

6. Zusammenfassung

Die Hämorrhagische Enteritis der Puten, ausgelöst durch ein aviäres Adenovirus (HEV) stellt ein großes ökonomisches Problem der Geflügelproduktion dar. Die Infektion kann zu Krankheitsverläufen mit wechselnden Mortalitäts- und Morbiditätsraten führen, aber auch subklinisch eine Immunsuppression hervorrufen. Große Bedeutung für die Pathogenese der Erkrankung haben die infektionsempfänglichen Zellen des mononukleären Phagozytensystems (MPS) und die Lymphozyten. Inzwischen sind monoklonale Antikörper (mAk) gegen spezifische Oberflächendeterminanten von Zellen des MPS und des adaptiven Immunsystems verfügbar. Damit besteht die Möglichkeit, potentiell HEV infektionsempfängliche Zellen zu spezifizieren. In den vorliegenden Untersuchungen wurde mit Hilfe immunhistochemischer Methoden die Verteilung HEV positiver Zellen nach intravenöser Inokulation in unterschiedlichen Organen der Pute und des Huhnes untersucht. Weiterhin wurde mit Hilfe von Doppelmarkierungsverfahren eine Charakterisierung HEV-infizierter Zellen versucht.

Folgende Oberflächenmarker gegen Zellepitope des Haushuhnes wurden bei der Pute eingesetzt: 1. CT4 (CHAN et al. 1988); 2. CT8 (CHAN et al. 1988); 3. CT3 (CHEN et al. 1986); 4. anti-CD4 (LILLEHOJ et al. 1993); 5. 3-31 (LILLEHOJ et al. 1993); 6. 74.2 (JEURISSEN et al. 1992); 7. 68.1 (JEURISSEN et al. 1988 b); 8. 68.2 (JEURISSEN et al. 1989); 9. HIS-C1 (JEURISSEN et al. 1988 a).

Zur Markierung der HEV positiven Zellen von infizierten Hühnern und Puten mit immunhistochemischen Methoden wurden mAk gegen HEV hergestellt. Zum "Screening" der Hybridomzellüberstände und der Charakterisierung der mAk gegen HEV wurden weiterhin folgende Testsysteme etabliert: (1) "Peroxidase-linked antibody assay", (2) "Enzyme-linked immunosorbent assay" und (3) ein indirekter Immunfluoreszenz-Antikörpertest.

Von den genannten Oberflächenmarkern kreuzreagierten CT4, anti-CD4, 68.1, 68.2 und HIS-C1 mit den jeweiligen Puten-Zellpopulationen. Es war jedoch nicht möglich, eine Doppelmarkierung der HEV-positiven Zellen mit den kreuzreagierenden Oberflächenmarkern zu erzielen. Weiterhin war kein morphologischer Zusammenhang zwischen HEV positiven Zellen und denen des

T-Zellsystems oder den nicht lymphoiden Zellen, mit Ausnahme von 74.2 beim Huhn, zu erkennen. Die HEV positiven Zellen befanden sich in der Milz des Huhnes in unmittelbarer Nachbarschaft zu der Makrophagensubpopulation, dargestellt durch 74.2. Beim Einsatz von HIS-C1 an HEV infizierten Putenküken war zum Zeitpunkt des ersten immunhistochemischen Nachweises von HEV (16. Tag nach Schlupf) ein Verlust in der Bindungskapazität bei den HIS-C1-positiven Zellen festzustellen. Diese Beobachtung konnte im Hühnersystem bestätigt werden. Gleichzeitig stellten sich die B-Zellareale diffuser dar als bei nicht infizierten Puten und Hühnern. Bei den durch 68.2 markierten Zellen der Pute konnten ähnlich Befunde wie bei den B-Lymphozyten bei der Darstellung dieser Zellareale in der Milz HEV infizierter Tiere erhoben werden.

Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, daß die Infektion mit HEV die Zelloberflächendeterminanten verändert und damit die immunhistochemische Darstellung der Oberflächenantigene der B-Zellen und nicht lymphoiden Zellen beeinträchtigt. Somit kann auch begründet werden, warum keine Doppelmarkierung an einer infizierten Zelle erfolgt war.

Die vorliegenden Untersuchungen liefern somit den Nachweis, daß mAk zur Markierung von Zelloberflächendeterminanten des Huhnes erfolgreich auch im Putensystem eingesetzt werden können. Weiterhin unterstützen die erbrachten Befunde frühere Beobachtungen, daß die Infektion mit HEV außer den nicht lymphoiden Zellen direkt oder indirekt auch B-Zellpopulationen beeinträchtigt.

Summary

Silke Rautenschlein

Ontogenetic study on the susceptibility of turkeys and chickens to hemorrhagic enteritis virus (HEV)

Infections with HEV pose a continuous economic problem in turkey flocks. Depending on the virulence of the virus, the infection leads to varying rates in morbidity and mortality but also causes immunosuppression. Cells susceptible to the infection belong to the mononuclear phagocytic system (MPS) and to the B- and T-cell system, respectively. The availability of monoclonal antibodies (mAbs) directed against specific surface determinants of chicken cells offers the possibility of further characterization of cell populations susceptible to HEV. Therefore, the present study was undertaken to determine the distribution of HEV positive cells in turkeys and chickens and to characterise HEV target cell populations on the basis of their cell surface determinants by means of immunohistochemistry.

In the first part of the investigations monoclonal antibodies directed against chicken cells were examined for cross reactivity with the corresponding turkey cell populations. The monoclonal antibodies used were: CT4 (CHAN et al., 1988), CT 8 (CHAN et al., 1988), CT3 (CHEN et al., 1986), anti-CD4 (LILLEHOJ et al., 1993), 3-31 (LILLEHOJ et al., 1993), 74.2 (JEURISSEN et al., 1992), 68.1 (JEURISSEN et al., 1988 b), 68.2 (JEURISSEN et al., 1989), HIS-C1 (JEURISSEN et al., 1988 a).

In order to label HEV positive cells of infected chickens and turkeys immunohistochemically mAbs were produced. For the screening and characterization of these mAbs, three different serological tests were established: (1) peroxidase-linked antibody assay, (2) enzyme-linked immunosorbent assay and (3) immunofluorescence-antibody- assay.

Cross reactions with the corresponding turkey cell populations were found when mAbs CT4 , anti CD4, 68.1, 68.2 and HIS-C1 were used. Attempts to double-label HEV positive cells of infected chickens and turkeys with these monoclonal antibodies were unsuccessful. Moreover a morphological correlation between HEV positive cells on one hand and cells stained with mAbs on the other could not be established with the exception of 74.2 positive cells in HEV infected chickens. The HEV positive cells had been related to the macrophages of the chicken spleen.

However, using mAb HIS-C1 in infected turkey poults a markedly reduced staining intensity was observed, beginning on the 3rd day p. i. (16th day post hatch). These observations were confirmed in the chicken system. Simultaneously, B-cell compartment labelling in the spleen was less distinct compared to uninfected chickens and turkeys. Similar results had been made with the 68.2 positive cells of HEV-infected turkeys.

These observations may be attributable to cell surface determinants altered by HEV infection, thus explaining the reduction of labelling intensity of B-cell compartments and non-lymphoid cells and the failure of double-staining HEV infected cells.

The results of these studies indicate that mAbs derived from chicken cells may as well be useful for immunohistochemical studies in turkeys. In addition, the immunohistochemical findings in turkeys and chickens infected by HEV suggest that infection with HEV directly or indirectly affects B-cell populations beside MPS cell populations and B-cell functions.