

6 Zusammenfassung

Die EHV-2 bedingte equine Keratokonjunktivitis – Evaluierung der Rolle immunologischer Mechanismen sowie viraler und bakterieller Co-Faktoren

Eine Beteiligung des Equinen Herpesvirus Typ 2 (EHV-2) bei verschiedenen Formen entzündlicher Erkrankungen der Kornea und/oder Konjunktiva des Pferdes ist mehrfach belegt, die genaue Pathogenese der equinen Keratokonjunktivitis ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Im Mittelpunkt der hier vorgelegten Arbeit stand daher die Frage, ob EHV-2-infizierte augenkranken Pferde möglicherweise einen von der Norm abweichenden zellulären Immunstatus aufweisen. Die dabei erzielten Ergebnisse sollten Rückschlüsse auf die Pathogenese der Erkrankung möglicherweise beeinflussende immunsupprimierende Mechanismen des EHV-2 zulassen. Weiterhin sollte überprüft werden, ob andere virale und/oder bakterielle Erreger eine Rolle bei der equinen Keratokonjunktivitis spielen. Schließlich sollten die Studien zum Gewebe- und Zelltropismus des EHV-2/-5 im Auge einen weiteren Beitrag zum Verständnis der Pathogenese der Erkrankung leisten.

Die Untersuchungen zum zellulären Immunstatus wurden vergleichend bei zehn augenkranken und 21 klinisch gesunden Pferden durchgeführt. Aus Blutproben isolierte PBL und Augentupferproben wurden hierfür einerseits mittels EHV-2 spezifischer nested PCR untersucht. Andererseits wurden serologische Untersuchungen durchgeführt und der zelluläre Immunstatus jedes Pferdes mittels Durchflusszytometrie und Differentialblutbildanalyse ermittelt.

Bei dieser Studie wurde EHV-2 sowohl bei augenkranken als auch bei klinisch gesunden Pferden aus Blut- und Augentupferproben mittels nPCR bzw. Serologie nachgewiesen, ein signifikanter Zusammenhang zwischen EHV-2 und dem Merkmal „augenkrank“ gelang hingegen mit keiner der genannten Methoden. Beim zellulären Immunstatus war einzig die Anzahl der B-Lymphozyten bei augengesunden EHV-2 positiven Pferden im Vergleich zu augenkranken bzw. -gesunden EHV-2 negativen Pferden signifikant häufiger erniedrigt. Dies könnte ein erstes Indiz dafür sein, dass eine EHV-2 Infektion oder Reaktivierung die B-Zellzahl messbar reduzieren kann. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs können jedoch erst weiterführende Untersuchungen Aufschluss darüber erbringen, inwieweit diese individuellen Unterschiede im Immunsystem entscheidend Einfluss nehmen auf den Ausbruch einer EHV-2-induzierten Keratokonjunktivitis.

Zur Klärung der Frage, ob virale oder bakterielle Erreger als Co-Faktoren bei der EHV-2 bedingten equinen Keratokonjunktivitis beteiligt sind, wurden von einer zweiten Studienpopulation (bestehend aus 68 augenkranken und 32 klinisch gesunden Pferden) entnommene

Augentupfer- und Blutproben zunächst auf EHV-2 und anschließend auch auf EHV-5 mittels nPCR untersucht. Stichprobenartig wurden Tupfer von Test- und Kontrolltieren schließlich noch mittels erregerspezifischer PCR auf EAdV-1, Chlamydien und Mykoplasmen untersucht. Die nPCR zum Nachweis von EAdV-1 war zuvor im Rahmen der hier vorgelegten Arbeit etabliert worden.

Signifikante Unterschiede zwischen augenkranken und gesunden Pferden bei der Häufigkeit des Nachweises von EHV-2 aus Tupfer- bzw. Blutproben wurden auch bei dieser Studienpopulation nicht festgestellt. Auch Hinweise auf eine Beteiligung von EAdV-1 oder Chlamydien und Mykoplasmen bei entzündlichen Erkrankungen der Kornea und/oder Konjunktiva des Pferdes ergaben sich nicht. Wahrscheinlich ist hingegen, dass EHV-5 an der Pathogenese der equinen Keratokonjunktivitis beteiligt ist, da im kranken Auge EHV-5-Genom im Vergleich zu EHV-2 häufiger detektiert wurde, wenn auch wiederum nicht signifikant mit dem Merkmal „augenkrank“ korrelierend.

Die Studien zum Gewebe- und Zelltropismus wurden an verschiedenen Augengeweben (Konjunktiva, Kornea, Nervus opticus und Retina) sowie Cytobrushtupferproben durchgeführt, die *post portem* von 14 gesund geschlachteten Pferden entnommen wurden. Der Nachweis von EHV-2 und -5-Genom mittels nPCR gelang hierbei im Cytobrushtupfer sowie im Augengewebe ausschließlich in der Konjunktiva, wenn auch mit einer sehr niedrigen Nachweisrate (Anteil EHV-2 bzw. -5 positiver Tupfer: jeweils 11%; Anteil EHV-2 bzw. -5 positiver Konjunktiven: 7 bzw. 8%).

Bei der anschließend exemplarisch am EHV-2-nPCR positiven Konjunktivalgewebe eines Pferdes und zuvor im Rahmen der hier vorgelegten Arbeit etablierten *In situ*-Hybridisierung konnte schließlich gezeigt werden, dass EHV-2 im Augengewebe in der Bindegewebsschicht der Conjunctiva palpebralis präsent ist und hier möglicherweise in spezifischen Immunzellen in Latenz geht.