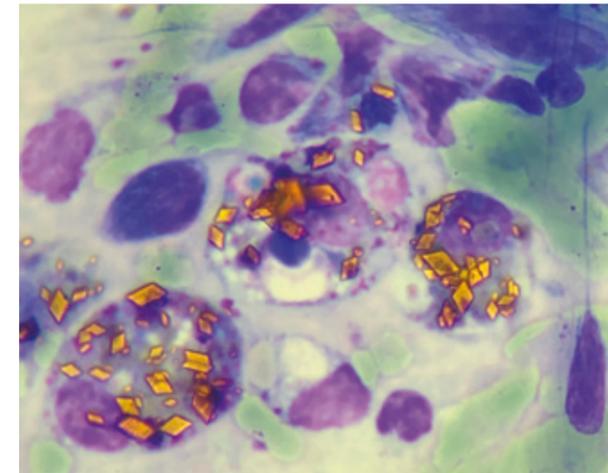


Abb. 18: Makrophage mit eingelagertem goldfarbenen Hämosiderin in einer BAL eines Patienten mit EIPH (Quelle Bild: Dr. Erika Furman)

Da viele Rennpferde ganz vereinzelt Hämosiderineinlagerungen in Makrophagen zeigen können, ohne dass dies für eine EIPH spricht, wird in unklaren Fällen ein berechneter totaler Hämosiderinscore angegeben. Ein totaler Hämosiderinscore von >75 kann mit einer Sensitivität von 94%

und einer Spezifität von 88% die Diagnose EIPH stellen. Da diese Technik jedoch sehr zeitaufwendig ist wird sie in der Routinediagnostik nicht verwendet. Falls Sie für Ihren Patienten einen totalen Hämosiderinscore benötigen, sprechen Sie uns gerne vor Einsendung der Probe an.

Chronisch Interstitielle Pneumopathie

Die chronisch interstitielle Pneumopathie (CIB) ist eine selten auftretende Atemwegserkrankung, die vor allem das Lungenzwischengewebe und weniger die Bronchien/Bronchiolen betrifft. Eine einheitliche auslösende Ursache konnte bisher nicht identifiziert werden, diskutiert werden sowohl infektiöse als auch toxische Ursachen. Das klinische Bild ist variabel, im deutschsprachigen Raum werden jedoch häufiger Fälle mit weniger stark ausgeprägter Atemwegssymptomatik (Husten, Nasenausfluss) und dafür deutlicher Leistungsinsuffizienz beschrieben. In der Bronchoskopie fällt meist Sekret in geringerer Menge und Viskosität als bei Equinem Asthma auf.

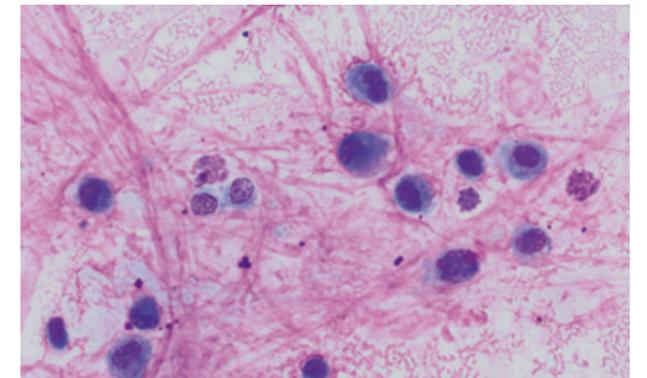


Abb. 19: Von Makrophagen dominiertes Entzündungsgeschehen

In der BAL finden sich eine erhöhte Zelldichte und vermehrt Makrophagen, die anders als bei Equinem Asthma meist nicht schaumig sind (Abb. 19). Charakteristisch ist ein Verhältnis von Makrophagen zu Neutrophilen von $\geq 2.5:1$. Außerdem fehlen in der Regel Curschmannspiralen als Zeichen einer Bronchienkonstriktion. Eine eindeutige Diagnose kann nur zusammen mit einer röntgenologischen Untersuchung des Thorax gestellt werden, in der sich eine deutliche interstitielle Verschattung ohne verdickte Bronchienwände zeigt. Im Gegensatz hierzu sieht man bei schwerem Equinem Asthma in Röntgenaufnahmen des Thorax meist eine vorwiegend bronchiale Zeichnung, eventuell in Kombination mit einer leichten interstitiellen Verschattung.



Atemwegsservice Pferd – unsere Leistung für Sie

Untersucht werden TBS, TBS-Spülflüssigkeit oder BAL-Proben. Für eine optimale Qualität fertigen Sie bitte in Ihrer Praxis wie oben beschrieben Ausstriche an, die Sie uns ungefärbt zusammen mit der Restflüssigkeit (bitte gekühlt) zusenden.

Falls Sie TBS und BAL Proben entnehmen, senden Sie uns gerne, entsprechend gekennzeichnet, beide zu. Aufgrund der besseren Aussagekraft beurteilen wir zunächst nur die BAL, greifen jedoch auf die TBS-Probe zurück, falls die BAL uneindeutig oder nicht auswertbar sein sollte. Falls Sie die automatische Bewertung beider Proben wünschen, vermerken Sie dies bitte auf dem Einsendeschein. Werden beide Proben beurteilt, berechnen wir hierfür einen Mehraufwand.

Auf Wunsch ergänzen wir die zytogische Untersuchung durch die bakteriologische Kultur *Varia* bzw. die bakteriologisch-mykologischen Kultur oder atemwegsrelevante PCR-Untersuchungen.

Die Abrechnung erfolgt gemäß unserer aktuellen Preisliste.

Probenmaterial:

Objektträger und Tracheobronchialsekret 1,0 ml
oder Bronchiallavage 1,0 ml
Dauer: 2–5 Tage

Unsere Laboruntersuchungen für den Atemwegsservice Pferd finden Sie auf der Rückseite des Untersuchungsauftrags: ZYTOLOGIE/HISTOPATHOLOGIE/ATEMWEGSSERVICE PFERD



ANTECH

Antech Lab Germany GmbH

Gubener Straße 39
86156 Augsburg
Telefon +49 821 4401780
Fax +49 821 404099

© Antech Lab Gemany GmbH
Keine Haftung für Irrtümer, Fehler und
falsche Preisangaben.
Änderungen bleiben vorbehalten.
Alle Texte, Fotos und Inhalte unterliegen
dem Urheberrecht.
Keine Verwendung ohne ausdrückliche
Erlaubnis des Rechteinhabers.
Stand 2024