

**Inhalt:**

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Die Familie der Herpesviren.....	1
1.2	Equine Alphaherpesviren .....	3
1.3	Die Unterfamilie der Gammaherpesviren .....	6
1.3.1	Biologie .....	6
1.3.2	Vermehrungszyklen im Wirt .....	7
1.3.3	Epidemiologie.....	8
1.4	Die Equinen Gammaherpesviren .....	9
1.4.1	Biologie .....	10
1.4.2	Epidemiologie.....	10
1.4.3	Latenz .....	12
1.4.4	Immunantwort auf eine EHV-2-Infektion .....	13
1.4.5	Klinische Relevanz von EHV-2.....	15
	Beteiligung an respiratorischen Erkrankungen.....	17
	Leistungsschwäche-(„poor performance“)-Syndrom .....	18
	Beteiligung an Augenerkrankungen .....	18
	Experimentelle Infektionsstudien.....	20
<b>2</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>24</b>
3.1	Materialnachweis .....	24
3.2	Testgruppen.....	25
3.2.1	Natürlich infizierte Pferde .....	25
3.2.2	Experimentell infizierte Mäuse .....	26
3.3	Viren und Zellen.....	27
3.3.1	Zellkulturen.....	28
3.3.2	Virusvermehrung.....	29

3.3.3	Virustitration .....	29
3.3.4	Wachstumskinetik .....	30
3.3.5	Isolierung und Reinigung von DNA aus Virionen .....	31
3.4	Serologische Tests.....	33
3.4.1	Neutralisationstest (NT) .....	33
3.4.2	Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT) .....	34
3.5	Isolierung von equinen und murinen mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) .....	35
3.5.1	DNA-Isolierung aus PBMC.....	35
3.6	Aufarbeitung von postmortem Geweben.....	36
3.6.1	DNA-Isolierung aus Geweben.....	36
3.7	Gewinnung von Tupferproben.....	37
3.7.1	DNA-Isolierung aus Tupfern.....	38
3.8	Virusnachweis in Tupfern, PBMC und Geweben .....	38
3.8.1	Plaquetest .....	38
3.8.2	Kokultivierung .....	39
3.8.3	Polymerase Kettenreaktion (PCR) .....	40
3.9	Virusspezifikation .....	44
3.9.1	Restriktionsenzymanalyse (REA).....	44
3.9.2	Analytische Gelelektrophorese .....	44
3.9.3	Southern-Transfer .....	45
3.9.4	Nichtradioaktive Markierung von DNA mit Digoxigenin-11-dUTP .....	46
3.9.5	Southernhybridisierung .....	48
3.10	Statistische Methoden.....	50
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>52</b>
4.1	Untersuchung von Blut- und Tupferproben natürlich infizierter Pferde aus der Diagnostik des Institutes für Virologie auf EHV-2 zur Klärung der Bedeutung dieses Virus bei der Keratokonjunktivitis des Pferdes .....	53

---

4.2	Untersuchung von Pferden mit und ohne Augenerkrankungen aus der Klinik für Pferde (TiHo) auf EHV .....	55
4.2.1	Einteilung und Zusammensetzung der Test- und Kontrollgruppe.....	56
4.2.2	Klinische Untersuchung der Test- und Kontrollgruppe .....	57
4.2.3	Serologischer, virologischer und molekularbiologischer Nachweis von EHV-2 .....	57
4.2.3.1	Nachweis von EHV-2-spezifischen Antikörpern in Blutproben .....	62
4.2.3.2	Nachweis von EHV-2 in Probenmaterial mittels nPCR .....	64
	Untersuchung von PBMC.....	64
	Untersuchung von Tupferproben.....	66
	Größenunterschiede der EHV-2-nPCR Fragmente.....	67
4.2.3.3	Virusisolierung aus Probenmaterial.....	68
	Virusanzucht aus Tupferproben .....	69
	Kokultivierung von PBMC.....	69
4.2.4	Virologische und molekularbiologische Charakterisierung der EHV-2-Isolate aus den PBMC .....	70
4.2.4.1	Vergleich der Morphologie von Plaques.....	71
4.2.4.2	Charakterisierung der Wachstumskinetik einzelner EHV-2-Stämme .....	73
4.2.4.3	Restriktionsenzymanalyse.....	75
	Spezifizierung der Isolate durch Southern-Hybridisierung .....	75
	Verifizierung der Isolate durch nPCR als EHV-2 .....	79
4.2.5	Ausschluß von EHV-5 in EHV-2-positiven Proben .....	81
4.2.5.1	Untersuchung von PBMC auf EHV-5 mittels nPCR .....	81
4.2.5.2	Serologische Untersuchung von Blutproben auf EHV-5.....	81
4.2.6	Überprüfung einer Beteiligung von EHV-1 und -4 an Augenerkrankungen .....	82
4.2.6.1	Serologische Untersuchungen von Blutproben mittels IFT und NT.....	82
4.2.6.2	Untersuchung von PBMC und Tupfern auf EHV-1 und -4 mittels nPCR .....	85
4.3	Untersuchung des Gewebetropismus von EHV-2 .....	87
4.3.1	Nachweis in nervalen, lymphatischen und respiratorischen Geweben.....	87
4.3.2	Detektion von EHV-2 mittels nPCR in Augengeweben von Schlachtpferden....	90
4.4	EHV-2-Mausmodell .....	91

---

4.4.1	Versuchsbedingungen, Probenentnahme und Untersuchungsmaterial .....	91
4.4.2	Gewebetropismus verschiedener EHV-2 Isolate .....	92
4.4.3	Charakterisierung des Infektionsstatus .....	93
4.4.3.1	Kokultivierung und Virusanzucht von Geweben .....	93
4.4.3.2	Reaktivierungsversuch durch Immunsuppression .....	94
4.4.4	Untersuchung der Bedeutung von PBMC für den Infektionsverlauf .....	94
4.4.4.1	Bedeutung einzelner Lymphozytensubpopulationen für Verbreitung und Latenz von EHV-2 nach intranasaler Infektion .....	94
4.4.4.2	Einfluß des Applikationsweges auf die Beteiligung von PBMC am Infektionsverlauf .....	98
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>100</b>
5.1	Bedeutung und Diagnostik von EHV-2 bei Keratokonjunktividen des Pferdes .....	100
5.2	Untersuchung des Gewebetropismus von EHV-2 im Pferd .....	110
5.3	Das EHV-2 Mausmodell .....	112
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>121</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>125</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>146</b>
8.1	Detaillierte Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse .....	146
8.2	Liste der eigenen Veröffentlichungen .....	165
8.3	Selbständigkeitserklärung .....	166
8.4	Danksagung .....	167
8.5	Lebenslauf .....	169