

<p>This article was published in Eiðfaxi International 4-2002, p. 33-37.</p> <p>Editor: Eiðfaxi ehf P.O. Box 8133 128 Reykjavík Island T +354-5882525 F +354-5882528 eidfaxi@eidfaxi.is www.eidfaxi.is</p> <p>In November 2002 the editor gave permission to Christoph Bouthillier to publish the (scanned) article on the website www.tekstotaal.com</p>	<p>Dieser Artikel erschien in Eiðfaxi International 4-2002, S. 33-37.</p> <p>Herausgeber: Eiðfaxi ehf P.O. Box 8133 128 Reykjavík Island T +354-5882525 F +354-5882528 eidfaxi@eidfaxi.is www.eidfaxi.is</p> <p>Der Herausgeber erteilte im November 2002 Christoph Bouthillier die Erlaubnis, den (gescannten) Artikel auf der Website www.tekstotaal.com zu veröffentlichen.</p>
---	--

<b>Horses in Iceland may be sensitized to insect allergens</b>	<b>Sensibilisierung gegen Insektenallergie bei Pferden auf Island</b>
--	---

**Christine Kobelt a), B. Steinbjörnsson b), S. Kaul c), R. Esch d), W. Leibold a) e)**

- a) Immunologie der Tierärztlichen Hochschule, Hannover, Deutschland
- b) Dýraspítali Austurlands, Tjarnarás 8, 700 Egilsstaðir, Island
- c) Abteilung Allergologie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Deutschland
- d) Greer-Laboratorien, Lenoir NC, USA to whom correspondence should be addressed:  
W. Leibold, DVM, Ph.D., Professor of Immunology, Immunology Unit, School of Veterinary Medicine, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany.  
E-mail: [leibold@immunologie.tiho-hannover.de](mailto:leibold@immunologie.tiho-hannover.de)



Dr. Björn Steinbjörnsson

<p>Allergic skin diseases caused by blood sucking insects are not a major problem of horses in Iceland (1). This might be due to the lack of insects, in particular Culicoides species (2), responsible for induction and maintenance of allergic skin diseases of horses in other countries. Once exported a substantial number of Icelandic horses generate massive and long-lasting allergic symptoms when exposed to local insects, frequently an allergic skin disease termed sweet itch, Queensland itch, Kasen, or Summer eczema (3 - 8). International</p>	<p>Allergische Hauterkrankungen bei Pferden, hervorgerufen durch stechende Fluginsekten, sind in Island kein nennenswertes Problem (1). Vermutlich fehlen auf Island die Insekten, insbesondere die Culicoides-Arten (2), die in anderen Ländern allergische Hauterkrankungen auslösen und unterhalten. Ein großer Anteil von Islandpferden entwickelt aber im Ausland starke und lang anhaltende Allergien gegen dortige Insekten. Die bekannteste und international weit verbreitete Form einer Insektenallergie ist</p>
--	--

<p>interest in importing horses from Iceland has been reduced due to the high risk of purchasing a horse that will develop a teasing, laborious and costly allergy for which no effective therapy exists. Increasingly customers prefer to purchase Icelandic horses from breeders outside of Iceland who raise their horses in areas endemic for Summer eczema-inducing insects. Under natural field exposure to insect allergens, susceptible horses develop symptoms of Summer eczema mainly during their third or fourth summer (9). Healthy horses above that age purchased from an honest breeder will most likely stay free of Summer eczema. For such horses the risk of developing Summer eczema or another kind of insect allergy later on is limited to two reasons:</p> <p>A. The exposure and subsequent sensitization to insects to which the horse had no previous contact.</p> <p>B. Diseases or treatments that may compromise the immune system to an extent allowing for the development of allergy to antigens already known to the animal.</p> <p>Currently, no reliable test is available that can predict any allergy disposition for horses in Iceland. Due to the lack of Summer eczema symptoms of horses in Iceland it is very difficult to investigate diagnostic and therapeutic modalities or to study the pathogenesis of SE within that country. These disadvantages increasingly hamper and reduce the export of horses from Iceland. In this report, we describe the application of a reliable equine diagnostic test for type I sensitization to insect allergies.</p> <p>Summer eczema as well as several other allergies are initially and preferentially induced by an exaggerating "type I" immune reaction. It is started by basophilic granulocytes (basophils) mainly found in peripheral blood and by mast cells located in the skin and in the mucosa. Normally</p>	<p>das Sommer ekzem (3 - 8). Da ein hoher Prozentsatz aus Island importierter Pferde ein Sommer ekzem entwickelt, ist die ausländische Bereitschaft, Tiere direkt aus Island zu beziehen, deutlich zurückgegangen. Dem Käufer ist das Risiko zu hoch, sich mit einem Pferd aus Island auch eine quälende, pflegeaufwendige und kostspielige Erkrankung ohne ursächliche Therapiemöglichkeit einzuhandeln. Die Nachfrage nach den weiterhin sehr beliebten Islandpferden wird zunehmend bei Züchtern befriedigt, die ihre Pferde in Gebieten aufziehen, in denen reichlich die Insekten (vor allem Culicoides-Arten) vorkommen, die das Sommer ekzem induzieren und unterhalten. Da sich unter diesen Aufzucht- und Haltungsbedingungen das Sommer ekzem meist im 3., spätestens im 4. bis 5. Lebensjahr zeigt (9), kann der Züchter dem Käufer mit hoher Sicherheit ein sommer ekzem freies erwachsenes Tier verkaufen. Sollte ein solches Pferd in seiner neuen Umgebung nun auf andere Insekten treffen, mit denen es bisher nicht konfrontiert wurde (insbesondere andere Culicoidesarten) kann es dagegen sensibilisiert (gert viðkvæmt) werden und ein Sommer ekzem oder eine andere Insektenallergie entwickeln. Dieses geschieht aber im Vergleich zu Importpferden aus Island so selten, dass der Züchter ohne großes Risiko dem Käufer für diesen Fall ein kostenloses Ersatzpferd zusagen kann.</p> <p>Bisher ist es unmöglich, für in Island gezogene Pferde auch nur im Ansatz einen Hinweis auf eine allergische Disposition (ónæmisveikleika) zu erfassen. Dadurch kommt es zu einem seit Jahren bekannten und immer stärker werdenden Wettbewerbsnachteil isländischer Pferdezüchter beim Export ihrer Pferde. Da das Sommer ekzem in Island nicht auftritt, ist es praktisch unmöglich, im Lande selbst mit dortigen Pferden eine sinnvolle Forschung zur Diagnostik, Pathogenese, Prophylaxe und Therapie des Sommer ekzems durchzuführen.</p>
---	---

these cells act as "guards" within a sensible alarm system warning the host from suspected danger. Within minutes or up to a few hours, these activated "guard cells" release mediators and chemotactic factors. In case of real danger a cascade of inflammatory reactions initiated by these "guard cells" is desired and protective, e.g. against a variety of parasites. In some humans or some animals there are exaggerating reactions of basophils and / or mast cells - termed type I allergy or atopy - even to less harmful agents, such as pollen or components in the saliva of insects. The local clinical symptoms start with itching followed by a number of secondary reactions such as fracture till pilation of hairs, various degrees of skin lesions with bacterial infections and pus formation and may finally cause disturbing scars. Such excruciating and long lasting symptoms may easily alter the behaviour of the patient. Systemic reactions can be serious and end up in a lethal allergic shock.

All these desired or unwanted reactions usually occur under the condition that the basophils and mast cells are able to recognize the structure (termed antigen) suspected to be the "dangerous agent". Basophils and mast cells have no specific recognition system (antigen receptors) but possess a variety of surface receptors including receptors for immunoglobulins (Fc-receptors). These allow the selective binding of distinct antibodies circulating in the peripheral blood that specifically recognize characteristic small structural parts (epitopes) of antigens. Upon antigen binding to at least two membrane bound antibodies and bridging the relevant Fc-receptors, the "guard cells" release mediators that cause a beneficial or an allergic type I reaction. Therefore, only if a basophil or mast cell has bound a sufficient amount of appropriate antibodies recognizing one or several epitopes on the same antigen - thus, permitting bridging - these cells are considered to be "sensitized" for a distinct antigen. In case of a desired

Hier wird über ein Verfahren berichtet, das sich in Deutschland als der zuverlässigste Nachweis von Typ-I-Allergien erwiesen hat. In einer ersten orientierenden Untersuchung sollte geprüft werden, ob dieses Verfahren auch bei Pferden in Island anwendbar und informativ ist. Beim Sommerexzem (10), wie auch bei einer Reihe anderer Insektenallergien, handelt es sich um eine sogenannte Typ-I-Immunreaktion (ónæmissvörun): basophile Granulozyten (lútsækin hvít Korn) im Blut und Mastzellen (mastfrumur) in den Geweben des Körpers, insbesondere in Haut und Schleimhaut, stellen ein empfindliches Alarmsystem bei allen Säugetieren dar. Werden diese "Wächterzellen" aktiviert, so senden sie innerhalb von wenigen Minuten bis zu einer halben Stunde Signale in Form von Botenstoffen (boðefni, (Mediatoren, milliliðir), aus. Damit holen sie nicht nur andere Zellen zu Hilfe, sondern zeigen und öffnen ihnen auch den Weg zur "Unfallstelle". Durch diese Reaktionskette soll der örtliche "Störenfried", den die Alarmzellen erkannt haben, möglichst schnell inaktiviert und eliminiert werden. Solch ein Störenfried, zu dessen Abwehr es einer schnellen und konzertierten Aktion bedarf, kann z. B. ein Parasit in Form eines Wurmes sein. In diesem Falle ist die massive Reaktion der "Wächterzellen" erwünscht. Ist der Parasit ein blutsaugendes Insekt, so ist eine solche Reaktion im Prinzip ebenfalls erwünscht, insbesondere wenn das Insekt mit seinem Speichel weitere Infektionserreger überträgt. Jedoch reagieren hierbei einige Menschen und Tiere so heftig, dass die überschießende Reaktion der Alarmzellen zu starkem Juckreiz und damit zu Scheuern und Kratzen an der Stichstelle führt. Dadurch kommt es zu den massiven Folgereaktionen wie Haarbruch, Verletzung der Haut, Blutungen, Sekundärinfektionen, Eiterbildung, tiefe Wunden und Narben. Diese überschießende Reaktion nennt man Typ-I-Allergie oder auch Atopie.

<p>type I reaction the initiating structure (e.g. a parasite) is named antigen. In case of an undesirable and inflammatory allergic type I reaction the antigen is referred to as an "allergen". Thus, the individual immune reaction determines whether an antigen will become an allergen and there are no unique molecular determinants for allergenicity.</p>	<p>All diese erwünschten oder unerwünschten Reaktionen der basophilen Granulozyten (Basophilen) und Mastzellen finden jedoch nur dann erfolgreich, empfindlich und wiederholt statt, wenn die Zellen den "Störenfried" (Antigen, mótefnavaki) überhaupt erkennen. Die Alarmzellen selbst verfügen über kein eigenes spezifisches Erkennungssystem (Antigenrezeptoren, mótefnisvakanema). Sie besitzen aber Bindungsstellen (Fc-Rezeptoren), über welche sie spezifische Informanten in Form von im Blut zirkulierenden Antikörpern (mótefnis) aufnehmen können. Setzen sich geeignete Antikörper in ausreichender Dichte in die Fc-Rezeptoren, so sind die Basophilen und Mastzellen "sensibilisiert".</p>
<p>For diagnostic considerations of type I allergies it is important to remember:</p>	<p>Die Alarmzellen selbst verfügen über kein eigenes spezifisches Erkennungssystem (Antigenrezeptoren, mótefnisvakanema). Sie besitzen aber Bindungsstellen (Fc-Rezeptoren), über welche sie spezifische Informanten in Form von im Blut zirkulierenden Antikörpern (mótefnis) aufnehmen können. Setzen sich geeignete Antikörper in ausreichender Dichte in die Fc-Rezeptoren, so sind die Basophilen und Mastzellen "sensibilisiert".</p>
<p>1. Without sensitization of basophils and/or mast cells with appropriate antibodies no antigen specific type I reaction is possible including an allergic one, even in the presence of allergen. Because cellular sensitization is a direct prerequisite for a type I allergy its diagnostic proof is the most reliable approach to judge the type I allergy status of a patient.</p>	<p>Damit sind sie nun in der Lage, solche Strukturen (Epitope) auf Antigenen zu binden, die ihre "Informanten", die membranständigen sensibilisierenden Antikörper, spezifisch erkennen. Das erklärt, warum ein Basophiler oder eine Mastzelle nur dann spezifisch reagieren kann, wenn sie mit einer ausreichenden Dichte an Antikörpern gegen ein Antigen sensibilisiert ist. Reagieren sensibilisierte Alarmzellen mit einer erwünschten Reaktion (z. B. gegen einen Wurm), so spricht man vom Antigen, das sie erkannt haben. Reagieren sie jedoch mit einer überschießenden, "allergischen" Reaktion, so bezeichnet man das Antigen als "Allergen", d.h. erst die überschießende Reaktion eines Individuums macht aus einem Antigen ein Allergen. Da bisher kein Antigen bekannt ist, das von einer Mehrheit an Individuen einer Spezies mit einer Allergie beantwortet wird, gibt es kein Allergen per se. Somit existiert keine Substanz, die "von sich aus" eine Allergie induziert. Die Entscheidung darüber, ob ein Antigen mit einer harmlosen schützenden Immunreaktion kontrolliert oder als Allergen mit einer überschießenden Immunreaktion beantwortet wird, liegt allein beim Individuum und seinem Immunsystem. Somit ist für diagnostische Untersuchungen von Typ-I-Allergien bei Mensch und Tier festzuhalten:</p>
<p>2. Only antibodies appropriately bound to basophils and mast cells are able to mediate a type I reaction. As long as such antibodies circulate freely in the blood they are unable to do so. Therefore the diagnostic of specific antibodies bound to basophils and mast cells is a much better proof of a functional sensitization than the detection of free antibodies in the serum (e.g. as monitored by means of an enzyme allerge sorbent test: EAST).</p>	<p>Das erklärt, warum ein Basophiler oder eine Mastzelle nur dann spezifisch reagieren kann, wenn sie mit einer ausreichenden Dichte an Antikörpern gegen ein Antigen sensibilisiert ist. Reagieren sensibilisierte Alarmzellen mit einer erwünschten Reaktion (z. B. gegen einen Wurm), so spricht man vom Antigen, das sie erkannt haben. Reagieren sie jedoch mit einer überschießenden, "allergischen" Reaktion, so bezeichnet man das Antigen als "Allergen", d.h. erst die überschießende Reaktion eines Individuums macht aus einem Antigen ein Allergen. Da bisher kein Antigen bekannt ist, das von einer Mehrheit an Individuen einer Spezies mit einer Allergie beantwortet wird, gibt es kein Allergen per se. Somit existiert keine Substanz, die "von sich aus" eine Allergie induziert. Die Entscheidung darüber, ob ein Antigen mit einer harmlosen schützenden Immunreaktion kontrolliert oder als Allergen mit einer überschießenden Immunreaktion beantwortet wird, liegt allein beim Individuum und seinem Immunsystem. Somit ist für diagnostische Untersuchungen von Typ-I-Allergien bei Mensch und Tier festzuhalten:</p>
<p>The class of antibodies most efficiently sensitizing basophils and mast cells in men and mice is the immunoglobulin isotype E (IgE) (10). Therefore in vitro type I allergy diagnostic testing in humans is often limited to allergen specific IgE. However, in both of these species it is well documented that immunoglobulins of IgG isotypes (in men preferentially IgG4 and in mice IgG1) have considerable influence on the outcome of a type I allergy or can even mediate it in the absence of IgE (11). In the horse it is still unknown which immunoglobulin isotypes are most relevant for sensitizing their basophils and mast cells. Equine IgE is certainly a major candidate (12). As the</p>	<p>Somit existiert keine Substanz, die "von sich aus" eine Allergie induziert. Die Entscheidung darüber, ob ein Antigen mit einer harmlosen schützenden Immunreaktion kontrolliert oder als Allergen mit einer überschießenden Immunreaktion beantwortet wird, liegt allein beim Individuum und seinem Immunsystem. Somit ist für diagnostische Untersuchungen von Typ-I-Allergien bei Mensch und Tier festzuhalten:</p>

<p>horse is the only species able to generate 6 different IgG isotypes (13 &amp; 14) their role in equine type I allergy awaits elucidation. This will be possible as soon as the specific reagents are developed. We are presently working on it.</p> <p>For diagnosing type I allergy in horses we favour a functional in vitro test (FIT) providing clinically relevant information about the sensitization of basophils (15). It is based on the in vivo sensitization of basophils by the donor horse. After washing away the irrelevant unbound antibodies, we are left only with those firmly attached to the cells. These are exposed in vitro with suspected allergens at varying dilutions. If there are sensitizing antibodies on the washed cells recognizing a specific multivalent allergen, then these antibodies may trigger a type I allergic reaction in vitro. This is without any risk for the donor in contrast to allergen skin testing (16). A quantitative estimation of the degree of sensitization for a given allergen is indicated by the minimal amount of allergen required to induce a detectable triggering. Thus, without knowing the participating immunoglobulin isotypes in the individual type I reaction we are able to monitor the functional sensitization qualitatively (by means of the kind of triggering allergen) and quantitatively (indicated by the triggering dilution of the allergen).</p> <p>Triggering of leukocytes may result in a variety of mediators. Some of them are produced by various cell types with different functions. E.g. leukotrienes are released by basophils as well as by other cells less relevant for the initiation of type I reactions, such as eosinophils, neutrophils and macrophages. Monitoring these, as some assays do (17), may provide false positive results. In order to monitor the activation of basophils selectively we quantify the amount of released histamine, a mediator exclusively stored and immediately released in bigger amounts by basophils and mast cells.</p>	<p>1. Ohne Sensibilisierung von Basophilen und Mastzellen mit geeigneten Antikörpern kann es keine spezifische Typ-I-Reaktion, also auch keine Typ-I-Allergie geben. Der Nachweis einer Sensibilisierung ist somit Grundvoraussetzung für den Nachweis einer Typ-I-Allergie.</p> <p>2. Nur diejenigen Antikörper, die auf Basophilen und Mastzellen gebunden sind, können eine Typ-I-Allergie auslösen. Frei im Blutplasma vorkommende Antikörper können dies alleine nicht. Somit ist der Nachweis der Spezifität von Antikörpern auf Basophilen oder Mastzellen wesentlich zuverlässiger für eine funktionelle Sensibilisierung als der von freien Antikörpern (wie er z.B. im Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) durchgeführt wird).</p> <p>Bei Mensch und Maus gehören die Antikörper, die Basophile und Mastzellen besonders effizient sensibilisieren können, dem Immunglobulinisotyp E (IgE) an (11). Deshalb wird beim Menschen die Typ-I-Allergie auch gern auf den Nachweis von allergenspezifischem IgE beschränkt. Es ist aber auch bekannt, dass Immunglobuline vom Isotyp G (IgG), insbesondere IgG4 beim Menschen und IgG1 bei der Maus, nicht nur erheblichen Einfluss auf die Typ-I-Allergie haben, sondern sie auch selbst auslösen können (12). Welche Immunglobulinisotypen beim Pferd für die Sensibilisierung maßgeblich sind, kann bis heute mangels geeigneter spezifischer Nachweisreagenzien nicht mit Sicherheit gesagt werden. Das Pferde-IgE ist vermutlich ein wesentlicher Kandidat (10). Ob und welche der zu erwartenden 6 IgG-Isotypen des Pferdes (13 &amp; 14) ebenfalls eine Rolle spielen oder vielleicht noch wichtiger sind als das IgE, bleibt zu untersuchen, sobald die erforderlichen Reagenzien zur Verfügung stehen. Bis dies erfolgt ist, liefert ein funktioneller In-vitro-Test (FIT) die zuverlässigsten Aussagen über den Sensibilisierungsgrad von basophilen Granulozyten beim Pferd (15).</p>
---	--

By exposing washed donor cells to suitable allergen preparations we monitor their allergen specific sensitization. Bridging Fc-receptor bound antibodies on the surface of these basophils irrespective of their specificity with a suitable antiserum reacting possibly with all immunoglobulin isotopes provides information about the actual general sensitization of these cells.

### **MATERIAL AND METHODS**

In order to find out if adult horses in Iceland may be sensitized for insect allergens we harvested 20ml of blood from 12 healthy horses (Tab. 1) on a stud in southern Iceland. Due to good flight connections they arrived 16 hours later in Hannover for immediate processing in the functional in vitro test (FIT) developed by S. Kaul et al. (15). The FIT starts with a thorough washing of the blood in order to eliminate all antibodies not bound to cells.

Subsequently the cells were exposed for 1 h at 37 °C to various concentrations (0.05 to 50 µg/ml) of suitable allergen preparations derived from *Culicoides nubeculosus*, *Stomoxys calcitrans*, *Ephemeroptera*, *Heterocera*, *Mosquito*, *Musca domestica*, *Dermatophagoides farinae*, or *Solenopsis invicta*. Positive and negative controls for each individual blood sample were processed in parallel. The general sensitization was tested by adding appropriate concentrations (20 and 60 µg/ml) of a suitable anti-equine immunoglobulin serum (antiserum) to the cells instead of allergens. The histamine released into the cell free supernatant was quantified in a radio immuno assay. Due to the varying histamine content in the individual blood sample the results were expressed in relative terms: The amount of histamine released in a positive control served as reference value (100 %). The quality of the test system and the cells to be tested are monitored by the amount of spontaneously released histamine: Results are only evaluated if the spontaneous release

Er beruht darauf, dass die Basophilen des Spendertiers in vivo mit geeigneten sensibilisierenden Antikörpern bestückt worden sind. In vitro kann man nun durch Zugabe vermuteter Allergene prüfen, ob sich genügend spezifische Antikörper auf den Basophilen befinden, um nach Überbrückung durch das "passende" Allergen die Zellen zur Mediatorfreisetzung zu aktivieren. Es wird also die Startreaktion für eine Typ-I-Allergie in vitro nur dann ausgelöst, wenn die membranständigen Antikörper "ihr" Allergen erkennen. Somit ist es möglich, eine allergenspezifische Sensibilisierung in vitro nachzuweisen, ohne das zu untersuchende Tier mit den zu prüfenden Allergenen zu belasten wie bei allergischen Hauttests (16). Je dichter die allergenerkennenden Antikörper auf den Basophilen sitzen, um so weniger Allergen wird benötigt, um eine Mediatorfreisetzung zu erzielen. Somit kann man, ohne zu wissen, welche Immunglobulinisotypen beim Pferd eine Typ-I-Reaktion vermitteln, den funktionellen Sensibilisierungsgrad des Spenders qualitativ (welche(s) Allergen(e)) und quantitativ (welche Verdünnung des Allergens) ermitteln. Um auch sicher zu sein, dass man nur die Reaktion der Basophilen erfasst, wird von all den freigesetzten Mediatoren nur das Histamin quantifiziert, da im Blut allein die basophilen Granulozyten Histamin speichern und bei Aktivierung kurzfristig in größerer Menge freigeben können. Mit der Messung von Leukotrienen - wie dies andere Verfahren tun (17) - erfasst man auch die Aktivierung von neutrophilen (hlutleysiskyrningur) und eosinophilen Granulozyten sowie von makrophagen (gleypifruma). Diese Zellen haben aber primär mit der Typ-I-Reaktion wenig zu tun und können so einen falschen positiven Eindruck vermitteln.

Neben der allergenspezifischen Sensibilisierung erlaubt der FIT auch den Nachweis einer generellen Sensibilisierung mit membranständigen Antikörpern, die die Basophilen aktivieren können. Dazu werden

does not exceed 6% of the maximal release. The reaction of basophils to each concentration of the allergen preparations and of the antiserum was quantified by the amount of released histamine expressed as percentage of the maximal release. As neither the applied concentrations of each allergen nor of the antiserum were able to trigger basophils unspecifically a positive histamine release could only be mediated by membrane bound antibodies, thus, by sufficiently sensitized cells. A histamine concentration above 9% of the maximal release was considered a positive reaction induced by an allergen or by the anti-serum. This cut off represents the mean value of spontaneous releases from 50 horses plus three standard errors of the mean (15).

**Tab. 1: Donor horses of the stud Herridarholl, Hella, Iceland All animals were free of allergic symptoms.**

die gründlich gewaschenen Zellen mit einem Antiserum (mótsermi) versetzt, das möglichst alle Immunglobulinisotypen der entsprechenden Spezies erkennt. Auf diese Weise werden die sensibilisierenden Antikörper auf den Basophilen unabhängig von ihrer Antigen-spezifität überbrückt und so eine Mediatorfreisetzung bewirkt.

## MATERIAL UND METHODEN

Um zu erfahren, ob erwachsene Pferde auf Island generell gegen Insektenallergene sensibilisiert sind, wurde im September 2000 von 12 Pferden (Tab. 1) eines Gestütes in Südisland je 20 ml Blut steril entnommen. Dank der guten Flugverbindungen nach Deutschland konnte es schon 16 Stunden später in Hannover im FIT-Verfahren nach Kaul (15) untersucht werden. Dazu wurden die Blutzellen durch gründliches Waschen vom Plasma (blóðvökvi) einschließlich der freien Antikörpern getrennt. Neben positiven und negativen Kontrollen konnten die Zellen für 1 Stunde bei 37 °C mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,05 bis 15 µg/ml) von Allergenpräparationen aus *Culicoides nubeculosus* (einem der Auslöser des Sommerkezems) sowie aus *Stomoxys calcitrans*, *Ephemeroptera*, *Heterocera*, *Mosquito*, *Musca domestica*, *Dermatophagoides farinae* und *Solenopsis invicta* reagieren. Zur Ermittlung einer generellen Sensibilisierung wurden ihnen in Parallelansätzen zwei Konzentrationen eines geeigneten Antiserums gegen Pferdeimmunglobuline für ebenfalls 1 Std. zugesetzt. Anschließend wurde in einem kompetitiven Radio-immuno-assay der Gehalt an Histamin in den zellfreien Überständen eines jeden Ansatzes bestimmt. Da nicht jedes Pferd den gleichen Histamingehalt im Blut hat, erfolgt die Auswertung relativ: Die Menge an Histamin in der Positivkontrolle (Maximalfreisetzung) stellt mit 100 % den Bezugswert dar. Um sicherzustellen, dass die Qualität der zu untersuchenden Zellen und des Untersuchungsverfahrens

	<p>ausreichend gut sind, darf die aus den Zellen spontan freigesetzte Menge an Histamin (Spontanfreisetzung) höchstens 6 % der Maximalfreisetzung betragen. Die durch das Antiserum bzw. durch die Allergenpräparationen verursachte Histaminfreisetzung wird ebenfalls als Prozentwert von der Maximalfreisetzung angegeben. Da sowohl das Antiserum als auch die Allergenpräparationen in Konzentrationen eingesetzt wurden, in denen sie keine unspezifische Basophilenreaktion auslösen, konnten positive Histaminwerte nur durch membranständige Antikörper vermittelt werden. Um eine sichere Bewertung einer durch membranständige Antikörper vermittelte Histaminfreisetzung zu erzielen, wurde nur eine Histaminkonzentration von über 9 % der Maximalfreisetzung als positiv gewertet. Diese Grenze stellt den Mittelwert aus den Spontanfreisetzungsreaktionen von über 50 Pferden plus der dreifachen Standardabweichung dar (5).</p> <p><b>Tab. 1: Untersuchte Pferde des Gestütes Herridarholl, Hella, Island. Alle Pferde waren bisher frei von klinischen Sommereczemsymptomen.</b></p>
--	---

Horse / Pferd Nr.	Year of birth / Geburtsjahr	Gender / Geschlecht f = female/weiblich g = gelding / Wallach
1	1989	f
2	1990	f
3	1991	g
4	1991	f
5	1987	g
6	1989	g
7	1993	f
8	1992	g
9	1994	g
10	1989	f
11	1994	g
12	1995	g

<b>RESULTS</b>	<b>ERGEBNISSE</b>
----------------	-------------------

*Testing for reactions to allergen preparations derived from *Culicoides nubeculosus**

Ten of the 12 horses tested showed no reaction to any of the four allergen concentrations (15, 5, 0.5 & 0.05 µg/ml) derived from *Culicoides nubeculosus* (Cn) known to induce histamine release of basophils from horses with Summer eczema in Germany. These 10 animals proved that no unspecific release was caused by any of these allergen concentrations used. However, two of the 12 animals (horses # 5 and 11) reacted clearly positive with the highest Cn-concentration (15 µg/ml) (Fig. 1).

**Fig. 1: Reaction of 12 adult horses in Iceland to *Culicoides nubeculosus* allergens**

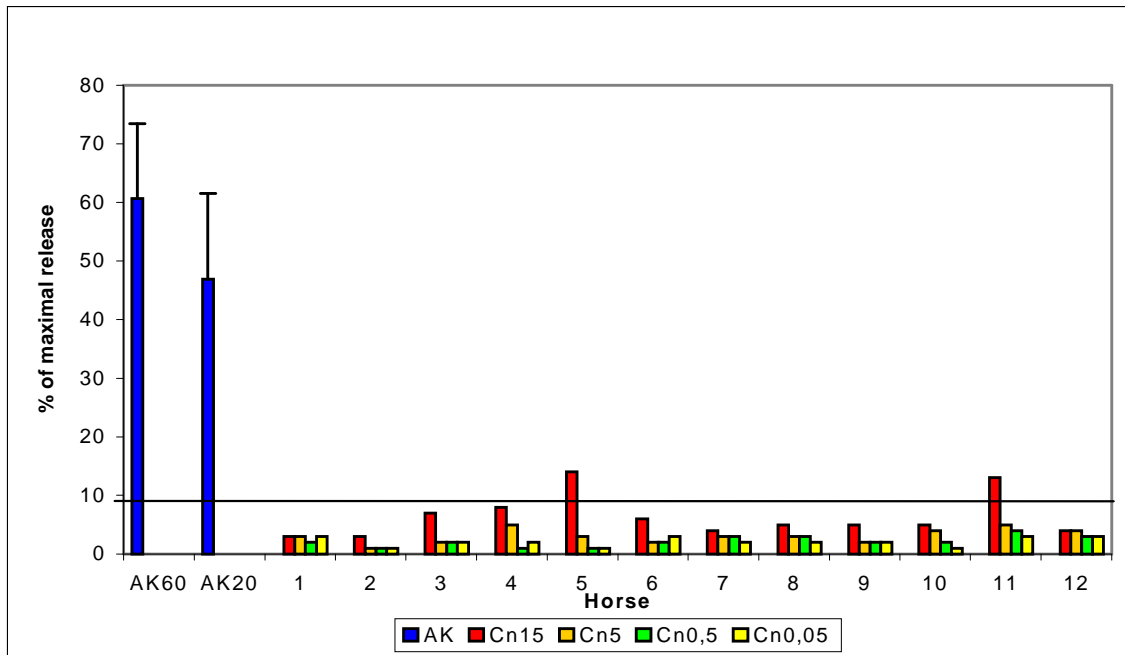
Twelve adult horses in Iceland were tested in a functional in vitro test (FIT) for sensitization of their basophils to 4 concentrations (Cn15, Cn5, Cn0,5, Cn0,05 = 15 - 0,05 µg/ml) of an allergen preparation derived from *Culicoides nubeculosus* (Cn). The first two (blue) columns display the mean histamine release plus standard error by basophils from all 12 horses upon incubation with a suitable antiserum anti horse immunoglobulins (Ak60 = 60 µg/ml and Ak20 = 20 µg/ml) (see Fig. 3). The horizontal line indicates the cut off above which reactions are positive.

*Prüfung der Pferde auf ihre Reaktion mit einer Allergenpräparation aus *Culicoides nubeculosus**

Von den 12 untersuchten Pferden reagierten 10 Tiere eindeutig negativ (Abb. 1) auf alle 4 Konzentrationen (15, 5, 0,5 & 0,05 µg/ml) einer Allergenpräparation aus *Culicoides nubeculosus*, die bei Sommerkezpferden in Deutschland starke Histaminfreisetzung auslöst. Diese 10 Tiere zeigen, dass die eingesetzten Allergenkonzentrationen keine unspezifischen Reaktionen auslösen. Um so erstaunlicher war der Befund, dass 2 der 12 Tiere (Pferde 5 & 11) immerhin mit der höchsten Allergenkonzentration (15 µg/ml) positiv reagierten, während sie in den anderen Verdünnungsstufen ebenfalls negativ blieben (Abb. 1).

**Abb. 1: Reaktion von 12 erwachsenen Pferden in Island mit *Culicoides nubeculosus***

Bei 12 Pferden in Island wurde mit einem FIT die Sensibilisierung ihrer basophilen Granulozyten gegen 4 Konzentrationen (Cn15, Cn5, Cn0,5, Cn0,05 = 15 - 0,05 µg/ml) an *Culicoides nubeculosus* (Cn)-Allergenpräparation geprüft. Die ersten beiden hohen Säulen stellen jeweils den Mittelwert und die Standardabweichung der Reaktion aller 12 Pferde mit dem Antiserum gegen Pferdeimmunoglobuline (Ak60 = 60 µg/ml und Ak20 = 20 µg/ml) dar (vgl. Abb. 3). Die horizontale Linie in der Grafik markiert das Niveau, ab dem eindeutig positive Reaktionen vorliegen.



### Testing for additional allergen preparations derived from various other insect species

As to *Culicoides nubeculosus* (Fig. 1) cells of all of the 12 horses were exposed to allergen preparations derived from seven additional insect species: *Stomoxys calcitrans*, *Ephemeroptera*, *Heterocera*, *Mosquito*, *Musca domestica*, *Dermatophagoides farinae* and *Solenopsis invicta*, all of which had been proven to react positively with horses in Germany when tested in the FIT. With four of the seven allergen preparations no reaction was seen in these 12 horses (data not shown). However, three (*Heterocera*, *Dermatophagoides farinae*, *Solenopsis invicta*) of the seven allergens induced in three of the horses (horse # 4, 7, & 8) a strong and in one (horse # 9) a weaker but clearly positive reaction (Fig. 2).

### Fig. 2: Reaction of 12 adult horses in Iceland to allergens from various insect species

Twelve adult horses in Iceland were tested in a functional in vitro test (FIT) for

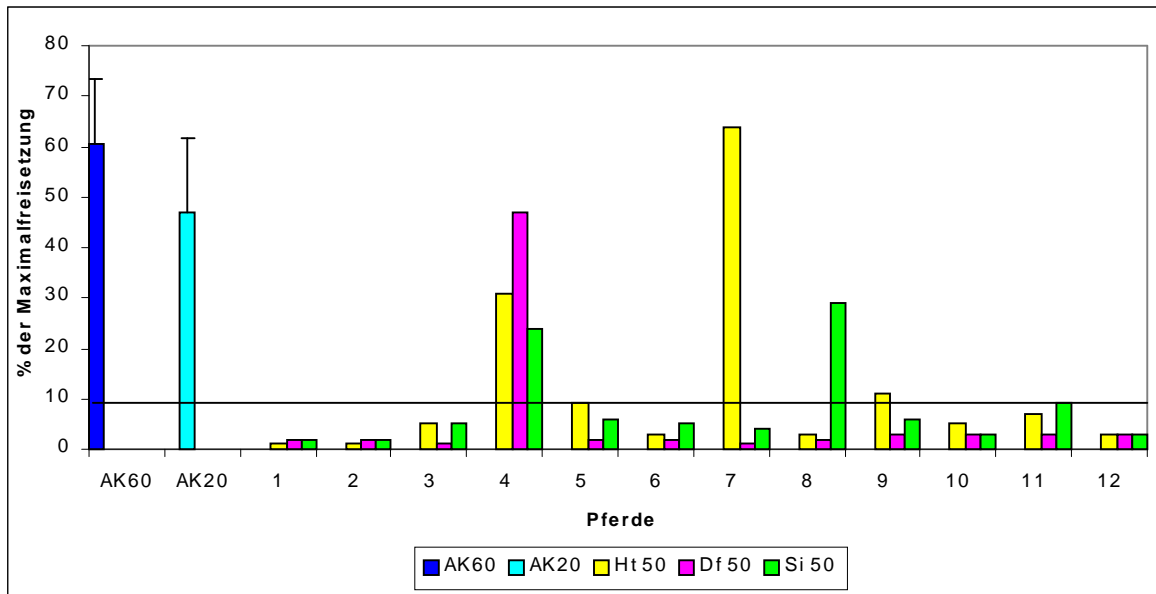
### Überprüfung der Reaktion der Pferde auf weitere Insektenallergenpräparationen

Unter identischen Bedingungen wie gegen *Culicoides nubeculosus* wurden die Zellen der 12 Tiere auch auf ihre Reaktion gegen Präparationen von 7 weiteren Insekten (*Stomoxys calcitrans*, *Ephemeroptera*, *Heterocera*, *Mosquito*, *Musca domestica*, *Dermatophagoides farinae* und *Solenopsis invicta*) geprüft. Gegen 4 dieser Allergenpräparationen zeigte keines der 12 Tiere eine Sensibilisierung (deshalb keine weitere Dokumentation). Gegen die drei übrigen Präparationen (*Heterocera*, *Dermatophagoides farinae*, *Solenopsis invicta*) war jedoch bei 3 der 12 Pferde eine sehr deutliche (Pferde 4, 7 & 8) und bei einem (Pferd 9) eine grenzwertig positive Reaktion zu messen (Abb. 2).

### Abb. 2: Reaktion von 12 erwachsenen Pferden aus Island mit verschiedenen Insektenallergenen

Bei 12 Pferden aus Island wurde in einem FIT die Sensibilisierung ihrer basophilen Granulozyten gegen Allergenpräparationen

<p>sensitization of their basophils to allergen preparations derived from seven different insect species. Horses were sensitized against three of them: Heterocera (Ht), Dermatophagoides farinae (Df) and Solenopsis invicta (Si). They were tested in different concentrations. Here only the highest concentrations (50 µg/ml) are documented. The first two (blue) columns display the mean histamine release plus standard error by basophils from all 12 horses upon incubation with a suitable antiserum anti horse immunoglobulins (Ak60 = 60 µg/ml and Ak20 = 20 µg/ml) (see Fig. 3). The horizontal line indicates the cut off above which reactions are positive.</p>	<p>7 verschiedener Insekten geprüft. Sensibilisierte Tiere fanden sich für Allergenpräparationen aus Heterocera (Ht), Dermatophagoides farinae (Df) und Solenopsis invicta (Si). Sie wurden in unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt. Dargestellt sind nur die Ergebnisse mit der jeweils höchsten Allergenkonzentration (50 µg/ml). Die ersten beiden Säulen stellen jeweils den Mittelwert und die Standardabweichung der Reaktion aller 12 Pferde mit dem Antiserum gegen Pferdeimmunoglobuline (Ak60 = 60 µg/ml und Ak20 = 20 µg/ml) dar. Die horizontale Linie in der Grafik markiert das Niveau, ab dem eindeutig positive Reaktionen vorliegen.</p>
<p>The reaction profiles document an individually different form of sensitization: The horses # 1 (Ht) and # 8 (Si) react strongly only with one allergen preparation but not with others, proving the different specificity of the antibodies sensitizing their basophils as well as species related selective antigens within these preparations. Horse # 4 is specifically sensitized to three allergens (Ht, Df, Si), which does not exclude one or more cross reactive components present in all three of these allergen preparations. However, none of these animals reacted positively with Culicoides allergen(s). (see Fig. 1)</p>	<p>Die Reaktionsprofile dokumentieren deutlich eine individuelle Sensibilisierung: Während die Pferde 7 und 8 jeweils nur auf eines der Allergene reagierten, dies aber sehr deutlich, zeigten sie gegen das stimulierende Allergen des anderen Tieres selbst keine Reaktion. Dies belegt die Spezifität der positiven Reaktionen, vermittelt durch die sensibilisierenden Antikörper auf den Basophilen des entsprechenden Tieres. Somit war Pferd 4 sogar gegen 3 Allergenpräparationen spezifisch sensibilisiert. Bemerkenswert ist auch, dass keines der hier positiv reagierenden Tiere gegen Strukturen auf Culicoides nubeculosus (vgl. Abb. 1) sensibilisiert war. Somit konnte im FIT bei 6 von 12 zufällig ausgewählten erwachsenen Islandpferden eine spezifische Sensibilisierung gegen 4 verschiedene Insekten nachgewiesen werden. Es blieb zu prüfen, wie es mit der generellen Sensibilisierung der übrigen 6 Pferde stand.</p>
<p>In summary: Six out of 12 randomly tested adult horses in Iceland showed specific sensitization against allergen preparations derived from 4 different insect species known to cause type I allergic diseases outside of Iceland.</p>	<p>Die Reaktionsprofile dokumentieren deutlich eine individuelle Sensibilisierung: Während die Pferde 7 und 8 jeweils nur auf eines der Allergene reagierten, dies aber sehr deutlich, zeigten sie gegen das stimulierende Allergen des anderen Tieres selbst keine Reaktion. Dies belegt die Spezifität der positiven Reaktionen, vermittelt durch die sensibilisierenden Antikörper auf den Basophilen des entsprechenden Tieres. Somit war Pferd 4 sogar gegen 3 Allergenpräparationen spezifisch sensibilisiert. Bemerkenswert ist auch, dass keines der hier positiv reagierenden Tiere gegen Strukturen auf Culicoides nubeculosus (vgl. Abb. 1) sensibilisiert war. Somit konnte im FIT bei 6 von 12 zufällig ausgewählten erwachsenen Islandpferden eine spezifische Sensibilisierung gegen 4 verschiedene Insekten nachgewiesen werden. Es blieb zu prüfen, wie es mit der generellen Sensibilisierung der übrigen 6 Pferde stand.</p>



### Testing for general sensitization of basophils from 12 adult horses in Iceland

In order to monitor the sensitization of basophils with functional antibodies irrespective of their specificity we applied an antiserum recognizing a broad range of heavy and light chains of equine immunoglobulins. In case there are sufficient Fc-receptor bound immunoglobulins on the basophils that antiserum should bridge them and, thus, trigger a histamine release instead of the allergens used above. Fig. 3 documents that all of the 12 horses were clearly sensitized with antibodies, including those horses which did not react with the allergens tested.

#### Fig. 3: General sensitization of 12 adult horses in Iceland

Twelve adult horses in Iceland were tested in a functional in vitro test (FIT) for general sensitization of their basophils. Therefore they were incubated with a suitable antiserum against horse immunoglobulins (Ak60 = 60 µg/ml and Ak20 = 20 µg/ml). The horizontal line indicates the cut off above which reactions are positive.

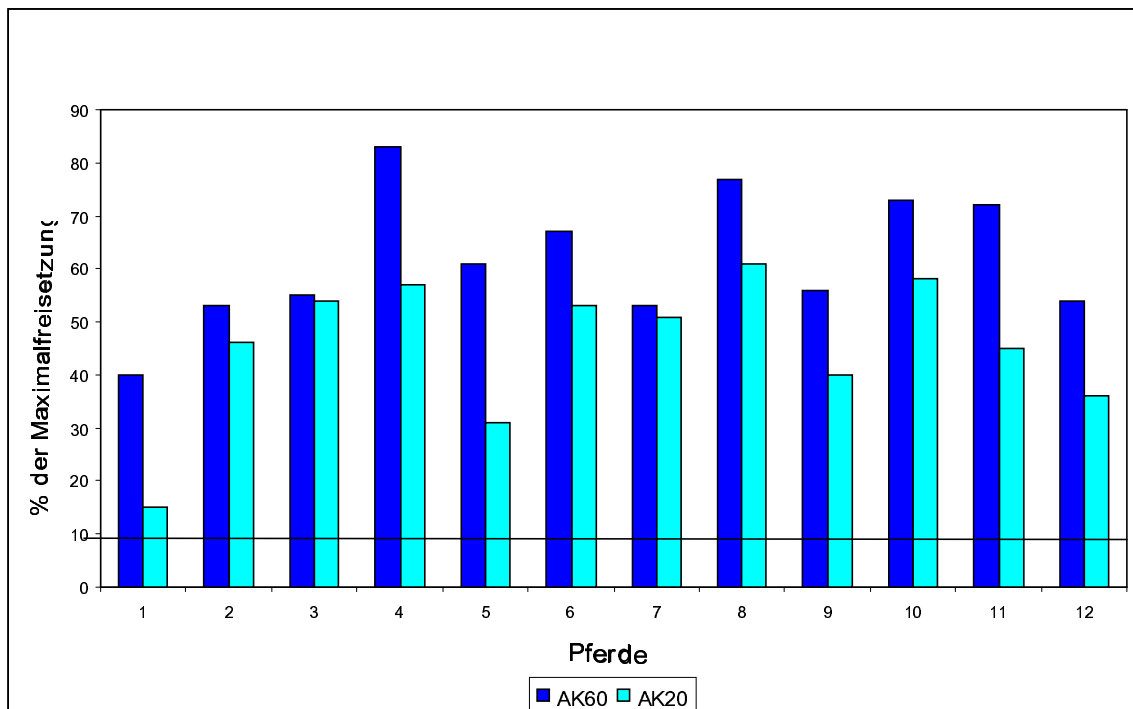
### Prüfung auf eine generelle Sensibilisierung der basophilen Granulozyten von 12 erwachsenen Pferden in Island

Um einen generellen Besatz basophiler Granulozyten mit funktionellen Antikörpern zu erfassen, ohne deren Antigenspezifität zu kennen, wurden die gleichen Zellpräparationen der 12 Spendertiere statt mit Allergenen (Abb. 1 & 2) mit einem geeigneten Antiserum, gegen Pferdeimmunoglobuline (H + L = schwere & leichte Ketten) in Konzentrationen von 60 und 20 µg/ml für ebenfalls 1 Std. bei 37 °C inkubiert. Wenn sich auf den Basophilen eine ausreichende Menge an Antikörpern befindet, die über Fc-Rezeptoren an die Membran gebunden sind, werden diese über das eingesetzte Antiserum miteinander vernetzt und so die Basophilen zur Histaminausschüttung aktiviert. Abb. 3 dokumentiert, dass alle 12 Islandpferde mit funktionellen Antikörpern deutlich sensibilisiert waren.

#### Abb. 3: Generelle Sensibilisierung von 12 erwachsenen Pferden aus Island

Bei den 12 Pferden aus Island wurde in

einem funktionellen In-vitro-Test die generelle Sensibilisierung ihrer basophilen Granulozyten mit einem Antiserum gegen Pferdeimmunglobuline (Ak60 = 60 µg/ml & Ak20 = 20 µg/ml) geprüft. Die horizontale Linie in der Grafik markiert das Niveau ab dem eindeutig positive Reaktionen vorliegen.



## DISCUSSION

It is not surprising that the basophils of horses in Iceland are sensitized with antibodies arming their "guard cells" for fighting any danger to the animals. However, by applying the functional in vitro test (FIT) for type I immune mechanism this is the first report documenting a general sensitization of horses in Iceland.

Less expected was the positive type I reaction of 6 out of 12 adult healthy horses with allergen preparations derived from insects not indigenous in Iceland. The individually different reaction pattern with different allergens confirm the specificity of their sensitization although they were kept

## DISKUSSION

Dass erwachsene Pferde auf Island ihre basophilen Granulozyten mit funktionellen Antikörpern beladen, um gegen erwartete "Störenfriede" wirkungsvoll Alarm schlagen zu können, war zu vermuten. Es wurde hier jedoch zum ersten Male konkret nachgewiesen. Somit erlaubt der funktionelle In-vitro-Test quantifizierbare Aussagen darüber, ob und in welchem Ausmaß ein Pferd generell sensibilisiert ist.

Weniger erwartet waren die positiven Reaktionen von 6 der 12 untersuchten Tiere auf Allergenpräparationen unterschiedlicher Insekten, die in Island nicht heimisch sind. Das qualitativ und quantitativ individuell

<p>under identical conditions on the same farm. Thus, six out of the twelve horses tested were essentially prepared to mount an allergic reaction towards one or several insect allergens included in this study. For the other 6 animals no such "predisposition" could be found at the time of testing. By applying the FIT this is the first time a specific sensitization against insect allergens could be documented for horses in Iceland.</p> <p>These results provoke at least three major questions:</p> <p><i>1. What was the specificity of sensitizing antibodies in the animals showing no reaction with the allergens tested?</i></p> <p>One should remember that the prime task of "guard cells" such as basophils and mast cells is the initiation of an efficient control of danger to the host. Their sensitizing antibodies are essential to appropriately recognize the danger they should "look for". Thus, in the allergen negative horses presumably most of the Fc-receptor bound antibodies detected on the membrane of basophils by the FIT for general sensitization were specific for real dangers such as e.g. parasites. However, it cannot be excluded that they were also sensitized for allergens not tested in this study. Inclusion of a more extended panel of allergens would have been more informative.</p> <p><i>2. Why none of the animals specifically sensitized to insect allergens showed any clinical sign of allergic symptoms?</i></p> <p>Sufficient sensitization of "guard cells" to a distinct allergen is an essential prerequisite for generating a full blown type I allergy towards the given allergen. However, it is not mandatory that such a sensitization is always followed by clinical symptoms. The form, amount and concentration of allergens coming in contact with the sensitized cells may be critical factors. Thus, essential sensitization against distinct insect allergens has apparently taken place in these horses as they were able to react positively in the FIT.</p>	<p>sehr verschiedene Reaktionsverhalten gegenüber den Allergenen - bei deutlicher genereller Sensibilisierung aller Tiere - bestätigt die Individualität der Immunreaktion auf Antigene. Da alle 12 untersuchten Tiere auf demselben Gestüt meist gemeinsam gehalten wurden, dürften sie eine vergleichbare Antigenexposition erfahren haben. Wie diese Tiere mit dem gesamten Spektrum ihrer immunologischen Möglichkeiten auf die sie umgebenden Insekten reagiert haben, wurde hier nicht geprüft. Diese Untersuchungen konzentrierten sich auf den entscheidenden Immunmechanismus, die Sensibilisierung der "Wächterzellen" am Beispiel der basophilen Granulozyten, ohne die eine Typ-I-Allergie nicht möglich ist. Wie die Ergebnisse zeigen, waren 6 der 12 Pferde prinzipiell vorbereitet, eine allergische Reaktion gegen eines oder mehrere (Pferd 4) der hier geprüften Allergene zu entwickeln. Die 6 negativ reagierenden Pferde wären zum Zeitpunkt der Untersuchung dazu nicht in der Lage gewesen. Somit war mit Hilfe des FIT erstmals eine spezifische Sensibilisierung gegen Insektenallergene bei Pferden auf Island nachweisbar.</p> <p>Zu diesen Befunden ergeben sich mindestens drei wichtige Fragen:</p> <p><i>1. Wogegen waren die membranständigen Antikörper der generell sensibilisierten Tiere gerichtet, die mit den hier geprüften Allergenen negativ reagierten?</i></p> <p>Hierbei muss daran erinnert werden, dass eine Sensibilisierung von "Wächterzellen" wie den Basophilen primär eine für das Individuum positive Vorbereitung zur Alarmierung des Immunsystems vor "Störenfriedern" bedeutet. Damit soll eine schnelle und erfolgreiche Abwehrreaktion initiiert werden. Somit könnte die nachgewiesene generelle Sensibilisierung für die Tiere ein hilfreicher Schutz z. B. gegen Darmparasiten bedeuten. Zum anderen kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich unter der nachgewiesenen</p>
---	---

<p>The lack of clinical symptoms of type I allergy in the presence of sensitizing antigens in Iceland might be due to either efficient control mechanisms which are broken down once these horses are exported or to insufficiently activating antigens in Iceland which are qualitatively and / or quantitatively "complemented" once the horses reach their new environment abroad.</p>	<p>dass sich unter der nachgewiesenen generellen Sensibilisierung auch allergisierende Antikörper gegen Allergene befanden, die hier nicht geprüft wurden.</p>
<p><i>3. How can these horses be sensitized to insect allergens which do not exist in Iceland?</i></p>	<p><i>2. Warum zeigte keines der offensichtlich sensibilisierten Tiere bisher klinische Symptome einer Allergie?</i></p>
<p>The allergen preparations tested were derived from eight different insect species which do not exist in Iceland (<i>Culicoides nubeculosus</i>, <i>Solenopsis invicta</i>) or only different subspecies of them are indigenous on that island. Thus, these insects could have never been in contact with the animals investigated. On the other hand Iceland is by far not free from blood sucking insects against which the immune system - including the "guard cells" - must protect their host. Based on these results the existence of cross reactive allergens or epitopes in indigenous insects in Iceland and those in countries the horses are exported to cannot be excluded. By means of the FIT we might have detected such cross reactive epitopes. Moreover, as the FIT is a kind of starting reaction of type I allergy in vitro the basophils of positively reacting animals must have been sensitized with a sufficient amount of antibodies recognizing specifically the allergen on one hand and mediating a detectable triggering of basophils on the other one. Therefore with the FIT may have some value for predicting functionally relevant "cross sensitization" of horses in Iceland by local insects which might predispose them for the development of clinical forms of type I allergy, including Summer eczema, after they have been exported. As the heterogeneous clinical picture of Summer eczema is not exclusively caused and maintained by <i>Culicoides</i> species but also by other insects a sensitization against a variety of insect</p>	<p>Die Sensibilisierung der "Wächterzellen" für ein bestimmtes Allergen ist eine unerlässliche Voraussetzung für die Ausprägung einer Typ-I-Allergie gegen dieses Allergen. Das bedeutet jedoch nicht, dass jede Sensibilisierung auch zu klinischen Symptomen führen muss. Es gibt eine Reihe von Mechanismen, die die Aktivierbarkeit und die Aktivierung sensibilisierter Basophilen und Mastzellen modulieren und regulieren. Dabei ist auch von Einfluss, in welcher Form, Häufigkeit und Menge das Allergen in den Organismus gelangt. Somit mag es bei den 6 spezifisch sensibilisierten Tieren zwar zu einer entscheidenden Bildung allergisierender Antikörper, unter den isländischen Verhältnissen jedoch bisher nicht zum Ausbruch klinischer Symptome gekommen sein.</p>
	<p><i>3. Wie kann es sein, dass Pferde auf Island gegen Insekten sensibilisiert sind, die dort nicht vorkommen?</i></p>
	<p>Die hier eingesetzten Allergenpräparationen wurden von 8 unterschiedlichen Insektenarten hergestellt, die teils auf Island gar nicht (<i>Culicoides nubeculosus</i>, <i>Solenopsis invicta</i>) oder in anderen Unterarten vorkommen. Somit konnten sie die Pferde auf Island auch nicht stechen. Andererseits ist Island nicht frei von stechenden Fluginsekten, gegen die sich das Immunsystem der Pferde dort sehr wohl wehren muss und tut. Auf Grund dieser Ergebnisse ist nicht auszuschließen, dass zwischen den stechenden Insekten in Island und solchen in Ländern, in denen aus Island importierte Pferde Sommer ekzem oder andere allergische Erkrankungen</p>

<p>allergens might be of relevance for that disease. The implications of such a "presensitization" or "cross sensitization" in Iceland described here can only be reliably evaluated, however, by a thorough investigation starting with a more extensive screening in Iceland with an extended panel of allergens. A sufficient number of FIT-positive as well as of FIT-negative horses should be followed up by FIT- and clinical parameters for at least two years upon export to different areas abroad. Such a study could provide answers to questions such as:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. What is the predictive value of a FIT result for horses in Iceland regarding the risk of developing a type I allergy abroad (functional predisposition)?</li> <li>2. Which influences abroad cause presensitized horses from Iceland to develop clinical type I allergic symptoms in their new environment - and can these be avoided (modulatory influences)?</li> <li>3. To what extent are horses imported from Iceland really susceptible to a primary sensitization abroad (becoming FIT positive) and to what extent does that lead to clinical symptoms (genetic disposition)?</li> </ol>	<p>entwickeln, gewisse gemeinsame oder ähnliche Strukturbereiche (Epitope) bestehen, die zu den hier beobachteten Reaktionen geführt haben. Da es sich aber nicht um irgendeine Form der Antikörperproduktion handelt, sondern um solche, die sich funktionell auf den Basophilen anlagern und deren Aktivierung vermitteln können, verdient dieser Befund besondere Aufmerksamkeit. Demnach wäre denkbar, dass einzelne Pferde durch heimische Insekten sogar eine Art "Kreuzsensibilisierung" erfahren, die sie für die Entwicklung einer Typ-I-Allergie nach dem Export besonders prädisponieren. Dies ließe sich durch eine geeignete Vorprüfung von Pferden auf Island und einer zuverlässigen Verlaufsuntersuchung im Exportland klären. Das schließt nicht aus, dass Pferde aus Island ohne eine derartige Prädisposition erst im Exportland von dortigen Insekten "immunisiert" werden und mit einer Typ-I-Allergie in Form des Sommereczems darauf antworten.</p>
<p><b>SUMMARY</b> Horses in Iceland are sensitized against insect-allergens.</p> <p>Peripheral blood basophils from 12 randomly selected adult healthy horses in Iceland were investigated for qualitative and quantitative sensitization with antibodies irrespective of their isotype. A functional in vitro test (FIT) for type I allergy was developed to obtain information about the degree of general and allergen-specific sensitization by monitoring the total and allergen-specific antibodies on basophils. All 12 horses investigated showed a high degree of general sensitization with antibodies capable of triggering mediator release. Moreover, 6 of these horses displayed individual patterns of specific</p>	<p><b>ZUSAMMENFASSUNG</b></p> <p>An 12 zufällig ausgewählten erwachsenen Pferden eines Gestütes in Südisland wurden mit Hilfe eines funktionellen In-vitro-Tests (FIT) erstmals sowohl der generelle als auch der spezifische Sensibilisierungsgrad ihrer basophilen Granulozyten qualitativ und quantitativ untersucht. Alle Pferde hatten auf ihrer basophilen Granulozyten reichlich sensibilisierende Antikörper gebunden, die eine Aktivierung dieser Zellen bis hin zur Mediatorfreisetzung vermitteln konnten (generelle Sensibilisierung). 6 dieser Pferde waren - individuell unterschiedlich - gegen 4 von 8 geprüften Insektenallergenpräparationen auch spezifisch sensibilisiert, davon 2 sogar gegen <i>Culicoides nubeculosus</i>, einem der</p>

<p>sensitization against 4 out of 8 allergens associated with various forms of equine allergic diseases in many parts of the world. Two of them showed positive reactions with allergen preparations from <i>Culicoides nubeculosus</i>, one of the midges inducing and boosting the Summer eczema ("sweet itch"). Whether such a subclinical sensitization in Iceland against allergens derived from insects not indigenous may be due to cross-reactivity with indigenous insect species in the country they are exported to and may predispose horses for the development of allergic diseases such as the Summer eczema upon export awaits elucidation.</p>	<p>Auslöser des Sommerkzems. Ob es sich hierbei um eine "Kreuzsensibilisierung" handelt, die diese Tiere nach dem Export für die Entwicklung einer allergischen Erkrankung wie das Sommerkzem besonders prädisponieren, bleibt zu prüfen.</p>
---	---

### Literatur

1. Hesselholt, M. & Agger, N.: Sommerkzem hos hest. Dansk Vet. Tidsskrift, 60, 715 - 720 (1977) [English summary]
2. Illies, J.: Ceratopogonidae. In: Limnofauna Europea. Hrsg.: J. Illies, Fischer-Verlag, Stuttgart & New York (1978)
3. Riek, R.F.: Studies on allergic dermatitis (Queensland itch) of the horse: The aetiology of the disease. Austr. J. agr. Res., 5, 109 - 129 (1954)
4. Becker, W.: Über Vorkommen, Ursachen und Behandlung des sogenannten "Sommerkzems" bei Ponys. Ergebnisse einer Umfrage. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 77, 120 - 127 (1964)
5. Baker, K.P. & P.J. Quinn: A report on clinical aspects and histopathology of sweet itch. Equine Vet. J., 10, 243 - 248 (1978)
6. Quinn, P.J., K.P. Baker, & A.N. Morrow: Sweet itch: Response of clinical normal and affected horses to intradermal challenge with extracts of biting insects. Equine Vet. J., 15, 266 - 272 (1983)
7. Bravermann, Y.: Preferred landing sites of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) on a horse in Israel and its relevance to summer seasonal recurrent dermatitis (sweet itch). Equine Vet. J., 20, 426 - 429 (1988)
8. Kurotaki, T., K. Narayama, T. Oyamada, H. Yoshikawa, & T. Yoshikawa: Immunological studies on equine insect hypersensitivity ("Kasen") in Japan. J. comp. Path., 110, 145 - 152 (1994)
9. Halldorsdóttir, S. & HJ. Larsen: An epidemiological study of summer eczema in Icelandic horses in Norway. Equine Vet. J., 23, 296 - 299 (1991)
10. Matthews, A.G., P. Inlah, & E.A. McPherson: A regain-like antibody in horse serum: Occurrence and some biological properties. Vet. Res. Commun., 6, 13 - 23 (1983)
11. Ishizaka, T. & K. Ishizaka: Activation of mast cells for mediator release through IgE receptors. Progr. Allergy, 34, 188 - 243 (1984)
12. Janeway, Ch.A., P. Travers, M. Walport, & J.D. Capra: Immunobiology. 4th edition. Elsevier Science, London, (1999)
13. Overesch, G., B. Wagner, R. Radbruch, & W. Leibold: Organization of the equine immunoglobulin heavy chain constant region genes. II. Equine c<sub>1</sub>-genes. Vet. Immunol. Immunopathol., 66, 273 - 287 (1998)

14. Wagner, B., G. Overesch, A.S. Sheoran, M.A. Holmes, C. Richards, W. Leibold, & A. Radbruch: Organization of the equine immunoglobulin heavy chain constant region genes. III. Alignment of c, c g, c\_, and c\_ genes. *Immunobiology*, 199, 105 - 119 (1998)
15. Kaul, S., M. Petermann, & W. Leibold: Type I allergy in horses: Development of a functional in vitro assay for qualitative and quantitative determination of basophil sensitization. Submitted for publication.
16. Andersen, G.S., P. Beiton, & N. Kleider: Hypersensitivity of horses in British Columbia to extracts of native and exotic species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Med. Entomol.*, 30, 657 - 663 (1993)
17. Marti, E., A. Urwyler, M. Neuenschwander, R. Eicher, D. Meier, A.L. de Weck, H. Gerber, S. Lazary, & C.A. Dahinden: Sulfidoleukotriene generation from peripheral blood leukocytes of horses affected with insect bite dermal hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 71, 307 - 320 (1999)