

---

## **INHALT**

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>DIAGRAMMVERZEICHNIS .....</b>	<b>IX</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>X</b>
<b>ABKÜRZUNGEN .....</b>	<b>XI</b>
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Allgemeiner Überblick über die Familie der Herpesviren.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Gammaherpesviren und deren wichtigste Vertreter bei den verschiedenen Spezies .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Die equinen Gammaherpesviren EHV-2 und EHV-5.....</b>	<b>6</b>
1.3.1 Taxonomische Stellung, biologische Eigenschaften und Epidemiologie .....	6
1.3.2 Latenzverhalten und Gewebetropismus.....	9
1.3.3 Klinische Bedeutung .....	10
<b>1.4 EHV-2 und seine Rolle bei der Keratokonjunktivitis des Pferdes .....</b>	<b>12</b>
<b>1.5 Bedeutung von immunsupprimierenden Mechanismen und immunpathologischen   Prozessen bei der Entstehung von entzündlichen Augenerkrankungen.....</b>	<b>15</b>
1.5.1 Aufbau und Funktion des Immunsystems einschließlich der auf virale Infektionen erfolgenden Immunantwort .....	15
1.5.2 Diagnostische Möglichkeiten und Verhältnisse beim Pferd .....	17
1.5.3 Immunpathologische Prozesse bei okulären Infektionen mit Herpesviren .....	19
1.5.4 Immunsupprimierende Mechanismen bei Herpes- und anderen Viren.....	20
<b>1.6 Rolle von viralen und bakteriellen Co-Faktoren bei entzündlichen   Augenerkrankungen der Kornea und/oder Konjunktiva.....</b>	<b>22</b>
1.6.1 Viral bedingte Kerato- und/oder Konjunktivitiden.....	22
1.6.2 Bakteriell bedingte Kerato- und/oder Konjunktivitiden .....	24
<b>2 ZIELSETZUNG DER ARBEIT .....</b>	<b>26</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>28</b>

---

<b>3.1</b>	<b>Materialnachweis</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2</b>	<b>Patientengut</b> .....	<b>29</b>
3.2.1	Studie mit dem Labor Laboklin .....	29
3.2.2	Diagnostikeinsendungen .....	29
3.2.3	Gewebe und Tupferproben von geschlachteten Pferden .....	30
<b>3.3</b>	<b>Viren und Zellen</b> .....	<b>30</b>
3.3.1	Zellkulturen .....	31
3.3.2	Virusvermehrung .....	31
3.3.3	Isolierung und Reinigung von DNA aus Virionen.....	32
3.3.4	Virustitration.....	33
<b>3.4</b>	<b>Gewinnung von Cytobrush- bzw. Augentupferproben</b> .....	<b>33</b>
3.4.1	DNA-Isolierung aus Cytobrush- und Augentupfern mit oder ohne Transportmedium ....	34
<b>3.5</b>	<b>Gewinnung von Blutproben und DNA-Präparation von postmortem Geweben</b> .....	<b>34</b>
3.5.1	Isolierung von equinen mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBL) .....	35
3.5.2	DNA-Isolierung aus PBL.....	35
3.5.3	DNA-Isolierung aus Geweben .....	35
<b>3.6</b>	<b>Virus-DNA-Nachweis in Tupfern bzw. Cytobrushproben, PBL, Geweben und Paraffinschnitten mittels Polymerasekettenreaktion</b> .....	<b>36</b>
3.6.1	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	36
3.6.2	Analytische Gelelektrophorese.....	38
<b>3.7</b>	<b>Erstellung eines „Immunstatus“ bei Pferden</b> .....	<b>39</b>
3.7.1	Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen.....	39
3.7.2	Erstellung eines Differentialblutbildes.....	41
<b>3.8</b>	<b>Serologische Methoden</b> .....	<b>42</b>
3.8.1	Neutralisationstest (NT).....	42
3.8.2	Immunfluoreszenztest (IFT).....	43
<b>3.9</b>	<b>Virus-DNA-Detektion mittels <i>In situ</i>-Hybridisierung</b> .....	<b>44</b>
3.9.1	Histologische Einbettung von Gewebeproben .....	44
3.9.2	DNA-Präparation aus Paraffinschnitten .....	44
3.9.3	Zytozentrifugation zur Herstellung von Positiv- und Negativkontrollen für die <i>In situ</i> -Hybridisierung .....	45
3.9.4	Markierung von DNA mit Digoxigenin-11-dUTP .....	46
3.9.5	Dot Blot zur Überprüfung einer Digoxigenin-markierten Sonde .....	47
3.9.6	<i>In situ</i> -Hybridisierung .....	48

---

<b>3.10</b>	<b>Statistische Methoden .....</b>	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>52</b>
<b>4.2</b>	<b>Erstellung eines Immunstatus von augenkranken und -gesunden Pferden .....</b>	<b>52</b>
4.2.1	Ergebnisse der virologischen Untersuchungen: Einteilung der Test- und Kontrollgruppe .....	53
4.2.2	Korrelation der nPCR-Ergebnisse mit denen der Durchflusszytometrie und des Differentialblutbildes .....	56
4.2.2.1	Ergebnisse der Durchflusszytometrie bei EHV-2-nPCR positiven und negativen kranken und gesunden Pferden .....	56
4.2.2.2	Ergebnisse des Differentialblutbildes bei EHV-2-nPCR positiven und negativen kranken und gesunden Pferden .....	58
<b>4.3</b>	<b>PCR-Untersuchung von diagnostischen Blut- und Tupferproben augenkranker und augengesunder Pferde auf Doppelinfektionen mit EHV-2 und/oder EHV-5, EAdV-1, Chlamydien und Mykoplasmen .....</b>	<b>60</b>
4.3.1	Untersuchungen auf EHV-2 .....	60
4.3.2	Untersuchungen auf Doppelinfektionen von EHV-2 und EHV-5 .....	62
4.3.3	Ergebnisse der Untersuchungen von Pferden mit und ohne Augenerkrankung auf EAdV-1 .....	66
4.3.3.1	Aufbau einer nested PCR zum Nachweis des equinen Adenovirus Typ 1 (EAdV-1).....	66
4.3.3.2	Untersuchungen auf EAdV-1 .....	66
4.3.4	Ergebnisse der Untersuchungen von Augentupfern auf Chlamydien und Mykoplasmen .....	67
<b>4.4</b>	<b>Ergebnisse der Untersuchungen zum Gewebetropismus von EHV-2 und EHV-5 im Auge .....</b>	<b>67</b>
4.4.1	Ergebnisse der einzelnen Gewebe- und Tupferproben mittels der Polymerasekettenreaktion .....	68
4.4.2	Ergebnisse der <i>In situ</i> -Hybridisierung .....	69
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>75</b>

---

<b>5.1</b>	<b>Evaluierung der Rolle immunsupprimierender Mechanismen des EHV-2 bei der equinen Keratokonjunktivitis .....</b>	<b>75</b>
<b>5.2</b>	<b>PCR-Untersuchung von diagnostischen Blut- und Tupferproben augenkranker und augengesunder Pferde auf Doppelinfektionen mit EHV-2 und/oder EHV-5, EAdV-1, Chlamydien und Mykoplasmen .....</b>	<b>80</b>
<b>5.3</b>	<b>Untersuchungen zum Gewebe- und Zelltropismus des EHV-2 und des EHV-5 im Augengewebe .....</b>	<b>84</b>
<b>5.4</b>	<b>Schlussfolgerungen und Ausblick .....</b>	<b>87</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>90</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>92</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>94</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>114</b>
<b>9.1</b>	<b>Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse im Detail .....</b>	<b>114</b>
9.1.1	Ergebnisse der Studie mit dem Labor Laboklin .....	114
9.1.2	Ergebnisse der nPCR-Untersuchungen der Diagnostikeinsendungen .....	118
9.1.3	Detaillierte Ergebnisse der nPCR-Untersuchungen auf EHV-2 und EHV-5 an den Augengeweben und Tupferproben von Schlachthopferden (S1-S14).....	120
<b>9.2</b>	<b>Liste der eigenen Veröffentlichungen .....</b>	<b>121</b>
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>122</b>
<b>11</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>124</b>
<b>12</b>	<b>SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>125</b>