

Inhalt	Seite
Abkürzungen	5
Einleitung	8
1. Literaturübersicht	9
1.1 Die Familie der Herpesviren	9
1.2 Equine Alphaherpesviren	11
1.2.1 Geschichte von EHV-1/-4 und EHV-9	11
1.2.2 Weitere Herpesviren bei Equiden	11
1.3 Klinisch manifeste Verlaufsformen der EHV-1 und -4 Infektionen beim Pferd	12
1.3.1 Infektion des Respirationstraktes	12
1.3.2 Virämie	13
1.3.3 EHV bedingte Aborte	13
1.3.4 Die neurologische Verlaufsform der EHV-1 Infektion des Pferdes	14
1.4 Equines Herpesvirus Typ 9 (EHV-9)	22
1.5 Latenz	23
1.6 Immunologie	24
1.7 Impfung	25
1.8 Problemstellung	28
2. Material und Methoden	29
2.1 Materialnachweis	29
2.2 Probengut	30
2.2.1 Blutserum und Plasma von natürlich infizierten Pferden	30
2.2.2 <i>Post mortem</i> Gewebematerial von Pferden	30
2.2.3 Gewebebeschnitte von Pferden und Mäusen	31
2.2.4 Equines Herpesvirus Typ 9 (EHV-9);	31

Inhalt

2.3 Viren und Zellen	31
2.3.1 Zellkultur	32
2.3.2 Virusvermehrung	33
2.3.3 Virustitration	34
2.3.4 Virusanzucht	35
2.4 Serologische Tests	35
2.4.1 Neutralisationstest (NT)	35
2.4.2 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) zum EHV-1 Immunkomplexnachweis	36
2.4.3 Herstellung der Virusantigen-Kontrolle für den ELISA	38
2.4.4 Immunperoxidase Technik (APAPP)	39
2.5 Aufbereitung von <i>post mortem</i> Material	39
2.5.1 Virus DNA Isolierung aus Gewebeproben	39
2.5.2 Virus DNA Isolierung aus Paraffinschnitten	40
2.6 Polymerase Kettenreaktion (PCR)	40
2.6.1 Detektion von EHV-1 und -4 DNA mittels PCR	41
2.6.2 Etablierung einer EHV-9 spezifischen nPCR	42
2.6.3 Analytische Gelelektrophorese	43
2.7 DNA Detektion mittels <i>in situ</i> -Hybridisierung und Southern Hybridisierung	44
2.7.1 Reinigung und Isolierung von Virus DNA	44
2.7.2 DNA Sondenmarkierung mit Digoxigenin dUTP	45
2.7.3 Dot Blot	47
2.7.4 <i>In situ</i> -Hybridisierung	48
2.7.5 Southern Blot	50
2.7.6 Southern Hybridisierung	51
2.8 Restriktionsenzymanalyse	52

Inhalt

2.9 Proteinchemische und immunologische Methoden	53
2.9.1 Präzipitation von Serumproben mit Polyethylenglykol (PEG)	53
2.9.2 SDS Polyacrylamidgelektrophorese (PAGE)	54
2.9.3 Silberfärbung	55
2.9.4 Western Blot	56
2.10 Statistische Methoden	58
3. Ergebnisse	59
3.1 Etablierung eines ELISAs zur Bestimmung zirkulierender Immunkomplexe im Blutserum	60
3.2 Antikörpertiter gegen EHV-1 im Neutralisationstest	62
3.3 EHV-1 Immunkomplexe bei Pferden mit und ohne Ataxie	63
3.4 EHV-1 Immunkomplexe bei geimpften und nicht geimpften Pferden	66
3.5 EHV-1 Immunkomplexe in Abhängigkeit vom Alter der Tiere	68
3.6 Jahreszeitenverteilung, Rasse und Geschlecht	70
3.7 Nachweis von EHV-1 Antigen im Western Blot (Immuno Blot) aus PEG Präzipitaten	72
3.8 EHV-1/-4 Virus DNA Nachweis aus PEG präzipitierten Serumproben	76
3.9 Nachweis von EHV-1 und -4 DNA in <i>post mortem</i> Geweben von adulten Pferden per nPCR	77
3.10 Nachweis von EHV-1 DNA in ZNS Geweben künstlich infizierter Mäuse per <i>in situ</i> -Hybridisierung (ISH)	79
3.11 Nachweis von EHV-1 DNA in ZNS Geweben experimentell und natürlich infizierter Pferde per <i>in situ</i> -Hybridisierung	83
3.12 Tropismus von EHV-1 in Geweben des ZNS und in weiteren Organen von zwei abortierten Feten	87
3.12.1 REA von zwei isolierten EHV-1 Stämmen aus abortierten Feten	92

Inhalt

3.13 Nachweisverfahren von EHV-9 und Differenzierung des neurotropen Alphaherpesvirus von EHV-1/-4	94
3.13.1 Etablierung einer EHV-9 spezifischen nested Polymerase Kettenreaktion (EHV-9 PCR)	94
3.13.2 Wachstumsvergleich von EHV-1, -4, und -9 auf verschiedenen Zelllinien	95
3.13.3 Restriktionsenzymanalyse und Southern- Hybridisierung der Virusstämme EHV-1 und EHV-9	97
4. Diskussion	99
4.1 Beurteilungen des ELISAs zum Nachweis von zirkulierenden Immunkomplexen aus Serumproben	100
4.2 Die Bedeutung von EHV-1 bedingten zirkulierenden Immunkomplexen	101
4.3 Tropismus von EHV-1 in Geweben des ZNS	103
4.3.1 Gewebetropismus von EHV-1 im ZNS bei Pferden	103
4.3.2 Gewebetropismus von EHV-1 im ZNS bei Mäusen	104
4.3.3 Tropismus von EHV-1 in fetalen Gewebeproben von Pferden	105
4.4 Zur Bedeutung des equinen Herpesvirus Typ 9 (EHV-9)	106
5. Zusammenfassung	109
6. Summary	110
7. zitierte Literatur	113
8. Anhang	127
9. Danksagung	135
10. Selbstständigkeitserklärung	136