

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Untersuchung der Wirksamkeit eines Impfstoffes
gegen die Feline Infektiöse Peritonitis
unter Tierheimbedingungen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
WOLF LEUKERT

Gießen 2002

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. M. Reinacher

Untersuchung der Wirksamkeit eines Impfstoffes
gegen die Feline Infektiöse Peritonitis
unter Tierheimbedingungen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
WOLF LEUKERT
Tierarzt aus Leipzig

Gießen 2002

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: _____ Prof. Dr. Dr. h. c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: _____ Prof. Dr. M. Reinacher

2. Berichterstatter: _____ H Doz Dr. A. Moritz

Tag der mündlichen Prüfung: _____ 12.02.2002

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
2.1	Allgemeines und Historie	2
2.2	Erreger der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP)	3
2.2.1	Coronaviren (CoV)	3
2.2.1.1	Morphologie	3
2.2.1.2	Chemisch-physikalische Eigenschaften	4
2.2.1.3	Antigenverwandschaft und Klassifizierung	4
2.2.1.4	Feline Coronaviren (FCoV)	5
2.2.1.4.1	Prävalenz von FCoV-Infektionen	7
2.2.1.4.2	Epizootiologie der FCoV-Infektion	8
2.3	Epizootiologie der FIP	9
2.4	Pathogenese der FIP	10
2.5	Klinik und Krankheitsformen der FIP	11
2.6	Diagnostik der FIP	14
2.6.1	Hämatologie und Serologie	15
2.6.1.1	Antikörper-Bestimmung	16
2.6.1.1.1	Indirekte Immunfluoreszenztechnik (IFT)	16
2.6.1.2	Kompetitiver ELISA zum Nachweis von CoV-Immunkomplexen	17
2.6.2	Punktat	18
2.6.3	Virusnachweis	19
2.6.4	Zerebrospinalflüssigkeit	19
2.6.5	Diagnoseschlüssel	20
2.6.6	Differentialdiagnosen der FIP	20
2.6.6.1	Differentialdiagnosen der effusiven FIP	20
2.6.6.2	Differentialdiagnosen der nichteffusiven FIP	21
2.7	Prävention	21
2.7.1	Vakzination	22
2.7.1.1	Primucell® FIP	24
2.8	Therapie	28
2.9	Prognose	30

3	Material und Methoden	31
3.1	Versuchsaufbau	31
3.2	Versuchsdurchführung	33
3.2.1	Randomisierung	33
3.2.2	Zeitliches Management und Impfregime	36
3.2.3	Haltung der Tiere	37
3.2.3.1	Beschreibung der Versuchstierställe	38
3.2.4	Erforderliche Genehmigungen	39
3.2.4.1	Behördliche Kontrollen	40
3.3	Versuchstiere	40
3.3.1	Spezifisch pathogenfreie (SPF) Tiere	40
3.3.2	Tierheimkatzen	41
3.4	Impfstoffe	42
3.4.1	Die Vakzine Primucell [®] FIP	42
3.4.2	Andere eingesetzte Impfstoffe	44
3.5	Angewandte Tests und Labormethoden	44
3.5.1	Kompetitiver ELISA zum Nachweis löslicher Immunkomplexe in Seren und Exsudaten FIP-verdächtiger Katzen	44
3.5.1.1	Antigenbeschichtung der Mikrotiterplatten	44
3.5.1.2	Aufbereitung der Serum- und Exsudatproben	45
3.5.1.3	Probenvorbereitung	45
3.5.1.4	Durchführung des Tests	46
3.5.1.5	Auswertung der Meßergebnisse	47
3.5.2	Immunfluoreszenztest (IFT)	47
3.5.2.1	Testdurchführung	48
3.5.3	Reverse Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion (RT-PCR)	48
3.5.3.1	Isolierung und Kultivierung der Monozyten	49
3.5.3.2	RNA-Extraktion	49
3.5.3.3	DNase-Behandlung zur Entfernung kontaminierender genomischer DNA	50
3.5.3.4	Synthese der cDNA (RT-Reaktion)	51
3.5.3.5	Oligonukleotid-Primer	51
3.5.3.6	Polymerase-Ketten-Reaktion	52
3.5.3.7	Nachweis der PCR-Produkte mittels Agarosegel-Elektrophorese und Ethidiumbromid-Färbung	53
3.5.3.8	Quantifizierung der PCR-Produkte	54

3.5.3.9	Bestätigung der Spezifität der Banden	54
3.5.4	Fixierung der Gewebe	54
3.5.5	Histopathologische Präparation	55
3.5.6	Nachweis des Coronavirus-Antigens	55
4	Ergebnisse	57
4.1	Gewichtsentwicklung der SPF-Tiere	57
4.2	Serologische und andere Testergebnisse	58
4.3	Klinisch unauffällige Tiere	59
4.4	Andere Todesursachen als FIP	59
4.5	Chronologische Übersicht der Todesfälle	60
4.6	FIP-Fälle	61
4.7	Preventable fraction	63
4.8	Formen der FIP	65
4.8.1	Augenveränderungen	65
4.9	FIP und andere Erkrankungen in der Population	67
4.10	Rohdaten in Tabellenform	67
5	Diskussion	71
5.1	Versuchsbedingungen	71
5.2	Infektionsstatus der SPF-Katzen und der Tierheimkatzen vor Beginn des Versuchs	72
5.3	Impfung	73
5.4	FCoV/FIPV-Infektionsdruck	73
5.5	Nachweis der FCoV-Infektion	75
5.6	FIP-Fälle	75
5.7	Beurteilung anderer pathogenetischer relevanter Faktoren	76
5.7.1	Psychischer und sozialer Streß	77
5.7.2	Koinfektionen	77
5.7.3	Immunsuppression durch andere Ursachen	77
5.8	Beurteilung der Serologie	78
5.9	Überleben einer klinisch manifesten FIP	79
5.10	FIPV-Infektion ohne Entwicklung einer FIP	80
5.11	Auswertbarkeit des Versuchs	81
5.12	Beurteilung der Wirksamkeit des FIP-Impfstoffes	81
5.13	Abschließende Bemerkungen	83
6	Zusammenfassung	84

Inhalt

7	Summary	86
8	Literaturverzeichnis	88
9	Anhang	113
9.1	Abbildungen	113
9.2	Diagramme	120
9.3	Lösungen, Puffer und Bezugsquellen	137
9.3.1	ELISA	137
9.3.2	PCR	138
9.3.4	Bezugsquellen	139
9.5	Abkürzungen	142

1. Einleitung

Die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) ist eine fatale systemische Erkrankung der Feliden, die durch ein Coronavirus (CoV) hervorgerufen wird. Der klinische Verlauf ist nach Auftreten der Symptome progressiv, die Prognose infaust, der Ausgang fast immer letal (Horzinek und Osterhaus, 1979a, b; Kriegleder und Geyer, 1984; Pedersen, 1987; Weiss, 1991; Lutz, 1992; Suter et al., 1993). Die Infektion betrifft vorrangig Hauskatzen, die in größeren Populationen auf begrenztem Raum leben. Dementsprechend stellt die FIP hauptsächlich in Tierheimen, Zuchten und anderen Mehrfachhaltungen ein erhebliches Problem dar. Neben dem Katzenschnupfenkomplex und der Felinen Leukämievirus (FeLV)-Infektion ist die FIP eine der wichtigsten Infektionskrankheiten der Katze (Cotter et al., 1973; Lutz et al., 1985, 1990). Für den praktischen Tierarzt und den Katzenzüchter ist die FIP ein schwer erfassbares und frustrierendes Problem (Olsen, 1993). Eine wirksame Therapie wurde bisher nicht gefunden (Hoskins, 1991; Lutz, 1992). Eine entscheidende Rolle dabei spielt auch der unzureichende Erkenntnisstand über die immunvermittelte Pathogenese (Lutz et al., 1986). Die Diagnostik ist für den praktischen Tierarzt ein Problem, wenn die typischen Körperhöhlenergüsse fehlen (Kersten, 1985; Rohrer, 1992; Rohrer et al., 1993). Praxisreife Schnelltests für den Routinebetrieb mit ausreichender diagnostischer Sicherheit gibt es nicht (Pedersen, 1976a; Osterhaus et al., 1977; Lange et al., 1987; Sparkes et al., 1990; Lutz et al., 1996; Troy et al., 1996). In den letzten Jahren hat die PCR zum Nachweis feliner Coronaviren zunehmend an Bedeutung gewonnen (Fehr et al., 1996). Serologische Untersuchungsergebnisse können nur als diagnostisches Hilfsmittel neben anderen Parametern dienen (Rohrer, 1992; Rohrer et al., 1993). Jahrelang wurde versucht, eine sichere FIP-Vakzine herzustellen (Baldwin, 1986; Scott, 1987). In den USA wurde 1991 von "SmithKline Beecham", der Bereich Tiergesundheit ist heute zu "Pfizer" gehörig, eine praxisreife Vakzine entwickelt. Der Einsatz dieser Vakzine wird kontrovers diskutiert und ist umstritten (Wolf, 1997). In den vergangenen Jahren gab es eine Vielzahl von Untersuchungen, in denen experimentelle FIP-Vakzinen getestet wurden (Escobar et al., 1992; Fehr et al., 1995; Gerber, 1995; McArdle et al., 1995; Postorino Reeves et al., 1992; Postorino Reeves, 1995; Baldwin und Scott, 1997; Fehr et al., 1997). Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirksamkeit der Vakzine Primucell®FIP im Tierversuch unter den Bedingungen eines Tierheimes zu testen.

2. Literaturübersicht

2.1 Allgemeines und Historie

Bereits Anfang der vierziger Jahre beschrieb Bonaduce (1942) in Neapel eine Erkrankung, die der pleuritischen Form der FIP ähnelt. Ein vergleichbares Krankheitsbild konstatierten kurze Zeit später Holzworth (1963) sowie Feldmann und Jortner (1964). Robinson et al. (1971) datierten das erste Auftreten der Erkrankung in ihrem Sektionsgut sogar auf 1953 zurück. Als einheitliches Krankheitsbild und mit ihrer heutigen gültigen Bezeichnung Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) wurde die Erkrankung 1966 von Wolfe und Griesemer beschrieben. Sie erbrachten auch durch die experimentelle Infektion gesunder Katzen mit Organmaterial erkrankter Tiere den Nachweis der Infektiosität. Ursprünglich sollte der Name FIP nur solange gelten, bis genauere Kenntnisse über die Krankheitsprozesse vorliegen. Obwohl heute verschiedene Manifestationsformen bekannt sind, hat sich der Name behauptet. Die Virusätiologie wurde von Zook et al. (1968) und Ward et al. (1968) unabhängig voneinander nachgewiesen. Hardy et al. (1971) fanden in experimentell infizierten Katzen virusähnliche Partikel bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Bereits 1970 formulierte Ward die Hypothese, daß es sich um ein Coronavirus handeln muß. Diese Vermutung wurde durch die Isolierung von Coronavirus-ähnlichen Partikeln aus Aszites und Leberhomogenat infizierter Katzen bestätigt (Osterhaus et al., 1976). Den Nachweis dafür erbrachten Hoshino und Scott (1978) und O'Reilly et al. (1979) mit der Virusisolierung. Aufgrund morphologischer und physikochemischer Eigenschaften wurde das FIPV als Coronavirus klassifiziert (Osterhaus et al., 1976; Pedersen, 1976b; Horzinek et al., 1977).

Im deutschsprachigen Raum (Schweiz) berichteten Stünzi und Grevel (1973) erstmals von der FIP. Generell können bei Katzen auf der ganzen Welt gegen feline Coronavirus gerichtete Antikörper nachgewiesen werden (Horzinek und Osterhaus, 1979a). Im Laufe der Zeit hat die Häufigkeit der FIP enorm zugenommen (Lutz et al., 1984).

2.2 Erreger der Felines Infektiösen Peritonitis (FIP)

2.2.1 Coronaviren (CoV)

2.2.1.1 Morphologie

Coronaviren (CoV) sind behüllte pleomorphe Einzelstrang RNA-Viren mit einem Durchmesser von 60-220 Nanometer. Die Lipoproteinhülle entsteht durch Budding an spezifischen intrazellulären Membranen, den sogenannten "budding compartments" (Pettersen, 1991; Griffiths und Rottier, 1992; Holmes und Lai, 1996). Sie enthält zwei Glykoproteine: das die Hülle durchdringende Membranprotein M (ehemals E1), das die Verbindung zum Kapsid herstellt, und das Spikeprotein S (ehemals E2), das die Bildung von Antikörpern und die zellvermittelte Immunität beim Wirt induziert. Die Spikeproteine sind keulenförmige 12-24 nm lange, kranzartig angeordnete Peplomere, die auch für die Namensgebung (corona = Krone) verantwortlich sind. Das dritte virale Hauptstrukturprotein ist das Nukleokapsidprotein N. Das N-Protein bildet zusammen mit der 27-32 kDa großen, polyadenylierten einsträngigen Plus-Strang-RNA das flexible, helikale Nukleokapsid (Holmes und Lai, 1996). Ein Teil der CoV, jedoch nicht das feline CoV (FCoV), weist ein viertes Strukturprotein auf, das Hämagglutinations-Esterase-Protein HE (Cavanagh et al., 1990; Holmes und Lai, 1996).

Der Viruseintritt in die Zelle erfolgt nach Bindung des Virions mittels des S-Proteins an Rezeptorglykoproteine der zellulären Plasmamembran und anschließender Fusion von Virushülle und Plasmamembran. Der gesamte Vermehrungszyklus der CoV läuft im Zytoplasma der infizierten Wirtszelle ab. Nach direkter Translation der viralen RNA-abhängigen RNA-Polymerase an der genomischen RNA erfolgt die Synthese einer Negativstrang-RNA an der genomischen Positivstrang-RNA. Der Negativstrang dient als Template für die diskontinuierliche Transkription der verschiedenen viralen mRNA, deren genauer Mechanismus bislang noch nicht geklärt ist, und der Transkription der genomischen RNA (Holmes und Lai, 1996). S-Proteine werden am endoplasmatischen Retikulum (RER) gebildet und als glykosylierte Homotrimere in den Golgi-Komplex transportiert. Nach ihrer Translation an Membran-gebundene Polysomen im RER akkumulieren M-Proteine im Golgi-Komplex. Die N-Proteine werden dagegen an freien Polysomen translatiert und im Zytosol phosphoryliert; sie binden anschließend an die genomische RNA. Der Zusammenbau des Virions erfolgt durch die Bindung der

Nukleokapside an M-Protein enthaltende intrazelluläre Membranen. Die S-Proteine werden während des Buddings, das im "budding compartment" zwischen RER und Golgi-Komplex liegt (Klumperman et al., 1994), in das Virion eingebaut. Die Virionen akkumulieren in großen Vesikeln, die zur Freisetzung der Viren aus der Zelle mit der Plasmamembran verschmelzen (Siddell et al., 1982; Liebermann, 1992; Holmes und Lai 1996).

2.2.1.2 Chemisch-physikalische Eigenschaften

Coronaviren haben eine Dichte von 1,18 g/ml in Rohrzucker. Ihr pH-Optimum liegt bei 6-7, die Säurelabilität (pH 3) ist variabel. Sie sind hitzelabil, bei 56°C werden sie inaktiviert, bei niedrigen Temperaturen in geeigneten Medien sind sie jedoch infektiös. Bei Raumtemperatur erfolgt der Verlust der Infektiosität nach 24-48 Stunden (Grahn, 1991), gegenüber Austrocknung besteht allerdings eine Resistenz (Pedersen, 1976b; Lutz et al., 1985). Formaldehyd und quarternäre Ammoniumverbindungen zerstören die Viren, Phenol dagegen nicht. Coronaviren sind ätherempfindlich und können mit den meisten Detergentien und Desinfektionsmitteln sowie Chloroform zerstört werden (Barlough und Weiss, 1983). UV-Strahlung wirkt inaktivierend (Siddell et al., 1983). Durch die Lipidhülle erklärt sich die relativ kurze Überlebenszeit in der Außenwelt. Die Tenazität ist gering.

2.2.1.3 Antigenverwandtschaft und Klassifizierung

Die Gattung Coronavirus bildet zusammen mit der Gattung Torovirus die Familie Coronaviridae, die wiederum mit der Familie Arteriviridae die Ordnung Nidovirales bildet (Snijder et al., 1991; Holmes und Lai, 1996).

CoV kommen bei vielen Säugetieren, Vögeln und beim Menschen vor. Sie erzeugen bei diesen verschiedene Krankheitsbilder, rufen jedoch nur bei den Feliden ein komplexes Krankheitsbild wie die FIP hervor (Holmes und Lai, 1996). CoV gelten als wirtsspezifisch und zeigen einen Tropismus zu Epithelzellen des Intestinal- und Respirationstraktes sowie zum ZNS. Die Tabelle 1, modifiziert nach Holmes und Lai (1996), gibt einen kurzen Überblick über die aktuelle Klassifizierung der CoV und die von ihnen verursachten Krankheiten. Zwischen den Antigengruppen besteht keine Kreuzreaktivität. Innerhalb einer Antigengruppe gibt es verschiedene Serotypen. Experimentell ist eine Infektion anderer Spezies als der originalen Wirtsspezies durch bestimmte Serotypen möglich (Witte et al., 1977; Yaling et al., 1988).

Neutralisierende Antikörper werden gegen das Spikeprotein (S) gebildet. Aufgrund der Unterschiede im S-Gen ist eine Differenzierung verschiedener CoV mittels spezifischer cDNA-Sonden möglich (Bae et al., 1991).

Tabelle 1: Coronavirus-Spezies (adaptiert von Holmes und Lai, 1996)

<i>Antigen-Gruppe</i>	<i>Virusspezies</i>	<i>Wirtsspezies</i>	<i>Krankheit/Infektionstyp</i>
I	HCV-229E	Mensch	respiratorische Infektion
	TGEV	Schwein	porzine transmissible Gastroenteritis
	CCV	Hund	gastrointestinale Infektion
	FECV	Katze	enterale Infektion
	FIPV	Katze	FIP
	RbCV	Kaninchen	keine Angaben
II	HCV-OC43	Mensch	respiratorische Infektion
	MHV	Maus	Hepatitis, Enzephalomyelitis; respiratorische und enterale Infektion
	SDAV	Ratte	Sialodakryadenitisvirus
	HEV	Schwein	Vomitus, Kümmern,
	BCV	Rind	Enzephalomyelitis
	RECV	Kaninchen	enterale Infektion
	TCV	Pute	enterale Infektion enterale Infektion
III	IBV	Huhn	infektiöse Tracheobronchitis

2.2.1.4 Feline Coronaviren (FCoV)

Feline Coronaviren (FCoV) lassen sich entsprechend ihrer Virulenz in verschiedene Biotypen oder Pathotypen einteilen: feline enterale CoV (FECV) und feline infektiöse Peritonitis-Viren (FIPV) (Tupper et al., 1987). Letzteres ist eine pathogene Deletionsmutante des niedrig virulenten FECV: FIPV weisen Deletionen in den open reading frames des 3c- und des 7b-Gens, die beide für Nichtstrukturproteine unbekannter Funktion kodieren, auf (Herrewegh et al., 1995c; Hickman et al., 1995; Poland et al., 1996; Vennema et al., 1998). Eine serologische oder morphologische Unterscheidung der beiden Biotypen ist nicht möglich (Vennema, 1999). Im Unterschied zur hohen Prävalenz der FECV-Infektion in der Katzenpopulation ist die Prävalenz der klinischen FIP nur gering

(Pedersen et al., 1981b, Pedersen 1995); es ist davon auszugehen, dass das FIPV in der Regel nicht von einem Tier auf das andere übertragen wird, sondern als Mutante des FECV in der Katze auftritt, die an FIP erkrankt (Evermann et al., 1991; Herrewegh et al., 1995c; Poland et al., 1996; Vennema et al., 1998). Dafür spricht, dass in FECV-infizierten, geschlossenen Katzen-Populationen sporadisch FIP-Fälle auftreten (Hickman et al., 1995; Foley et al., 1997a). Desweiteren findet sich in Beständen mit Tieren, die massiv FCoV ausscheiden, eine erhöhte FIP-Inzidenz (Foley et al., 1997a). Die FIP-Inzidenz-Rate ist dementsprechend relativ zur Mutationsrate des Biotyps FECV in den Biotyp FIPV: Die aktuelle Mutationsrate wird von folgenden Faktoren beeinflusst: 1) der FECV-Replikationsrate (Poland et al., 1996), 2) der angeborenen oder erworbenen Resistenz einer Rasse, Katzenlinie oder individuellen Katze gegenüber dem mutierten Virus (Foley et al., 1997a, b; Poland et al., 1996), 3) dem FECV-Stamm und der Leichtigkeit, mit dem er mutiert (Vennema et al., 1998). FECV-Träger würden dementsprechend als Reservoir für das jeweilige Neuentstehen von FIPV dienen (Pedersen, 1995; Vennema et al., 1998).

Eine andere Einteilung der FCoV erfolgt unabhängig von der Virulenz auf der Basis der Kreuzreaktivität mit dem caninen CoV (CCV) in Virusneutralisationstests und aufgrund der Kultivierbarkeit *in vitro*: man unterscheidet Serotyp I und Serotyp II (Pedersen et al., 1984a, b; Vennema, 1999)(Tab. 2). Der Serotyp I zeigt keine Neutralisation mit CCV-Antiseren und schlechtes Wachstum in der Zellkultur, dominiert aber bei Feldinfektionen (Pedersen et al., 1984a, b; Hohdatsu et al., 1992; Vennema et al., 1999). Der Serotyp II dagegen ist relativ leicht zu kultivieren und zeigt Neutralisation durch CCV-Antiseren. Er ist vermutlich das Produkt einer doppelten Rekombination von FCoV Serotyp I und CCV: das S-Protein entspricht dem CCV, wogegen das 7b-Gen bei FCoV Serotyp I und II identisch sind (Motokawa et al., 1996; Herrewegh et al., 1998; Vennema, 1999).

Tabelle 2: FIPV-Stämme (modifiziert nach Kai et al., 1987)

FIPV-Stamm	Zitat	Serotyp	Infektiosität
UCD 1	O'Reilly et al., 1979	I	mittel bis gering
UCD 2	Pedersen und Floyd, 1985	I	hoch
UCD 3	Pedersen und Floyd, 1985	I	hoch
UCD 4	Pedersen und Floyd, 1985	I	hoch
UCD 8	Vennema et al., 1995	I	keine Angaben
NOR 15 (DF 2)	Evermann et al., 1981	II	hoch
Wellcome	Horzinek et al., 1995	k. A.	keine Angaben
Dahlberg	Horzinek et al., 1995	k. A.	keine Angaben
79-1146	McKeirnan et al., 1981	II	hoch
TN 406 (Black)	Black, 1980	I	mittel bis tief
HR	Kai et al., 1987	k. A.	keine Angaben
CVR 1036	McArdle et al., 1992,1995	k. A.	hoch

k. A. = keine Angaben

2.2.1.4.1 Prävalenz von FCoV-Infektionen

In der Hauskatzenpopulation ist die FCoV-Infektion sehr häufig. Einzelne gehaltene Katzen weisen zu 10-50% FCoV-Antikörper auf, in größeren Haltungen (Tierheime und Zuchten) liegen die Zahlen bei 80-90% (Pedersen, 1976a; Loeffler et al., 1978; Pedersen et al., 1981b; Pedersen, 1983b; Sparkes et al., 1992). Kai et al. (1995) vermuten, dass die FECV für die häufige Serokonversion verantwortlich sind, da lokale FECV-Infektion niedrige und systemische FECV-Infektion hohe Antikörpertiter verursachen.

Anders als experimentelle Infektionen mit FECV-Stämmen (Pedersen et al., 1981a, b), die erst ab einer Infektionsdosis von $> 10^3$ plaque forming units (PFU) zur klinischen Manifestation (Fieber, Leukopenie, Diarrhoe) führen (Kai et al., 1995), verlaufen natürliche enterale FECV-Infektionen meist klinisch inapparent. Es gibt nur einzelne Berichte über letale Coronavirus-Enteritiden (McKeirnan et al., 1981; Dea et al., 1982; Hayashi et al., 1982; Kipar et al., 1998).

2.2.1.4.2 Epizootiologie der FCoV-Infektion

Infizierte Tiere scheiden Virus mit den Fäzes aus; der Nachweis erfolgte mittels Elektronenmikroskopie oder PCR (Herrewegh et al., 1995a,b; Addie et al., 1996; Poland et al., 1996; Foley et al., 1997b; Kennedy et al., 1998; Kipar et al., 1999b). In den Fäzes gesunder Katzen können sich auch „coronavirus-like particles“ (Toroviren) befinden (Hoshino und Scott, 1980). Nach experimenteller Infektion wurde mittels Virusisolierung auch eine oropharyngeale Ausscheidung nachgewiesen, die ab dem 2. Tag post infectionem (p.i.) unabhängig vom Infektionsweg (intravenös, intraperitoneal, oral) bis zum 9. oder 10. Tag p.i. vorlag (Stoddart et al., 1988b). Desweiteren führte die orale Verabreichung von Urin an FIP erkrankter Katzen bei einer von 3 Katzen zu FIP (Hardy und Hurvitz, 1971), was auf die Ausscheidung mit dem Urin hindeutet. Hök (1993a, b) gelangen auch der FCoV-Antigen-Nachweis und die Virusisolierung aus der Membrana nictitans, so dass eine Virusausscheidung mit Augensekreten möglich zu sein scheint.

Bei natürlich infizierten Tieren wurden detailliertere Untersuchungen zur Virusausscheidung mit den Fäzes gemacht: infizierte Katzen scheiden das Virus über längere Zeiträume (Untersuchungszeiträume bis zu 13 Monaten) intermittierend aus (Foley et al., 1997b, Harpold et al., 1999). Anders als bei experimentell infizierten Tieren ist bei natürlichen FIP-Fällen eine Virusausscheidung bis zum Tod möglich (Pedersen et al., 1984b; Stoddart et al., 1988a,b; Addie et al., 1996). Serum-Antikörpertiter und Virusausscheidung waren nicht signifikant korreliert (Harpold et al., 1999). Streß, Geburt und Laktation scheinen die Virusausscheidung nicht zu induzieren (Foley et al., 1997b). Angaben zum Beginn der Virusausscheidung (Nachweis mittels RT-PCR) bei Welpen differieren: Während in einer Untersuchung eine Ausscheidung nicht vor einem Alter von 10 Wochen beobachtet wurde (Foley et al., 1997b), wurde in einer anderen Untersuchung die Virusausscheidung ab einem Alter von ca. 7 Wochen, d.h. vor oder zum Zeitpunkt der Serokonversion, nachgewiesen (Harpold et al., 1999). Es ist davon auszugehen, dass in Mehrkatzenhaltungen ein großer Anteil an Tieren zu jeder Zeit Virus ausscheidet, das Einzeltier jedoch Zyklen von Infektion und Ausscheidung, Erholung und Reinfektion durchmacht (Foley et al., 1997b). Das Virus-Reservoir scheinen zumindest u.a. Epithelzellen des Kolons zu sein (Herrewegh et al., 1997).

2.3 Epizootiologie der FIP

Die FIP ist eine Erkrankung der Feliden, überwiegend aber ein Problem der domestizierten Katzen. Empfänglich sind vorrangig junge (6-17 Monate) oder sehr alte (>10 Jahre) Tiere (Kaas und Dent, 1995), prinzipiell können Katzen jedoch in jedem Alter erkranken (Lutz et al., 1986; Nicolaysen et al., 1990; Wolf, 1997). Epizootiologische Studien werden wesentlich erschwert durch die Unspezifität der zur Verfügung stehenden serologischen Tests (Weiss, 1991). Nach der Katzenseuche und der FeLV-Infektion ist die FIP aber eine der häufigsten letalen Infektionskrankheiten der Katzen (Suter et al., 1993). Bezüglich der Assoziation zwischen FIP und anderen Infektionskrankheiten finden sich unterschiedliche Angaben. In einer umfangreichen Studie waren 22% der FeLV-positiven Katzen und 7% der FIV-Katzen zusätzlich an FIP erkrankt, 19% der FIP-Katzen waren FeLV-positiv (Reinacher, 1993a, b). Roiko et al. (1985) fanden bei FIP-Katzen eine 50%ige FeLV-Infektionsrate, bei zwei weiteren Untersuchungen liegt der Anteil der FeLV-Infektion von FIP-Katzen bei 45% bzw. 62% (Hardy und Hurvitz, 1971; Essex et al., 1975). Unter Feldbedingungen scheinen FeLV- und FIPV-Infektionen nicht gehäuft gemeinsam vorzukommen, sie begünstigen aber einander (Lutz, 1992). Addie et al. (2000) gehen davon aus, daß eine gleichzeitige Infektion mit Retroviren nicht die Wahrscheinlichkeit erhöht, eine FIP zu entwickeln. Die Morbidität der FIP ist als niedrig einzustufen, die Mortalität als sehr hoch (Pedersen et al., 1981a; Ford, 1982). Die Häufigkeit der FIP ist territorial verschieden, sie kommt jedoch weltweit vor (Barlough et al., 1982). Im Pathologischen Institut der Universität Glasgow (GB) wurde die FIP bei nur ca. 4% der seziierten Katzen diagnostiziert (Addie und Jarrett, 1994), in Zürich lag die Quote dagegen bei 16% und in Leipzig bei 14% (Reinacher, 1994). In München betrug der FIP-Anteil bei Sektionskatzen in den Jahren 1969-1982 nur 6% (Landes et al., 1984), in der Katzenzucht des Zentralen Tierlaboratoriums der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) in der Zeit von 1982-1984 nur 1-4% (Maess, 1985). Bei reinrassigen Katzen tritt die FIP häufiger auf als bei anderen Katzen (Hoskins, 1991). Die Literaturangaben über mögliche Rassedispositionen sind uneinheitlich. Während Horzinek und Osterhaus (1979b) sowie Timoney (1976) eine Rassedisposition verneinen, sehen Schalm (1971) sowie Wolfe und Griesemer (1971) eine Disposition bei Siamkatzen. Eine Geschlechtsdisposition konnte bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden, auch wenn in einigen Untersuchungen männliche Tiere häufiger erkrankten (Neu und Pfeifer, 1985). Dies kann jedoch durchaus darauf zurückzuführen sein, daß Kater häufig mehr Kontakt zu anderen Katzen haben, wodurch sich das

Infektionsrisiko erhöht (Lutz et al., 1985). Bei einer Studie an exotischen Feliden stellten Everman et al. (1988) bei Geparden eine generell hohe Empfänglichkeit für FIP fest. Löwe, Tiger, Puma und Amerikanischer Luchs scheinen resistenter gegen das FIPV zu sein. Beschrieben sind FIP-Erkrankungen bei einer Vielzahl von Wildfeliden, z.B. beim Löwen (Robinson et al., 1971; Colly, 1973; Wisser, 1984), Berglöwen (Theobald, 1978; Scott, 1993), Jaguar (Robinson et al., 1971; Fransen, 1972; Colly, 1973), Leoparden (Robinson et al., 1971; Colly, 1973; Tuch et al., 1974), Schneeleoparden (Wallach und Boever, 1983), Geparden (Horzinek und Osterhaus, 1979a; Pfeiffer et al., 1983), Nordluchs (Poelma et al., 1974), Luchs (Barlough und Stoddart, 1990), Karakal (Poelma et al., 1974), Sandkatze (Barlough und Stoddart, 1990) und Pallaskatze (Pedersen, 1987).

2.4 Pathogenese der FIP

Die Infektion mit dem FCoV erfolgt oronasal, primär über die fäkal-orale Route. Nach oraler Infektion sind Viruspartikel in Enterozyten nachweisbar, jedoch nicht in der Lunge (Stoddart et al., 1988b; Weiss und Scott, 1981a, b). Virulente, d.h. mutierte FCoV erlangen die Fähigkeit zur massiven Replikation in Makrophagen (Stoddart und Scott, 1989), so dass sich eine zellassozierte Virämie entwickelt. Deren Folge ist die Infektion von Makrophagen im regionären, d.h. Mesenterial-Lymphknoten (Stoddart et al., 1984, 1988a, b), der über eine Infektion von Monozyten und deren Ausbreitung über das Blut eine systemische Infektion folgt (Pedersen, 1995). Die schnelle Replikation des Virus in den Makrophagen bewirkt die Zellyse, Freisetzung von Viruspartikeln und Phagozytose durch weitere Makrophagen. Virus-infizierte Monozyten scheinen aus Venolen in den verschiedenen Geweben und subserös auszuwandern und über die Freisetzung von Virus weitere Makrophagen zu rekrutieren (Pedersen, 1995). Desweiteren entstehen bei der FIP im Blut zirkulierende Immunkomplexe (Jacobse-Geels et al., 1980, 1982; Weiss und Scott, 1981a, b; Hayashi, 1983; August, 1984; Barlough, 1984), deren Ablagerung als mögliche Ursache für die Entstehung der proteinreichen Körperhöhlenergüsse angesehen wird. In Gefäßwänden abgelagert Immunkomplexe führen über die Freisetzung vasoaktiver Amine zur Endothelzelletraktion und somit zum Austritt von Plasmaproteinen (Addie und Jarrett, 1998). Makrophagen in den Läsionen synthetisieren Interleukin 1 (IL-1) (Hasegawa und Hasegawa, 1991). Es wird vermutet, dass IL-1 über eine mögliche Endothelzell-Aktivierung, seine chemotaktische Wirkung und die Induktion der Freisetzung anderer Zytokine eine Rolle bei der Entstehung der entzündlichen Prozesse hat (Hasegawa und

Hasegawa, 1991). Desweiteren wurden bei Katzen mit FIP Apoptosen von T- und B-Zellen ohne deren FCoV-Infektion beobachtet, was auf eine indirekte Wirkung des Virus über eine Freisetzung von löslichen Faktoren aus den infizierten Makrophagen hindeutet (Haagmans et al., 1996).

Experimentelle Infektionen ergaben bei seropositiven Katzen einen fulminanteren Krankheitsverlauf als bei seronegativen, was als Antikörper-abhängige Verstärkung (antibody-dependent enhancement; ADE) bezeichnet wird und in einer erleichterten Phagozytose von Antikörper-beladenen Viruspartikeln durch die Makrophagen begründet zu sein scheint (Hohdatsu et al., 1991; Olsen et al., 1992; Corapi et al., 1992, 1995; Scott et al., 1995). Bekannt ist die ADE auch beim Humanen Immundefizienzvirus (HIV), dem Dengue Virus und anderen Viren (Porterfield, 1986). Allerdings gibt es keine Berichte über das Vorkommen einer ADE bei natürlichen FIP-Fällen. Stattdessen scheinen seropositive Katzen unter natürlichen Bedingungen zumindest zum Teil resistent gegen FIP zu sein (Addie et al., 1995b).

2.5 Klinik / Krankheitsformen der FIP

Nur bei 1-5% der Katzen kommt es nach einer FCoV-Infektion zur klinischen Manifestation einer FIP (Lutz et al., 1985). Die Symptomatik der FIP allerdings ist vielfältig. An FIP erkrankte Katzen sind immunsupprimiert (Haagmans et al., 1996). Die klinischen Symptome entwickeln sich parallel zu den pathologischen Veränderungen (Osterhaus, 1979). Der Krankheitsverlauf ist progressiv und meist fatal. Anfänglich herrschen unspezifische Allgemeinsymptome vor (Hirschberger et al., 1995), wie verminderter Appetit, Abgeschlagenheit (Rohrer et al., 1993) und verringertes Körperpflegeverhalten. Das fluktuierende Fieber ist therapieresistent, im Anfangsstadium wird es meist nicht erfaßt. Hinzu kommen häufig Vomitus und Diarrhoe oder Kotverhalten, Dehydratation und Anorexie. Rhinitis, Ikterus, Anämie und Urämie sind möglich (Rohrer et al., 1993; Hirschberger et al., 1995). Das fortgeschrittene Krankheitsbild richtet sich nach der Verlaufsform.

Man unterscheidet die effusive oder feuchte (nasse) Form und die nichteffusive oder trockene (granulomatöse) Form. Hök (1993a, b) vermutet, daß für die unterschiedlichen Verlaufsformen unterschiedliche Virustämme mehr als andere Faktoren eine Rolle spielen könnten. Die feuchte Form tritt 4x häufiger als die trockene auf (Grahn, 1991; Rohrer et al., 1993). Die beiden Formen können kombiniert auftreten (Lutz et al., 1985).

Bei der klassischen feuchten Form steht eine exsudative Peritonitis und/oder Pleuritis im Vordergrund. Neu und Pfeifer (1985) fanden die feuchte Form bei 94% ihrer untersuchten Fälle, 70% hatten einen deutlichen Bauchhöhlenerguß. Die Ergüsse können wenige Milliliter, über 700 ml (Toolan, 1993) oder sogar bis ca. zwei Liter betragen (Gerbig und Kraft, 1979). Die Umfangsvermehrung des Abdomens ist nicht oder bei Palpation nur geringgradig schmerzhaft. Bei hochgradigem Aszites ist Fluktuation vorhanden. Resultierend treten Atembeschwerden (Dyspnoe), in Extremfällen auch Maulatmung und Zyanose auf. Die Atemnot wird vom Besitzer häufig anamnestisch als Hauptsymptom angegeben. Thoraxergüsse (10-20 ml) verstärken diese Symptomatik, treten aber nur in 30 bis 50% (Barlough und Stoddart, 1990) der exsudativen FIP-Fälle auf. Eine Kombination von Bauchhöhlen- und Brusthöhlenerguß konnten Neu und Pfeifer (1985) sogar nur bei etwa 5% der Fälle finden. Selten ist die FIP mit einer Perikarditis vergesellschaftet, die bei ausgeprägter Form zur Herz-Kreislauf-Insuffizienz, bedingt durch perikardiale Effusion (Madron, 1986; Vacirca et al. 1989), führen kann. Bei 10% der effusiven Form treten ZNS-, bei 4% klinisch wahrnehmbare Augenveränderungen auf (Pedersen, 1983a). Weber (2000) fand bei 40% der Sektionskatzen mit effusiver FIP eine Beteiligung der Augen.

Die FIP in ihrer exsudativen Verlaufsform ist eine ausgesprochene Jungtierkrankheit (Hirschberger et al., 1995). Die trockene Form tritt mehr bei älteren Katzen und nach längerer Latenzzeit auf (Hayashi et al., 1980).

Die trockene Form ist klinisch oft nur unter Vorbehalt zu diagnostizieren. Auffällig sind die Abmagerung bei z. T. gutem Appetit und die z.T. vorhandenen Augenläsionen. Bei 40% der Fälle treten ZNS-, bei 35% Augenveränderungen auf (Pedersen, 1983a). Weber (2000) fand bei 60% der Sektionskatzen mit trockener FIP Augenläsionen. Oft sind nur die Augenbefunde klinisch erfaßbar. Charakteristisch sind pyogranulomatöse Entzündungen zahlreicher innerer Organe. Mitunter gelingt es dem erfahrenen Praktiker, pyogranulomatöse Herde als Vorwölbungen an Nieren oder Mesenteriallymphknoten zu palpieren, die einen Hinweis geben können (Lutz et al., 1985). Dabei handelt es sich um grauweiße Areale, die auch bei der effusiven, vorrangig aber bei der trockenen Form in verschiedenen Organen (z. B. Milz, Leber, Nieren, Netz, Peritoneum) zu beobachten sind. Histologisch handelt es sich um dichte Ansammlungen von Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen, welche meistens eine zentrale Nekrose mit Fibrineinlagerung umschließen. Eine Vergrößerung der Mesenteriallymphknoten kann die vorrangige oder alleinige Veränderungen einer FIP sein. Dabei handelt es sich um granulomatös-nekrotisierende Lymphadenitiden (Kipar et al., 1999a). Auskultatorisch oder

röntgenologisch erfaßbar sind lediglich Entzündungen im Bereich der Pleura, der Lunge oder des Herzens. In Fällen, bei denen Nierenversagen auftritt, ist dieses meistens auf eine interstitielle Nephritis zurückzuführen (Reinacher, 1994), nicht, wie man bei einer Immunkomplexkrankheit annehmen könnte, auf eine Glomerulonephritis.

Schwer zu diagnostizieren ist die ZNS-Form der FIP mit pyogranulomatösen Hirnveränderungen, da an den viszeralen Organen keine typischen Befunde erhoben werden können. Meningoenzephalitis und Panophthalmitis sind häufig miteinander vergesellschaftet (Slauson und Finn, 1972). Durch eine Vaskulitis im Gehirn (Entzündung disseminierter kleiner Gefäße, oft mit Bildung von Abscheidungsthromben) können Hämorrhagien und akute schwere neurologische Erscheinungen auftreten (Reinacher, 1994). Primär führt die FIP nicht zu einer Enzephalitis, sondern zu einer Meningitis (Reinacher, 1994). Die neurologische Symptomatik ist vielfältig und kann durch Inkoordination, Paresen, Nystagmus, Konvulsionen, Tremor, Nervenlähmungen [schwankender Gang, Lähmungen der Vorder- und/oder Hinterextremitäten, Lähmungen des N. trigeminus und des N. facialis], Hyperästhesie, generalisierte Ataxien, Schiefhalten des Kopfes, Verhaltensstörungen und Harninkontinenz gekennzeichnet sein (Kornegay, 1978).

Über ein Drittel der Katzen mit neurologischer Symptomatik zeigen keine anderen Anzeichen der FIP (Shell, 1997). Fankhauser und Fatzer (1977) berichten über vier Katzen im Alter von 5 Monaten bis 2 Jahren mit granulomatöser Meningitis und Chorioependymitis im Zusammenhang mit der FIP. Krum et al. (1975) erwähnen bei der nichteffusiven Form einen assoziierten Hydrocephalus bei einer jungen Katze. Neben dem Hydrocephalus ist die Hydromyelia bei einer einjährigen kastrierten Katze beschrieben (Tamke et al., 1988).

Die FIP kann an allen Geweben des Auges zu Läsionen führen (Slauson und Finn, 1972; Weber, 2000). In der Regel stellen sich die Augenveränderungen aber als Uveitiden dar, welche aus der hohen immunologischen Sensibilität der Uvea resultieren (Schmidt, 1998). Bereits 1971 diagnostizierte Doherty bei 3 Katzen mit FIP eine bilaterale Uveitis. Gelatt (1973) erwähnt das Vorkommen bilateraler Augenveränderungen bei einer 6 Monate alten Katze mit FIP. Er diagnostizierte eine Panophthalmitis und Iridozyklitis mit Präzipitaten an der Hornhauthinterfläche.

Charakteristische Augenveränderungen sind Iritis, Irisatrophie, Uveitis (Shell, 1997), Trübung des Augenkammerwassers, keratitische Präzipitate (= Hypopyon: Neutrophile Granulozyten, wenige Lymphozyten, Zelldebris), entzündliche Niederschläge auf dem

Hornhautendothel, Hornhautendotheldegenerationen, Hornhautödem, Hornhautgeschwür, Linsenkatarakt, Glaskörpertrübungen, Retinitis, Netzhautblutungen und Phthisis bulbi (Krebiel et al., 1974; Kellner und Litschi, 1989; Weber 2000). Eine durch das FIPV bedingte Iritis ist nicht zu unterscheiden von einer FeLV-bedingten Uveitis (Kellner und Litschi, 1989). Die Blutgefäße sind bei der FIP stets mit einbezogen, der Nervus opticus kann involviert sein (Slauson und Finn, 1972).

2.6 Diagnostik der FIP

Die Diagnose FIP wird heute intra vitam unter Berücksichtigung von Anamnese, klinischer Symptomatik, anhand der Laborergebnisse inklusive Analyse des Ergußaspirates, des Coronavirus-Antikörpertiters und/oder mittels Biopsie gesichert (Barlough, 1985; Rohrer et al., 1993). Die Histopathologie ist die einzige ohne Einschränkung anerkannte Methode zur Diagnosesicherung (Grahn, 1991; Sparkes et al., 1992). Die Immunfluoreszenz-Technik (Lange et al., 1987; Kölbl und Schuller, 1988) wird zum Nachweis von Antikörpern gegen FCoV genutzt (Pedersen, 1976b; Osterhaus et al., 1977) und ist dem kompetitiven ELISA, bei dem monoklonale Antikörper genutzt werden (Fiscus et al., 1985), an Sensitivität überlegen (Viefhues et al., 1990). Kai et al. (1992) beschreiben die Immunperoxidase-Antikörper-Technik als mögliche Methode der Antikörperbestimmung bei der FIPV-Infektion. Schwendenwein und Koelbl (1991) berichten über die Entwicklung eines kommerziell verfügbaren CELISA zur Antikörper-Bestimmung bei der FIPV-Infektion. Die Ergebnisse von verschiedenen angewandten Testsystemen für FIPV-Antikörper sind nach Troy et al. (1996) nicht diagnostisch verwertbar. Der von "IDEXX" entwickelte und lange Zeit vertriebene SNAPTMFIP-Test, der einen für das E1 Envelope-Antigen spezifischen monoklonalen Antikörper enthielt, der mit E1-spezifischen Antikörper in der Probe konkurrierte, wurde aufgrund vermehrter Kritik im letzten Quartal 1997 aus dem Sortiment genommen (persönl. Mitteilung Dr. Fuchs, "IDEXX"). Damit entfiel einer der wenigen kommerziell erhältlichen Schnell-Tests für den praktischen Tierarzt. Die Firma "A. Albrecht & Co KG", Aulendorf, hat ihren Schnell-Test kürzlich (1999) von FIP SPEED[®] in Coronavirus SPEED[®] umbenannt. Unbeirrt davon nennt die Firma "scil animal care company GmbH" ihren angebotenen Schnell-Test der Firma "MegaCor Diagnostik GmbH" (Austria) nach wie vor FASTest[®] FIP, obwohl der Test Coronavirus-Antikörper nachweist und nicht FIP-spezifisch reagiert. Die Sensitivität wird von "scil animal care company GmbH" mit 97,4 % und die Spezifität mit 94,6 % angegeben. Das DiasystemTM

FIP-Test Kit, ein kompetitiver ELISA (CELISA), wird von der Firma "Tech Amerika Diagnostics", Omaha, Nebraska angeboten. Man benötigt nur 25 µl der entsprechenden Probe. Nachgewiesen werden Antikörper, die gegen das Hüllglykoprotein E1 des FIPV gerichtet sind. Das Testprinzip beruht auf der kompetitiven Hemmung der Bindung enzymmarkierter monoklonaler Antikörper, durch in der Probe vorhandene Antikörper gegen das E1-Protein des auf den Teststreifen aufgetragenen FIPV. Sind in Serum oder Aszites Antikörper vorhanden, verdrängen sie den monoklonalen Antikörper von der spezifischen Bindungsstelle, der Farbumschlag unterbleibt. Es handelt sich also um ein visuelles System (farblos = positiv und blaugrün = negativ). Gegenüber dem IFT erwies sich der CELISA als wenig sensitiv. Erst bei hohen Antikörper-Titern zeigte das Testkit positive Ergebnisse (Viefhues et al., 1990).

In der Praxis genügen bei der effusiven Form oftmals die Ergebnisse der gründlichen Untersuchung. Die trockene Form, besonders wenn nur das ZNS und/oder die Augen betroffen sind, stellt für jeden Tierarzt eine echte diagnostische Herausforderung dar (Rohrer et al., 1993).

2.6.1 Hämatologie und Serologie

Die hämatologischen und klinisch-chemischen Befunde sind bei der effusiven und der nichteffusiven Form der FIP ähnlich, aber sehr variabel und nicht pathognomisch (McReynolds und Macy, 1997). Im Blut treten häufig erhebliche Leukozytosen auf, die im allgemeinen auf eine Neutrophilie zurückgehen, wobei ganz erhebliche Linksverschiebungen vorkommen können (Gerbig und Kraft, 1979; McReynolds und Macy, 1997). Aber auch normale Leukozytenzahlen bis zu mäßigen Leukopenien sind möglich. Gering- bis mittelgradige Anämien treten gehäuft auf. Lymphopenien ($< 1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$) komplettieren das veränderte Blutbild. Im Serum sind besonders die Glutaminsäure-Pyruvat-Transaminase (GPT [=ALT]), die Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), oft auch die Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase (GOT [=AST]), die Alkalische Phosphatase (AP) und die Bilirubinwerte (konjugiertes Bilirubin) erhöht (McReynolds und Macy, 1997). Bei Nierenschädigungen lassen sich erhöhte Blutplasmakonzentrationen von Harnstoff und Kreatinin nachweisen (Weiss und Scott, 1980). Häufig findet man auch eine erhöhte Plasmaprotein-Konzentration ($> 80 \text{ g/l}$), hauptsächlich durch die Vermehrung der Immunglobulinfraktion (Hypergammaglobulinämie). Die Serumelektrophorese zeigt aber auch markante Erhöhungen der α - und β -Fraktionen (Gerbig und Kraft, 1979; Lutz, 1992).

Die erhöhten Blutplasmakonzentrationen von Fibrinogen (> 4 g/l) sind als Ausdruck einer Entzündung anzusehen. Bei der effusiven Form kann es zu einer Verbrauchskoagulopathie (DIC) kommen. Blutungszeit, Prothrombinzeit und partielle Thromboplastinzeit sind dabei verlängert. Bei derartigen Katzen fanden Weiss und Scott (1980) erniedrigte Thrombozytenzahlen und erhöhte Mengen von Fibrinabbauprodukten. Es kommt bei der DIC zur Abnahme der Gerinnungsfaktoren VII, VIII, IX, X und XII.

2.6.1.1 Antikörper-Bestimmung

2.6.1.1.1 Indirekte Immunfluoreszenztechnik (IFT)

Als Routinemethode zur Antikörperbestimmung (im Verlauf einer Infektion mit dem FIPV werden von der Katze humorale Antikörper [Ak] gebildet, deren Nachweis diagnostischen Zwecken dient [Barlough et al., 1983a]) hat sich in verschiedenen Labors die indirekte Immunfluoreszenztechnik etabliert (Gierend und Heppner, 1983; Frost und Lohrbach, 1987; Vanden Bossche, 1990a,b).

Frost und Lohrbach (1987) bestätigten die hohe Spezifität dieses Verfahrens durch komplette Übereinstimmung zwischen FIP-verdächtigem Aszitesmaterial obduzierter Katzentierkörper und dem positiven fluoreszenzserologischen Befund.

Die Methode ist relativ zeit- und arbeitsaufwendig. Dabei werden entweder FIPV- oder aber TGEV-infizierte Kulturen verwandt (Osterhaus et al., 1977; Möstl, 1983; Lutz et al., 1984; Lange et al., 1987), die auf Deckgläser oder Objektträger fixiert sind. Die zu untersuchenden Serumproben werden logarithmisch verdünnt aufgetragen, anschließend wird mit Konjugat markiert. Als Titer gilt diejenige Serumverdünnung, bei der unter dem Mikroskop noch eine spezifische Fluoreszenz zu erkennen ist. Die enge Antigenverwandschaft des FIPV mit den bereits erwähnten Coronaviren (Tabelle 1) erschwert eine eindeutige Beurteilung der ermittelten Antikörpertiter (Reubel, 1987). Ein weiterer Störfaktor sind kurz vorher erfolgte Routineimpfungen gegen andere virale Erreger. Diese aus Zellkulturen hergestellten Vakzinen enthalten in der Regel Rinderserumbestandteile, gegen die die Impflinge Antikörper bilden. Diese reagieren unter Umständen mit ähnlichen Bestandteilen des Testsystems. Die Folge sind dann falsch positive Ergebnisse (Barlough et al., 1984). Drei bis vier Monate nach solchen Impfung werden die serologischen Ergebnisse nicht mehr beeinflusst.

Die CoV-Ak-Titerbestimmung kann immer nur einen Parameter der FIP-Diagnostik darstellen (Rohrer et al., 1993). Viele FCoV-Ak-Tests liefern keine signifikanten Ergebnisse (Troy et al., 1996). Steigende CoV-Ak-Titer sind kein Indikator dafür, daß die Katze eine FIP entwickeln muß (Kipar et al., 1999b; Addie et al., 2000). Positive CoV-Ak-Titer kommen bei gesunden, d. h. klinisch unverdächtigen Katzen vor (Gierend und Heppner, 1983; Addie und Jarrett, 1992) und rechtfertigen nicht die Euthanasie eines Tieres, zumal ein hoher Prozentsatz innerhalb eines Jahres seronegativ werden kann (Addie und Jarrett, 1994). Lediglich negative oder sehr hohe Ak-Titer (> 1600) können zur Stellung der Diagnose beitragen. Niedrige oder mittlere Ak-Titer sollten nicht zur Diagnosefindung herangezogen werden. Lutz et al. (1986) stellten fest, daß bei Katzen, bei denen postmortal FIP diagnostiziert wurde, die Ak-Titer > 400 lagen. Bei nachweislich nicht an FIP erkrankten Katzen dagegen treten Ak-Titer > 400 nur in Ausnahmefällen auf. Die Autoren betrachten deshalb Ak-Titer > 400 zusammen mit einer klaren klinischen Symptomatik als hilfreichen, jedoch nicht eindeutigen Hinweis. Unbedingt zu beachten ist bei der CoV-Ak-Titerinterpretation die Haltungform der Katzen, da die Seren aus Zuchten und Mehrfachkatzenhaltungen häufig hohtitriger sind als Seren von klinisch gesunden Katzen aus Einzelhaltung (Vanden Bossche, 1990a). Das bedeutet, daß Katzen mit klinischem FIP-Verdacht aus Einzelhaltungen mit hohen Ak-Titern wahrscheinlicher FIP haben, als solche aus größeren Beständen.

2.6.1.2 Kompetitiver ELISA zum Nachweis von Coronavirus Immunkomplexen

In diesem Test werden die für die FIP charakteristischen Immunkomplexe nachgewiesen (Pfeiffer, 1991; Schroo, 1994). Zur Untersuchung eignen sich Serum- oder Aszitesproben (200-300 μ l sind ausreichend). Bis zum Testeinsatz sollten die Proben tiefgekühlt gelagert werden. Bei einer im ELISA positiv reagierenden kranken Katze liegt mit 97%iger Wahrscheinlichkeit eine FIP vor (Reinacher, 1994). Die so nachgewiesene Infektion erlaubt bei gesunden Katzen aber keine Vorhersage, ob das Tier eine klinisch manifeste FIP entwickeln wird. Somit wird nur eine stattgefundene Infektion mit Virusvermehrung nachgewiesen, bei der zirkulierende Immunkomplexe vorhanden sind. Ein negatives Testergebnis schließt das Vorliegen einer FIP nicht aus. Bei grenzwertigen Ergebnissen empfiehlt sich nach sechs Wochen eine Nachtestung. Nachteile des ELISA sind der enorme Aufwand (Kühlzentrifugation bei hohen Drehzahlen) und der Zeitfaktor (1½ Tage). Diese Umstände beschränken den Routineeinsatz (Reinacher, 1994).

2.6.2 Punktat

Obwohl FIP-Katzen die größte Gruppe unter den Patienten mit Körperhöhlenergüssen darstellen, kann die FIP keineswegs als die Hydropsursache schlechthin angesehen werden (Hirschberger et al., 1995). Generell werden bei der FIP wesentlich häufiger abdominale als thorakale Ergüsse beobachtet. In Zellen in den Effusionen ist Coronavirus mittels der direkten Immunfluoreszenztechnik nachweisbar (Cammarata et al., 1993). Die Aszites- und Pleuraflüssigkeit ist klar, im fortgeschrittenen Stadium viskös, geruchlos, fadenziehend und von gelblicher oder strohähnlicher bis gelblichbrauner (bernsteinähnlicher) Farbe. Es handelt sich um zellarme Exsudate. An der Luft erfolgt schnell eine Gerinnung bzw. Gelierung. Fibrinflocken können enthalten sein. Das ist auch der häufigste Grund, wenn bei der abdominalen Punktion die Kanüle verstopft (Gerbig und Kraft, 1979). Die Punktionskanüle sollte deshalb mindestens einen Durchmesser von 0,9 mm haben. Der Erguß ist für gewöhnlich bakteriologisch steril (Weiss und Scott, 1980). Bei langem Verlauf ist eine pseudochylöse Umwandlung des Exsudates möglich. Einige mögliche Laborbefunde sind in Tabelle 3 (Weiss und Scott, 1980; Rohrer et al., 1993; Hirschberger et al., 1995) zusammengefaßt.

Hilfreich bei der Diagnostik bei Katzen mit Körperhöhlenergüssen ist im Zweifelsfall auch der Albuminglobulinquotient (Alb/Glob). Ein Alb/Glob < 0,6 im Serum ist spezifisch für einen entzündlichen Prozeß und trennt weitgehend FIP-krankte Patienten von anderen. Ein Alb/Glob \geq 0,8 schließt FIP fast aus (Hirschberger et al., 1995). Ein hohes Maß an Sensitivität und Spezifität weist der Rivalta-Test auf (Hirschberger et al., 1995).

Tabelle 3: Laborbefunde bei FIP-Ergüssen (Thorax und Abdomen)

Parameter	Laborwert
Laktatdehydrogenaseaktivität	< 300 U/l: keine FIP
RIVALTA-Probe	stets positiv
Gammaglobulin	> 32%: FIP möglich
Alb/Glob-Quotient	0,6-0,81
spezifisches Gewicht	1017-1047
Proteinkonzentration	50-80 g/l
Zellgehalt	< 25 000 Leukozyten/ μ l

2.6.3 Virusnachweis

Eine routinemäßige Virusisolation zur FIP-Diagnose ist nicht möglich (Barlough und Weiss, 1983), da insbesondere die in Feldinfektionen dominierenden Serotyp I FCoV nur schlecht in der Gewebekultur wachsen (Pedersen et al., 1984a, b; Hohdatsu et al., 1992; Vennema, 1999). In vivo wurde das FIPV elektronenmikroskopisch in Makrophagen innerhalb entzündlicher Ablagerungen nachgewiesen (Ward, 1970; Pedersen, 1976b). Die Immunhistologie ist ein etabliertes Verfahren, um postmortal mittels FCoV-Antigen-Nachweis in Makrophagen in den Granulomen die Diagnose FIP zu bestätigen (Tammer et al., 1995; Tammer, 1996; Kipar et al., 1998). Intra vitam kann die histologische Untersuchung einer Biopsie zusammen mit dem immunhistologischen Nachweis von FCoV-Antigen in den Granulomen die klinische Verdachtsdiagnose FIP bestätigen (Reinacher, 1994; Tammer et al., 1995; Kipar et al., 1998). Mittels RT-PCR läßt sich FCoV-Genom in Blut, Aszites, Granulomen und Fäzes nachweisen (Li und Scott, 1994; Herrewegh et al., 1995b; Addie et al., 1996; Richter et al., 1996; Foley et al., 1997b; Gamble et al., 1997; Gunn-Moore et al., 1998; Kennedy et al., 1998; Kipar et al., 1999b). Kennedy et al. (1998) meinen, daß die PCR (Aszites oder Plasma als Proben) in der intra vitam-Diagnostik mit der Genauigkeit der histopathologischen Untersuchung vergleichbar ist, ohne das Risiko, welches die Biopsie in sich birgt. Der Nachweis der Virusausscheidung ist mittels RT-PCR und Elektronenmikroskopie (Negativ-Staining) zum Nachweis von Viruspartikeln in den Fäzes möglich (Herrewegh et al., 1995b; Vieler und Herbst, 1995; Addie et al., 1996; Gamble et al., 1997; Kipar et al., 1999b).

Hök (1990, 1991) sah auch den FCoV-Antigen-Nachweis in der Membrana nictitans (M3-Test) als spezifischen und sensitiven Test für die intra vitam-Diagnose einer FIP an. Sie konnte bei experimentell infizierten Tieren FCoV aus der Membrana nictitans isolieren (Hök, 1993a, b). Allerdings ist zu bedenken, daß auch Katzen, die keine FIP entwickeln, durchaus lokale FCoV-Infektionen am Auge durchmachen können. Darauf deutet der Nachweis von Plasmazellen in situ, die FCoV-spezifische Antikörper produzieren, in der Konjunktiva von Katzen ohne spezifische Augenschäden und ohne FIP hin (Weber, 2000).

2.6.4 Zerebrospinalflüssigkeit

Die Entnahme von Liquor ist eine für die Katze belastende diagnostische Maßnahme und sollte deshalb wohl überlegt sein. Die Untersuchung des Liquors ist schwierig und

aufwendig, was die praktische Durchführung zusätzlich limitiert (Rohrer et al., 1993). Diagnostisch verwertbar sind die stets positive Pandy-Reaktion (Eiweißfällungsreaktion zum semiquantitativen Nachweis einer Globulinvermehrung im Liquor cerebrospinalis mit einer speziellen Karbolsäurelösung) und der Nachweis einer Pleozytose (Zellvermehrung im Liquor cerebrospinalis) (Fankhauser und Fatzer, 1977).

2.6.5 Diagnoseschlüssel

Im Jahre 1992 wurde aufgrund der Ergebnisse einer retrospektiven Studie in der Schweiz ein Algorithmus entwickelt, der zur Diagnostik der FIP eine wertvolle Hilfe darstellt (Rohrer et al., 1993). Dazu wurden in den Jahren 1982-1990 an der Veterinärmedizinischen Klinik der Universität Zürich 136 an FIP erkrankte Katzen untersucht, wobei die klinische FIP-Diagnostik in den Mittelpunkt gestellt wurde. Schwerpunkt war die kritische Auseinandersetzung mit den serologischen CoV-Ak-Titern. Eine FIP-Diagnose, die sich allein auf einen positiven CoV-Ak-Titer stützt, kommt nach Rohrer et al. (1993) einem Kunstfehler gleich und berechtigt keinesfalls zur Euthanasie des betroffenen Tieres. Interessant ist der Algorithmus hauptsächlich für die differentialdiagnostisch anspruchsvolle nichteffusive Form der FIP. Ein ähnliches Diagnoseschema veröffentlichten 1997 McReynolds und Macy. Nur knapp 5% der an FIP erkrankten Katzen wurden in der Studie von Rohrer et al. (1993) nicht durch den Algorithmus erfaßt. Das entspricht einer diagnostischen Sensitivität von 95%. Die diagnostische Spezifität betrug 89%.

2.6.6 Differentialdiagnosen der FIP

2.6.6.1 Differentialdiagnosen der effusiven FIP

Die Ursachen von Körperhöhlenergüssen bei der Katze können vielfältig sein (Kersten, 1985). Alle Krankheitsprozesse, die zu einer Flüssigkeitsansammlung in Bauch- oder Brusthöhle führen können, kommen in Frage (Gerbig und Kraft, 1979). Dazu gehören Steigerung des hämodynamischen Druckes durch Stauungen, Verminderung des kolloidosmotischen Druckes durch Hypalbuminämie, entzündliche Prozesse (Serositis purulenta), Pfortaderthrombosen, Verletzungen des Ductus thoracicus (echter Chylus), Eiweißabbauprodukte bei älteren entzündlichen Prozessen (Pseudochylus), Verletzung der harnableitenden Wege, Verletzung der Gallengänge und Gallenblase, Verletzung größerer

Gefäße und Organe (Blutungen, Hämatome) und Tuberkulose. Als wichtigste Differentialdiagnosen kommen Malignome und Herzinsuffizienz ätiologisch in Betracht (Hirschberger et al., 1995). Horchler-Jahn und Seidel (1993) beschrieben bei der Katze einen Fall von Aszites abdominalis infolge eines Luteoms.

2.6.6.2 Differentialdiagnosen der nichteffusiven FIP

Prinzipiell sind differentialdiagnostisch chronische entzündliche Erkrankungen mit Hyperglobulinämie und andere Infektionskrankheiten (z. B. Toxoplasmose, Tuberkulose, Blastomykose, Kryptokokkose, Yersiniose, FeLV-Infektion, Kokzidiose und Tollwut) abzuklären (Rohrer et al., 1992, 1993; Hirschberger et al., 1995).

Zur ZNS-Form der FIP kommen besonders bei jungen Katzen differentialdiagnostisch Kleinhirnhypoplasie oder zerebelläre Ataxie in Betracht (Fankhauser und Fatzer, 1977), ebenso sind leukodystrophische Erkrankungen des Gehirns (Typus Krabbe [Fatzer, 1975]), Lipidosen und Gangliosidosen (Speicherkrankheiten) beschrieben (Hirschberger et al., 1995).

In Betracht ziehen sollte man bei ausschließlicher ZNS-Symptomatik bei der Katze auch Intoxikationen und Traumata (Fankhauser und Fatzer, 1977)

2.7 Prävention

Das Management in Katzenzuchten oder größeren Beständen spielt eine wichtige Rolle bei der Verhütung von Coronavirus-Infektionen (Addie und Jarrett, 1990). Nur ein konsequentes, komplexes Programm ist wirkungsvoll (Addie und Jarrett, 1995). Es wird angeraten, neugeborene Katzen zusammen mit ihren Wurfgeschwistern vollständig isoliert von anderen Katzen zu halten. Bei einem seropositiven Muttertier sollten die Welpen mit 5-6 Wochen abgesetzt und von der Mutter separiert werden, da maternale Antikörper gegen FCoV nur bis zur 6. Woche protektiv sind. Insgesamt ist es sinnvoll, die Streßfaktoren zu minimieren. Dabei sollten optimale Ernährung, regelmäßige Impfungen und Entwurmungen sowie ein entsprechender Hygienestandard selbstverständlich sein. Eine geringe Haltungsdichte wird empfohlen (Barlough und Stoddart, 1990; Weiss, 1991; Lutz et al., 1985). CoV-Ak-positive Tiere sollten nicht in CoV-Ak-negative Bestände verbracht werden. Mit persistent FeLV-infizierten Tieren sollte nicht gezüchtet werden. Neuzugänge in Zuchten sollten auf CoV-Ak getestet werden, eine Quarantäne ist obligat. Sollte ein Tier

an FIP erkranken, ist es sofort aus dem Bestand zu eliminieren. Zuchten sollten jährlich bei 10-20% der Population eine CoV-Ak-Titerbestimmung durchführen (Bölcskei et al., 1995). Fehr et al. (1995) nehmen an, daß mit diesen Maßnahmen, kombiniert mit der Impfung, die FIP-Häufigkeit noch wirkungsvoller bekämpft werden könne. Privathaushalte, die ein Tier durch die FIP verloren haben, sollten sich frühestens nach zwei Wochen sowie gründlicher Reinigung und Desinfektion eine neue Katze anschaffen. Vollkommen einzeln gehaltene Hauskatzen sind relativ ungefährdet, jedoch gibt es auch hier Berichte über Erkrankungen (Suter et al., 1993).

2.7.1 Vakzination

Das Hauptproblem bei dem Versuch der Vakzination ist die nicht vollständig aufgeklärte Pathogenese der FIP sowie die antigenetische Kreuzreaktion zwischen den verschiedenen feline Coronavirustypen. Daraus ergeben sich viele Betrachtungsvarianten und viele Ansatzpunkte für eine eventuelle Lösung der Problematik. Viele Forscher versuchten jahrelang, eine sichere und effektive FIP-Vakzine zu entwickeln (Scott, 1987; Olsen und Scott, 1991). Der ideale Impfstoff wurde beschrieben als eine auf dem FIPV basierende Lebendvakzine, die in die Makrophagen eindringt und eine zellvermittelte Immunantwort induziert, ohne die Krankheit auszulösen, vor der sie schützen soll (Pedersen und Black, 1983; Pedersen, 1989). Die verschiedensten Methoden der Immunisierung wurden versucht, waren aber lange erfolglos (Scott, 1987). Eine kommerzielle FIP-Vakzine ist verfügbar, aber der Einsatz ist umstritten (Wolf, 1997).

Teilweisen Erfolg versprachen Versuche, Katzen mit gering virulentem FIPV oder kleinen Mengen virulenter Viren zu immunisieren. Dies scheiterte jedoch an der Ermittlung der entsprechenden Dosen. Mit derselben Dosis einer Charge wurden manche Katzen immun, andere erkrankten, wiederum andere konnten nicht einmal dadurch infiziert werden. Vakzinen, die totes Virus enthielten, waren ebenfalls nicht protektiv (Pedersen und Black, 1983). Der eintretende Effekt war sogar gegenteiliger Natur, es wurde eine Sensibilisierung der Katzen in dem Sinne bewirkt, daß sie für eine nachfolgende FIPV-Infektion empfänglicher wurden. Der Krankheitsverlauf war dann fulminanter und deutlich schwerer als bei ungeimpften Tieren. Das gleiche geschah mit Katzen, die mit avirulentem FIPV (Black-Stamm) oronasal infiziert wurden und anschließend einer oronasalen Belastungsinfektion mit einem virulenten FIPV-Stamm (UCD 1 oder NWI) unterzogen

wurden (Pedersen und Floyd 1985). Als Ursache für das Versagen von avirulenten Lebendimpfstoffen bei der Immunisierung gegen das FIPV sahen Pedersen und Black (1983) das Phänomen des ADE. Außerdem stellten sie die Hypothese auf, daß avirulentes Virus nicht protektiv wirken könne, weil es nicht lange genug im Körper persistiere.

Fehr et al. (1997) bewerteten einen modifizierten Lebendimpfstoff in einem Doppelblindversuch mit Placebo-Kontrolle unter Feldbedingungen als sicher bei Tieren mit niedrigen Antikörpertitern gegen FCoV, wenn nur geringer Infektionsdruck besteht.

Teilweisen Erfolg hatten Escobar et al. (1992) mit einem Immunisierungskonzept mit speziellen Antikörpern ("anti-idiotypic antibodies"), welches aber nicht in der Lage war, alle Tiere zu schützen.

Obwohl mit dem FIPV Ferkel gegen eine TGEV-Infektion geschützt werden können, mißglückten Versuche, Katzenwelpen mit dem TGEV zu immunisieren (Toma et al., 1979; Woods et al., 1979). Die mit TGEV vakzinierten Katzen überlebten eine FIPV-Belastungsinfektion (UCD 1) nicht (Woods und Pedersen, 1979). Auch Versuche, bei denen andere nahe verwandte Coronaviren wie das FECV, CCV oder das HCV-229E genutzt wurden, schlugen fehl (Pedersen, 1989). In dieser Veröffentlichung postulierte der Autor, eine auf dem FECV basierende Vakzine könnte eventuell deshalb nicht vor FIP schützen, weil sie zur Antikörper-Produktion führt und keine zellvermittelte Immunität erzeugt. Immunisierungen mit verschiedenen FECV-Stämmen verstärkten in manchen Fällen den Verlauf der Infektion mit verschiedenen FIP-Stämmen. (Evermann et al., 1991). CCV ergab keinen Impfschutz gegenüber einer Belastungsinfektion mit FIPV (Barlough et al., 1983b). Eine Infektion mit HCV-229E schützte Katzen nicht bei einer Belastungsinfektion mit FIPV-Aerosol, sensibilisierte sie aber auch nicht. Es fand nur eine geringgradige oder gar keine in vivo-Vermehrung von HCV-229E in inokulierten Katzen statt (Barlough et al., 1985).

Ebenfalls keinen Erfolg hatten Vennema et al. (1990) bei der Anwendung eines vacciniarekombinanten Impfstoffes. Das kodierte Gen für das Spike-Glykoprotein des FIPV wurde ins Genom des Pockenvirus eingebaut. Nach einer initialen Impfung von Katzen stellte man geringe Titer virusneutralisierender Antikörper und einen hohen IgG-Gehalt fest. Bei der anschließenden Belastungsinfektion mit dem FIPV 79-1146 starben jedoch die mit dem rekombinanten Impfstoff vakzinierten Tiere früher als diejenigen, die mit einem Wildtyp-Pockenvirus immunisiert worden waren ("early death syndrome"). Die Ursache dafür sahen Vennema et al. (1990) in dem Phänomen des ADE. Es ist also

möglich, daß eine Immunantwort gegen das virale Spikeprotein verheerende Folgen für eine Katze haben kann, die sich zu einem späteren Zeitpunkt mit dem FIPV infiziert. Die Autoren betonten darauf hin, daß bei den Immunisierungsstrategien gegen das FIPV extreme Sorgfalt nötig sei. Die Immunisierung nach gleichem Modell mit vacciniarekombinantem M-Protein verkürzte im Gegensatz zu einer Immunisierung mit dem N-Protein ebenfalls die Überlebenszeit nach einer Belastungsinfektion (Vennema et al., 1991).

Der Gedanke, einen Impfversuch mit einem temperatursensitiven FIPV-Stamm durchzuführen, wurde von Baldwin und Scott (1997) aufgegriffen. Man benutzte die FIPV-Stämme UCD1 und 1146. FIPV 1146 wurde bei einer suboptimalen Temperatur von 34°C passagiert. Im Versuch wurden 14 12-Wochen alte SPF-Katzen zuerst intratracheal mit low passage-(LP) FIPV-1146 konfrontiert, am 133. Tag erfolgte eine zweite Inokulation intranasal mit high passage (HP)-FIPV-1146 [10^4 bis 10^6 TCID₅₀]). Die Tiere wurden in zwei Gruppen geteilt. Nach 55 Tagen erfolgte die aerogene Belastungsinfektion mit virulenten FIPV-1146 oder FIPV-UCD1. Der klinische Status der Tiere, die mit der intratrachealen/intranasalen Kombination geimpft wurden, war unauffällig, der Schutz aber nicht komplett, wie die histologischen Untersuchungen ergaben. Nach der intranasalen Applikation zeigten alle Tiere Serokonversion. Im Experiment wurde mit verschiedenen Dosierungen bei der intratrachealen Applikation gearbeitet. Serologische Reaktionen konnten bei Katzen, die mit 100 PFU (plaque forming units) oder weniger inokuliert wurden, nicht gefunden werden. Auch bei 1000 PFU reagierten nicht alle Tiere. Nur vier Tiere (10.000, 100.000 oder 400.000 PFU) serokonvertierten. Einige geimpfte Katzen erkrankten bereits bei 10 000 PFU, andere Kontrolltiere dagegen nicht, obwohl eigentlich die aerosole Belastungsinfektion tödlich hätte sein müssen. Die Autoren vermuten, daß der Schutz durch das intratracheal verabreichte temperatursensitive FIPV-1146 verursacht wurde. Auch wurde in Erwägung gezogen, daß das FIPV durch die Züchtung bei reduzierter Temperatur genetisch stark verändert wird, weniger virulent ist und der IgA-Anstieg gering ist.

2.7.1.1 Primucell® FIP

Primucell® FIP erfüllt viele der nötigen Kriterien für den idealen Impfstoff. Drei wichtige Bedingungen wurden bei der Herstellung erfüllt:

1. bei intranasaler Verabreichung wird in der Nasen-Rachen-Mukosa eine starke Immunantwort induziert,
2. es entsteht keine starke humorale, sondern eine zellvermittelte Immunität (gemessen im Lymphozytenstimulationstest),
3. eine systemische Ausbreitung des Virus unterbleibt.

Das Impfvirus (vom Serotyp II abgeleitet) unterscheidet sich durch Temperaturempfindlichkeit, RNA-Synthese, E1-Protein (jetzt als M-Protein bezeichnet), Thermolabilität und das ausschließliche Wachstum in oropharyngealen Geweben bei einer Temperatur von 31°C (Christianson et al., 1989; Gerber et al., 1989) von dem virulenten FIPV-Elternstamm. Die Proteine der temperatursensitiven (ts)-Mutante, die in den Zellen des oberen Respirationstraktes exprimiert werden, stimulieren die Bildung von lokalem IgA, so daß die Primärinfektion nach Exposition unterbleibt (Gerber et al., 1991). Bei geimpften Katzen wurde das ts-Virus aus dem Pharynx, den Tonsillen, der Trachea und den Endoturbinalia am ersten, zweiten und vierten Tag nach der Vakzination isoliert. Eine systemische Ausbreitung wurde nicht gefunden (Christianson et al., 1989). Beeinträchtigungen durch andere oder von anderen Impfstoffen konnten nicht nachgewiesen werden (Gerber, 1995).

Die Vakzine Primucell[®]FIP ist prinzipiell auch geeignet, eine FECV-Infektion zu verhindern. In Versuchen mit seronegativen SPF-Katzen konnten die Impftiere vor einer FECV-Infektion bzw. vor einer FECV-induzierten Enteritis geschützt werden (Hoskins et al., 1995a).

Vorab getätigte Studien zeigten die Sicherheit der Vakzine (Gerber et al., 1989). Hawkins (1991) wandte allerdings ein, daß die dauernde Stabilität der ts-Virusmutanten noch nicht bewiesen sei. Auch müsse geklärt werden, ob eine Rekombination des Impfvirusstammes mit Feldviren vorkommen könnte, was für vakzinierte Katzen eine verheerende Wirkung haben könnte. Der Impfschutz der Vakzine lag nach einer ersten oralen Infektion mit einem virulenten (homologen) FIPV-DF 2 bei 85%, nach einer zweiten bei 80 %. Keines der Tiere zeigte eine ADE. Die geimpften Katzen wiesen höhere IgA-Spiegel im Speichel auf (Gerber et al., 1990, 1991).

Scott et al. (1992, 1995a) stellten fest, daß der Schutz vor experimentellen Infektionen vom Virusstamm und insbesondere von der Virusdosis abhängig ist. Sie beobachteten die ADE bei Infektion mit hohen Dosen des homologen Virusstammes sowie bei Infektion durch den heterologen Virusstamm 79-1146. Eine Exposition mit $> 10^5$ TCID₅₀ (Tissue culture infectious dose 50%) führte bei einigen Tieren zu einem schnelleren Krankheitsverlauf. Sie

konnten damit die früheren Ergebnisse von Gerber et al. (1990) nicht bestätigen. Die experimentelle Belastungsinfektion bezeichneten sie als kritischen Faktor für die Wirksamkeit der Vakzine.

Auch gegen eine Infektion mit dem britischen Feld-FIPV-Stamm CVR 1036 konnte die ts-FIPV-Vakzine nicht schützen. Orale Infektionsdosen von 10^3 bis 10^5 TCID₅₀ verursachten zu 75% und darüber FIP (McArdle et al., 1995).

Hoskins et al. (1995b) berichteten über eine Studie, bei der 20 Tiere in der 16. und 19. Lebenswoche intranasal mit einer kommerziellen Charge des ts-FIPV vakziniert wurden, 20 andere Tiere dienten als Kontrollgruppe. Vier Wochen nach der Boosterung erfolgte für alle Tiere die Belastungsinfektion mit 10^3 TCID₅₀ des FIPV-DF2. In der Impfgruppe erkrankten 5%, in der Kontrollgruppe 25% klinisch an FIP. In der endgültigen Auswertung nach Sektion und Immunhistologie betrug die geschützte Fraktion (preventable fraction) 50%.

Fanton (1991) wies in Langzeitstudien nach, daß die Vakzine Katzen nicht für eine FIP sensibilisiert. Die Anwendung könne außerdem ohne Berücksichtigung des FeLV- oder FIV-Status erfolgen.

In einer anderen Feldlangzeitstudie (Postorino Reeves et al., 1992) wurden 582 Katzen verschiedenen Alters mit je 2 Dosen vakziniert. 453 Tiere waren 541 Tage für diese Studie verfügbar. Davon starb nur ein Tier an FIP (Inzidenz: 0,2 %). Weiterhin zeigte diese Studie die Unbedenklichkeit einer gleichzeitigen verabreichten anderen Routineimpfung, was bei 68 % der Katzen praktiziert wurde. Negative Effekte durch die Kombinationsimpfungen konnten nicht beobachtet werden.

Berichte über den Einsatz der Primucell®FIP-Vakzine mehrten sich in den letzten Jahren, viele sind aber kritisch zu betrachten, weil oftmals eine Kontrollgruppe fehlte. Im Juli 1989 kam es in einer Mehrfachkatzenhaltung (Rasse: Cornish Rex) mit 39 Tieren aufgrund einer dazugesetzten Katze zum Einschleppen des FIPV. Das hinzugekommene Tier starb, die Obduktion ergab den Befund "nichteffusive FIP". In den nächsten 6 Monaten starben 17 Katzen. Davon wurde die Diagnose effusive FIP bei 7 Katzen durch die Sektion bestätigt, bei den restlichen wurde aufgrund der deutlichen Symptomatik auf eine Sektion verzichtet. Im Februar 1990 entschied man sich dann, alle verbliebenen 19 Tiere (3 Tiere wurden verkauft) intranasal mit Primucell®FIP zu immunisieren. Geboostert wurde nach 21 Tagen. Die im Anschluß geworfenen insgesamt 39 Welpen wurden im Alter von 8 und 11 Wochen, spätere Würfe sogar in der 3., 6. und 9. Lebenswoche immunisiert. Damit waren die Tiere deutlich unter dem vom Hersteller empfohlenen Impfalter. Die Population wurde dann 18

Monate lang ab der initialen Impfung beobachtet. Es starben weitere 9 adulte Tiere, jedoch nur 1 Welpen an FIP. Aufgrund der Ergebnisse wurde postuliert, daß die Impfung eine sichere Maßnahme und Hilfe sei, um die Krankheit unter Kontrolle zu halten (Panzero, 1992).

Hoskins et al. (1994) führten an 40 16-Wochen alten SPF-Katzen eine Studie zur Wirksamkeit von Primucell®FIP durch. Alle Tiere wurden Routineimpfungen unterzogen, nachfolgend in zwei Gruppen von je 20 Tieren randomisiert und separat gehalten. Eine Gruppe wurde mit einer kommerziellen Charge der Vakzine Primucell®FIP in der 16. und 19. Lebenswoche intranasal geimpft. Die zweite Gruppe blieb unbehandelt. Placebos wurden nicht verwandt. Im Alter von 23 Wochen, vier Wochen nach der Boosterung der Gruppe 1 mit Primucell®FIP, wurden alle Tiere unter Infektionsdruck gebracht. Dazu erfolgte die orale Applikation von 10^3 TCID des FIPV-Stammes DF 2 in jedes Tier. Die Beobachtungsperiode betrug 8 Wochen und lieferte klare Ergebnisse. Es erkrankten nur eine vakzinierte Katze, aber fünf Kontrolltiere. Am Ende des Versuchs durchgeführte histopathologische Untersuchungen an den euthanasierten Tieren ergaben für FIP charakteristische Veränderungen bei sechs Tieren der Impfgruppe und bei 12 Tieren der Kontrollgruppe. Daraus resultierte ein 50%iger Schutz durch die eingesetzte Vakzine. Die Gewichtszunahmen im Versuchszeitraum waren in der Impfgruppe deutlich über denen der Kontrollgruppe. Die Erhöhung der Körpertemperatur war bei allen vakzinierten Tieren geringer als in der Kontrollgruppe. Serokonversion zeigten alle Katzen, die Impftiere bereits nach der Boosterung und Inokulation. Die Kontrollkatzen wiesen nach der Infektion deutlich ansteigende FCoV-Ak-Titer auf, die über denen der Impftiere lagen.

Von Januar 1993 bis November 1994 wurde in der Schweiz ein Doppelblindversuch mit Primucell®FIP bezüglich der Sicherheit und Wirksamkeit der Vakzine durchgeführt (Fehr et al., 1995). Es wurden also ein Placebo und der echte Impfstoff verwandt, ohne daß der Tester im Versuchszeitraum aufgeklärt war, welche Charge Placebo und welche Vakzine war, lediglich die Etiketten waren farblich verschieden. Getestet wurde in Zuchten, in denen in der Vergangenheit FIP-Fälle aufgetreten waren, und an Jungtieren. Es wurde randomisiert. Die Nebenwirkungen der Impfung waren minimal. FIP-Fälle traten in der Kontroll- und der Impfgruppe gleichermaßen auf, erst nach 150 Tagen gab es einen signifikanten Unterschied zugunsten der vakzinierten Gruppe. Der Impfstoff wurde als sicher und mit dem Potential, schützen zu können, eingestuft. Bei bereits infizierten Tieren, vermochte der Impfstoff nicht mehr zu schützen. Im nachhinein erwiesen sich über 50% der geimpften Katzen zum Zeitpunkt der ersten Vakzination als serologisch CoV-Ak-positiv.

Postorino Reeves (1995) untersuchte die Wirkung der Vakzine Primucell[®]FIP über 16 Monate in einem Tierheim. Die FIP-Prävalenz lag dort in der Vergangenheit bei über vier Prozent. Alle in den Bestand kommenden gesunden Tiere (FeLV-Ag/FIV-Ak-negativ) wurden intranasal geimpft, entweder mit Primucell[®]FIP (254 Tiere) oder einem Placebo (246 Tiere). Die Gesamtverluste waren in beiden Gruppen ähnlich, ungewöhnliche Krankheiten traten nicht auf. Die FIP-Inzidenz war in der Impfgruppe signifikant niedriger.

Die Akzeptanz für eine FIP-Impfung ist bei den Katzenzüchtern in Ungarn nach den Angaben von Bölskei et al. (1995) gering. Die Ursache dafür sehen die Autoren in folgenden offenen Fragen:

1. läßt sich eine Katze unter Feldbedingungen wirksam schützen,
2. lassen sich seropositive Katzen durch die Vakzination schützen,
3. muß man unter Feldbedingungen mit der ADE rechnen; wenn ja, wie häufig?

Kleinere und mittlere Katzenzüchter (< 3 bzw. 3-5 Zuchtkatzen) sowie Katzenliebhaber lassen nach dieser Untersuchung häufig gegen FIP impfen, größere Katzenzüchter (mehr als 5 Katzen) verzichten dagegen meist darauf. Aufgrund der Ergebnisse ihrer retrospektiven FIP-Studie wurde aber von den Autoren die Vakzinierung empfohlen. Katzen, die neben den Routineimpfungen auch gegen FIP vakziniert wurden, erkrankten weniger. Eine Absicherung der Diagnose FIP zur Ermittlung der wahren Inzidenz gab es jedoch nicht.

2.8. Therapie

Eine symptomatische Therapie ist immer angezeigt, nicht zuletzt, um Schmerzen und Leiden des Tieres zu lindern. Sinnvoll ist sie aber nur im Anfangsstadium der FIP (Bilkei, 1988; Bölskei und Bilkei, 1995a, b), wenn die allgemeine körperliche Verfassung noch nicht durch Inappetenz, Anämie oder ZNS-Symptome beeinträchtigt ist (Hoskins, 1991). Bei reiner Augensymptomatik kann eine Therapie versucht werden (Slauson und Finn, 1972). Eine dauerhaft wirksame Therapie ist derzeit nicht bekannt. Lutz (1992) lehnt Therapieversuche in der Praxis grundsätzlich ab und vertritt die Auffassung, daß bei feststehender Diagnose eine Indikation zur Euthanasie besteht, vorrangig um andere Tiere nicht der Gefährdung einer Ansteckung auszusetzen und weil die Möglichkeit einer wirklichen Heilung kaum besteht. Bei Therapieversuchen mit verschiedenen Wirkstoffen und Placebo an über 100 Katzen mit FIP-Symptomen wurde die Untersuchung

abgebrochen, als klar wurde, daß die Tiere der Placebo-Gruppe (0,9%ige NaCl) eine längere Überlebendauer aufwiesen als Katzen der Versuchsgruppen mit den verschiedenen Wirkstoffen (Lutz, 1992).

Der Einsatz von Immunmodulatoren wie z.B. Diethylcarbamazine (Kitchen, 1988) oder Interferonen, Promudolin, Propionibacterium acnes und antiviralen Medikamenten wie z.B. Ribavirin (Weiss und Oostrom-Ram, 1989; Weiss et al., 1993), zusätzlich zu Cyclosporinen, Glucokortikoiden und anderen Entzündungshemmern ist vielen Therapieansätzen gemein (Barlough und Shacklett, 1994; Bölskei und Bilkei, 1995a, b), aber nur differenziert sinnvoll (Weiss, 1995). Beim Einsatz von Zytostatika ist eine regelmäßige Blutbildkontrolle nötig. Diese Therapie ist geeignet, das Leben des Patienten zu verlängern. Nachfolgend seien in Tabelle 4 einige Modelle vorgestellt, die zumindestens vorübergehend (meist einige Wochen bis Monate) Therapieerfolge (Besserung des klinischen Zustandes) verzeichnen konnten.

Tabelle 4: a) Therapieprotokoll Zürich (Lutz et al., 1985): 50%iger zeitweiser Therapieerfolg

Medikament	Verabreichung und Dosierung
Voren [®] (Dexamethason-21-isonicotinat)	2 mg (Tag 1 und Tag 5) i.m.
Ampicillin	20 mg/kg 3 x tgl. über 10 Tage peroral
oder	
Prednisolon (Tabletten)	10 mg 2 x tgl. über 7 Tage peroral 5 mg 2 x tgl. über die nächsten 7 Tage peroral 2,5 mg 2 x tgl. über die nächsten 3 Tage 1,25 mg 1 x tgl. über die nächsten 3 Tage
Ampicillin	20 mg/kg 3 x tgl. über 25 Tage peroral

b) Therapiemodell von Bölskei und Bilkei (1995b)

	Medikation	zeitweiser Therapieerfolg
1.	Prednisolon, Ampicillin und Cyclophosphamid	37,5% der FIP-Fälle in drei Jahren
2.	Interferon α 2 A Human in Intervallen	60% der FIP-Fälle in drei Jahren
3.	Baypamun [®] 1 x wöchentlich über 6 Wochen	29% der FIP-Fälle in drei Jahren

Als begleitende Maßnahme bei der effusiven Form empfehlen Barlough und Weiss (1983), zweimal täglich den Erguß abzusaugen und anschließend fibrinolytische Enzyme einzubringen. Daneben wird eine parenterale Elektrolyt- und Flüssigkeitsgabe angeraten.

2.9 Prognose

Die Prognose der FIP gilt als infaust (Osterhaus, 1979; Maess, 1985; Suter et al., 1993), auch wenn über zeitliche Remissionen nach immunsuppressiver Intensivtherapie berichtet wurde. Ob es die Möglichkeit gibt, daß die FIP spontan wieder abheilt, ist ungewiß, aber eher unwahrscheinlich (Hawkins, 1991). Es gibt einzelne Berichte, daß Katzen mit klinischer FIP-Symptomatik die Infektion überstanden hätten (Bölcskei et al., 1995). Dabei stellt sich aber immer die Frage, ob es überhaupt eine sichere Diagnose der FIP unter Praxisbedingungen geben kann. Die meisten Tiere überleben de facto die FIP nicht (Suter et al., 1993).

3. Material und Methoden

3.1 Versuchsaufbau

Die Wirksamkeit einer Vakzine gegen die Feline Infektiöse Peritonitis bei natürlicher Infektion unter Tierheimbedingungen läßt sich direkt in einem Tierheim aus verschiedenen Gründen nicht testen. Praktischer Haupthinderungsgrund sind die Tierschutzvereine, fast immer Mitbetreiber der Tierheime, deren Satzungen die Beteiligungen an Tierversuchen strikt ausschließen. Daher schien es sinnvoll, die Haltungsbedingungen eines Tierheimes in geeigneten Räumlichkeiten nachzustellen. Dies erfolgte auf dem Gelände der Lehr- und Versuchsstation Liebertwolkwitz der Universität Leipzig.

Grundlage für Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung waren das Protokoll 2184D-10-95-155 der Firma "Pfizer" und die GCPV-Richtlinie (Good Clinical Practice for the Conduct of Clinical Trials for Veterinary Medicinal Products). Über einen effektiven Versuchszeitraum von 42 Wochen wurden 50 Katzen als Population in einem tierartgerecht hergerichteten Stall zusammen gehalten. 40 Tiere waren spezifisch-pathogenfreie (SPF) Katzen (20 weiblich / 20 männlich) im empfänglichen Alter für die FIP (21 Wochen zum Zeitpunkt des Challenge), von denen die eine Hälfte mit der Vakzine Primucell[®]FIP vor Kontakt mit einer Infektionsquelle immunisiert wurde. Die andere Hälfte diente als Kontrollgruppe. Ein Placebo für die Kontrollgruppe wurde nicht verwandt.

Die Einteilung der SPF-Tiere in die Gruppen T1 und T2 erfolgte nach einer vorgegebenen Randomisierungsliste des Versuchsprotokolls (Tabelle 6), die dem Durchführenden bekannt war. Die daraus resultierende Geschlechtsverteilung ist in der Abb. 1 ersichtlich. Alle SPF-Tiere waren den üblichen Routineimpfungen (siehe Tabelle 10) unterzogen worden.

Zehn Tiere stammten aus verschiedenen Tierheimen und dienten als natürlicher Infektionsquelle. Zum Zeitpunkt der Übernahme aus den Tierheimen waren diese Tiere nicht klinisch krank, reagierten aber im kompetitiven ELISA zum Nachweis der für die FIP typischen Immunkomplexe (Pfeiffer, 1991; Reinacher, 1994; Schroo, 1994) positiv. Diese Tiere waren Virusträger, welche praktisch in jedem Tierheim zu finden sind, dort aber in der Regel nicht als solche erkannt werden. Die Haltung der SPF-Tiere mit den Virusträgern ermöglichte einen Feldversuch, in dem ein Feldvirus und natürliche Übertragungswege genutzt wurden.

Während des Versuchs wurde allen Tieren zur serologischen Statusbestimmung (siehe Tabelle 7) regelmäßig Blut entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten jeweils aus der Vena jugularis bzw. aus der Vena cephalica antebrachii. Es wurden Kanülen mit 0,6 bis 0,9 mm Durchmesser der Firma B. BRAUN (B. Braun Petzhold GmbH, Melsungen) benutzt. Als Probenauffanggefäße dienten Kabevette[®] (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth) Monovette[®] oder Multivette[®] (SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht) in der Serumausführung bzw. mit EDTA versetzt. Gestorbene und aufgrund der Erkrankung euthanasierte Tiere sowie bis zum Versuchsende gesunde und euthanasierte Tiere wurden sezziert. Es erfolgte eine pathologisch-anatomische, histologische und immunhistologische Untersuchung zur Klärung, ob die Tiere an FIP erkrankt waren oder nicht. Gestorbene, verendete oder aufgrund des fortgeschrittenen FIP-Krankheitsverlaufs euthanasierte Tierheimtiere wurden zwecks Diagnosebestätigung ebenfalls obduziert. Jedes Tier erhielt eine Sektionsnummer. Unter dieser Nummer wurden Probenmaterial sowie histologische Schnitte am Institut für Veterinär-Pathologie archiviert. Die histologischen Untersuchungen wurden von einer Fachtierärztin für Pathologie ohne Kenntnis der Tiernummern durchgeführt. Gleichmaßen wurde bei den immunhistologischen Untersuchungen verfahren. Nach Vorliegen der Sektionsbefunde, sowie der histologischen und immunhistologischen Ergebnisse wurde die Diagnose für das betreffende Tier gestellt. Die serologischen Ergebnisse wurden dazu nicht herangezogen. Im Versuch erkrankte Tiere wurden therapiert (siehe Tabelle 5), leidende oder nicht therapiefähige Patienten wurden euthanasiert (Ketamin[®]-Xylazin[®]-Narkose mit nachfolgender Narcoren[®]-Injektion i.v.). Therapieversuche im Sinne der Heilung der FIP wurden nicht durchgeführt. Im Anfangsstadium der FIP erfolgte eine symptomatische Therapie. Kortikoide, Zytostatika, Immunmodulatoren und dergleichen wurden nicht eingesetzt. Überlebende Tierheimtiere wurden am Versuchsende laut Auflage der Tierversuchsgenehmigung vermittelt, weitere Untersuchungen an ihnen wurden nicht durchgeführt. Über fünf der vermittelten Tierheimkatzen liegen nach Versuchsende Informationen bezüglich des Gesundheitszustandes vor.

Tabelle 5: im Versuch eingesetzte Therapeutika

• Therapeutika (Firma)	• Wirksubstanzen
Synulox [®] (Pfizer)	Amoxicillin, Clavulansäure
Clamoxyl [®] (Pfizer)	Amoxicillin
Suanatem [®] 1 (Merial)	Spiramycin, Metronidazol
Terramycin [®] Augensalbe (Pfizer)	Oxytetracyclin, Polymycin B
Vetoscon [®] Augensalbe (Pfizer)	Cloxacillin
Ficortril [®] Augensalbe 2,5% (Pfizer)	Hydrocortisonacetat
Berlicetin [®] Augentropfen 1% (Chauvin ankerpharm)	Azidamfenicol
Atropin 1% Dispersa Augensalbe (CIBA Vision)	Atropin
Chibro-Amuno [®] 3 Augentropfen (Chibret)	Indometacin
Orisel [®] (Selectavet)	Neomycinsulfat, Nystatin, Hexachlorcyclohexan, Triamcinolon
Befedo [®] Creme (Pfizer)	Propylenglycol, Apfelsäure, Benzosäure, Salicylsäure
Parenteral Elektrolytlösung (Pfizer)	Elektrolyte
Guanistrep [®] -Paste (Merial)	Sulfaguanidin, Dihydrostreptomycinsulfat
Nutri-Cal [®] (Albrecht)	Mineralstoffe, Vitamine, Spurenelemente, Proteine
VMP-Pfizer [®] -Katzenpaste (Pfizer)	Mineralstoffe, Vitamine, Spurenelemente, Proteine
a/d-Futter (Hill`s)	Vitamine, Mineralstoffe, Spurenelemente, Proteine (umsetzbare Energie: 4,1 MJ/kg Katze)
Megalac [®] -Almasilat (Krewel Meuselbach)	Aluminiummagnesiumsilicathydrat
Serocat [®] (Hoechst-Roussel [seit Mai 2001 außer Handel])	serumneutralisierende Ak gegen Panleukopenie, Rhinotracheitis, Calicivirusinfektion

3.2 Versuchsdurchführung

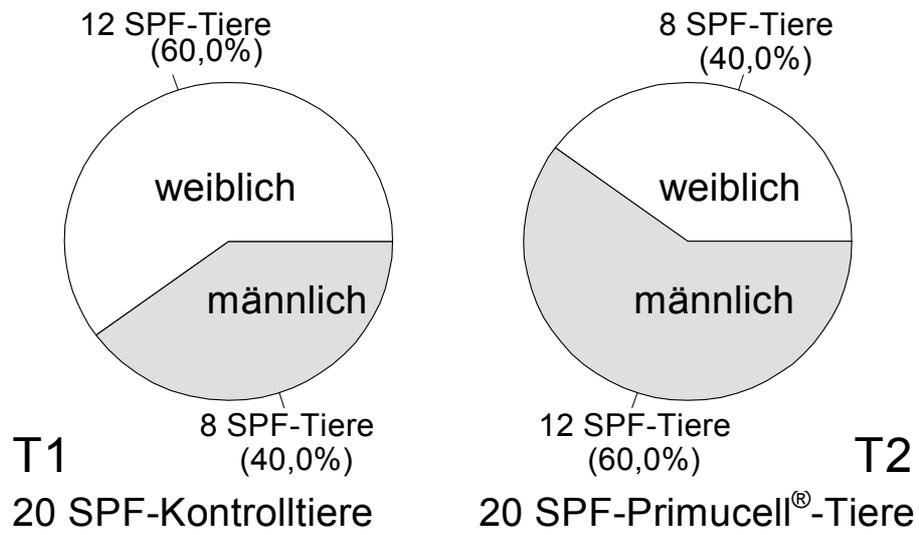
3.2.1 Randomisierung

Die Randomisierung (Tabelle 6) wurde entsprechend dem Protokoll 2184D-10-95-155 der Firma "Pfizer" laut Liste durchgeführt.

Tabelle 6: Randomisierungsprotokoll

Nummer	Tier-Identifikation	Gruppe	Behandlung
1	H6 1395	T2	Primucell® FIP
2	H6 1404	T2	Primucell® FIP
3	H6 1408	T2	Primucell® FIP
4	H6 1410	T2	Primucell® FIP
5	H6 1455	T1	Kontrolle
6	H6 1451	T2	Primucell® FIP
7	H6 1452	T1	Kontrolle
8	H6 1443	T2	Primucell® FIP
9	H6 1401	T1	Kontrolle
10	H6 1400	T2	Primucell® FIP
11	H6 1453	T2	Primucell® FIP
12	H6 1456	T1	Kontrolle
13	H6 1399	T1	Kontrolle
14	H6 1435	T1	Kontrolle
15	H6 1437	T1	Kontrolle
16	H6 1449	T2	Primucell® FIP
17	H6 1409	T1	Kontrolle
18	H6 1433	T2	Primucell® FIP
19	H6 1405	T1	Kontrolle
20	H6 1402	T1	Kontrolle
21	H6 1427	T2	Primucell® FIP
22	H6 1450	T2	Primucell® FIP
23	H6 1442	T1	Kontrolle
24	H6 1431	T1	Kontrolle
25	H6 1441	T1	Kontrolle
26	H6 1430	T1	Kontrolle
27	H6 1397	T1	Kontrolle
28	H6 1448	T1	Kontrolle
29	H6 1411	T2	Primucell® FIP
30	H6 1464	T2	Primucell® FIP
31	H6 1434	T2	Primucell® FIP
32	H6 1444	T2	Primucell® FIP
33	H6 1436	T2	Primucell® FIP
34	H6 1391	T1	Kontrolle
35	H6 1466	T2	Primucell® FIP
36	H6 1446	T2	Primucell® FIP
37	H6 1425	T1	Kontrolle
38	H6 1424	T1	Kontrolle
39	H6 1432	T1	Kontrolle
40	H6 1440	T2	Primucell® FIP

Abb.1: Geschlechtsverteilung der SPF-Tiere nach randomisierter Einteilung in T1 und T2



3.2.2 Zeitliches Management und Impfbegime

Das zeitliche Management und das Impfbegime für alle Tiere gehen aus Tabelle 7 hervor.

Tabelle 7: chronologischer Ablauf der Studie

Datum	Versuchs- woche	Tier- gruppe	Alter der SPF- Tiere in Wochen ($\pm 0,5$ Wochen)	Aktivität (Probenentnahmen, Vakzinationen, Wiegen,)
01.11.1996	0	T1/T2	9	Blutentnahmen für A
01.11.1996	0	T1/T2	9	Vakzination mit Felocell™CVR gegen Katzenschnupfen, Panleukopenie und Leukocell™2 gegen Leukose
22.11.1996	3	T1/T2	12	Vakzination mit Felocell™CVR-T gegen Katzenschnupfen, Panleukopenie (Boosterung) und Tollwut und Leukocell™2 gegen Leukose (Boosterung)
20.12.1996	7	T1/T2	16	Trennen von T1 und T2
20.12.1996	7	T2	16	Vakzination mit Primucell®FIP
10.01.1997	10	T2	19	Vakzination mit Primucell®FIP (Boosterung)
17.01.1997	11	T3		Nummerntätowierung der Ohren
24.01.1997	12	T1/T2/T3	21	Blutentnahmen für A und B, Zusammensetzen von T1 und T2 sowie Einbringen der Tierheimkatzen (T3) in die Gruppe
04.04.1997	22	T1/T2/T3	31	Blutentnahmen für A und B
16.06.1997	32	T1/T2/T3	41	Blutentnahmen für A, B und C
25.08.1997	42	T1/T2/T3	51	Blutentnahmen für A, B und C
26.08.1997	43	T1/T2	52	Euthanasie der SPF-Tiere und Obduktion
danach	43-53	T3	-	Vermittlung an Privatpersonen

Legende der Tabelle 7

T1 = SPF-Tiere, Kontrollgruppe (n=20)

T2 = SPF-Tiere, mit Primucell®FIP vakziniert (n=20)

T3 = FIP-Immunkomplex-positive Tierheimkatzen (natürliche Infektionsquelle (n=10))

A = FIPV-Ak-Titerbestimmung

B = ELISA

C = PCR

3.2.3 Haltung der Tiere

Bei der Haltung von Katzen in größeren Gruppen ohne Ausgang werden die Verhaltensbedürfnisse der Katzen häufig nur teilweise berücksichtigt (Schärr, 1991, 1997). Auch in Tierheimen und Zuchten stehen finanzielle, hygienische und arbeitstechnische Aspekte einer vollständigen Berücksichtigung oft entgegen (persönliche Mitteilungen von Dr. Schreier [Tierheim Bitterfeld], Hr. Jacob und Fr. TÄ Mayer [Tierheim Dresden]). Katzen sind nicht, wie oft angenommen wird, generell Einzelgänger, sondern sie können durchaus sehr gesellig und sozial sein, wenn bestimmte Voraussetzungen erfüllt sind (Morris, 1994). Im Hinblick auf Langeweile und Isolationsstreß ist sogar die Einzelhaltung der Tiere ein größeres Problem (Schär, 1991). Katzen sind nicht, wie vielerorts noch gedacht wird, weil sie sehr viel schlafen (bis 18 h täglich), pflegeleichte Haustiere. Sie haben enorme Ansprüche an Raumstrukturierung, Beschäftigungsmöglichkeiten und Gruppensammensetzung sowie Betreuung (Futterportionen, -temperatur, -turnus, Kontakt zum Menschen, etc. [Schär, 1989; Mertens und Schär, 1988]). Entscheidend ist vor allem die Größe der Grundfläche, die unbedingt $\geq 2 \text{ m}^2/\text{Tier}$ betragen sollte (Goldhorn, 1987; Schmitz, 1990; Schär, 1997). Jeder Katze muß bei Bedarf ein Versteck zur Verfügung stehen, in das sie sich vor Artgenossen, dem Betreuer oder fremden Personen zurückziehen kann. Das ist ein Grundbedürfnis einer jeden Katze (Mertens, 1994). Im eigenen Versuch wurden stabile Materialien wie Holz oder Kunststoff zur Schaffung von Unterschlupfmöglichkeiten verwandt, aber auch ein auf den Kopf gestellter Pappkarton mit seitlichen Öffnungen erfüllte diesen Zweck. Desweiteren müssen ausreichend Aussichtsplätze, "Spielzeug", Kratzbäume und Platz für Verfolgungsjagden sowie spontanes Rennen zur Verfügung stehen (Mertens und Schär, 1988; Schär, 1997). Frisches Wasser und Trockenfutter standen ad libitum bereit. Feuchtfutter ("Whiskas" Rind, Geflügel, Ente oder Kabeljau, Effem GmbH, Verden [Aller]) wurde zweimal täglich angeboten. Die tägliche Menge richtete sich nach dem Bedarf der Tiere, ca. 200-300 Gramm pro Tier. Eine junge Katze hat einen Energiebedarf von ca. 250 kcal/kg Körpermasse (Kolb, 1982). Das Tier-Freßplatz-Verhältnis betrug immer mindestens 2:1 für das Feuchtfutter. Kränkliche oder schlecht fressende Tiere erhielten separat a/d-Futter (Hill's [Heiland], Hamburg). Die Katzentoiletten wurden je von mehreren Tieren genutzt, entscheidend war eine ausreichende räumliche Größe und die Tiefe der Einstreu. Der Rand der Katzentoiletten war so hoch, daß Sichtschutz bestand. Schwere Streu war vorteilhafter. Als Katzentoiletten dienten 90-Liter-Plastbehälter, gefüllt mit einer Tonklumpstreu

(“Natusan“, Effem GmbH, Verden [Aller]) mit einer Mindesteinfüllhöhe von 10-12 cm. Für je 5 Jung- bzw. 2 bis 4 Alttiere stand eine Katzentoilette zur Verfügung. Aufgrund der Versuchsvorgaben konnte bei der Gruppenzusammensetzung auf Alter, Geschlechtsverteilung und innerartliche Sozialisierung keine Rücksicht genommen werden. Da es sich bei den SPF-Katzen jedoch um Tiere handelte, die in innerartlich sozialisierten Gruppen herangewachsen waren, entstanden kaum Probleme. Das rechtzeitige Kastrieren der Kater in der Versuchswoche 18 (ca. 27 Wochen Lebensalter) verhinderte grobe Rangeleien, die nicht selten zu erheblichen Verletzungen führen können. Außerdem wurde dadurch verhindert, daß Weibchen, die zu defensiven Verhaltensmustern neigen, von den Jungkatern in ein Paria-Dasein gedrängt wurden (Schär, 1996).

3.2.3.1 Beschreibung der Versuchstierställe

Die Tiere wurden in speziell hergerichteten Versuchstierställen auf dem Gelände der Universität Leipzig gehalten. In den Wintermonaten diente der Stahl-Glas-Tierstall vom Typ TG 10, in den Sommermonaten (ab 13.05.1997, d.h. ab Versuchswoche 27) der Tierstall vom Typ GSP (Glas, Stahl, Plast) 17 der Unterbringung der Versuchstiere. Das GSP 17 war in einen offenen (Maschendraht) und einen geschlossenen Teil (Einfachverglasung) von annähernd gleicher Größe, abgetrennt durch feststellbare, schließbare Flügeltüren (Stahl und Plast) mit Durchschlupf geteilt. Während der Trennung der Versuchstiere (ab dem 20.12.1996 bis zum 24.01.1997, Versuchswochen 7 bis 12) in die Gruppen T1 und T2 zum Zeitpunkt der Impfung wurde zusätzlich ein dem TG 10 vergleichbarer weiterer Tierstall (TG 10 a) genutzt. Die einzelnen Daten der Tierställe hierzu sind der Tabelle 8 zu entnehmen. Allen Ställen war eine Schleuse vorgeschaltet. Die Winterbeheizung wurde durch eine ölbetriebene Pumpenwarmwasserheizung mit vollautomatischer Steuer- und Regeltechnik gewährleistet. Die Raumtemperatur war exakt ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) einstellbar. Das TG 10 wies ein sowohl vollautomatisch als auch von Hand steuerbares Sonnenstoffdach zur Minderung des direkten Lichteinfalls (Lux-Steuerung) auf. Die Seitenwandverglasung war im Sommer mit blauer lichtabsorbierender Farbe abgetönt, womit dem Treibhausklima des Stalles entgegengewirkt wurde. Das Bodenmaterial war Estrichbeton. Die Lüftung erfolgte automatisch über $\frac{3}{4}$ der gesamten Hauslänge mittels in Stufen ausstellbaren Dachsegmenten. Die Lüftungsklappen konnten auch manuell betätigt werden. Durch ein in 3 m Höhe über die gesamte Grundfläche gespanntes feinmaschiges Netz wurden eventuelle Ausbruchsversuche verhindert. In allen Häusern wurden mehrere

Aufenthaltsebenen geschaffen, vorzugsweise aus dem natürlichen Material Holz. Kratzbäume (Birnbäume), z.T. mit Handlaufseilen ummantelt, wurden jeweils in mehreren Varianten bis zu einer Höhe von 2,5 m installiert. Umgestülpte Holzkisten (mit Decken ausgelegt oder mit Heu versehen), Europaletten[®], Pappkartons, Plastrohre, Laufbretter, Sitzböcke, an Seilen hängende Gummiringe und vieles mehr strukturierten den Raum. Katzengras wurde regelmäßig neu angeboten. Zusätzliche Infrarotstrahler boten den Tieren nachts die Möglichkeit, sich an warmen Plätzen aufzuhalten. Hervorragend als Spielzeug haben sich Tischtennisbälle, Papiertüten, Rasseln etc. bewährt. Der Futterplatz war abgeteilt. Es wurde immer an diesem Platz gefüttert.

Tabelle 8: Daten zu den Versuchstierställen, in denen die SPF-Tiere untergebracht waren

	TG 10 (Gruppen T1 und T2)	GSP 17 (Gruppen T1 und T2)	TG 10 a (Gruppe T1)
Fläche in m ²	101,48	127,68	83,20
Höhe (First) in m	4,98	3,50	3,00
Breite in m	8,60	5,70	5,20
Länge in m	11,80	22,40	16,00
Verglasung	Thermoscheiben	Einfachverglasung	Thermoscheiben
Raumtemperaturen	Ø 20°C	Ø 24°C	Ø 19°C
Luftfeuchtigkeit	Ø 58%	Ø 55%	Ø 58%

3.2.4 Erforderliche Genehmigungen

Das Versuchsvorhaben TVV-Nr.: 2/96-“Prüfung der Wirksamkeit einer Vakzine gegen Feline Infektiöse Peritonitis bei Katzen unter Tierheimbedingungen“ war nach dem Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 17.02.1993 (BGBl. S. 254) genehmigungspflichtig. Die Genehmigung wurde auf Antrag und nach Prüfung durch das Regierungspräsidium Leipzig per Bescheid am 12.07.1996 erteilt. Ein wesentlicher Auflagepunkt war die Vermittlung der Tierheimkatzen im Anschluß an den Versuch. Sämtliche während des Versuchs nötigen Änderungen waren genehmigungspflichtig. Die entsprechenden Genehmigungen wurden erteilt. Die SPF-Tiere aus den USA unterlagen einer Einfuhrgenehmigung (Binnenmarkt-Tierseuchenschutz-Verordnung in der Fassung vom 31. März 1995 [BGBl. I S. 431], geändert durch die Verordnung vom 21. März 1996 [BGBl. I S. 528]). Diese wurde durch das Sächsische Staatsministerium für Soziales,

Gesundheit und Familie auf Antrag hin am 08.10.1996 erteilt. Die Grenzkontrollstellen wurden, entsprechend der VO, 24 h vor Einfuhr der Tiere informiert, die Genehmigungen lagen diesen in Fotokopie vor. Die Einfuhr der Tiere wurde beim zuständigen Veterinär- und Lebensmittelaufsichtsamt einen Werktag vor der Einfuhr angezeigt. Alle Tiere unterlagen der Verordnung über Aufzeichnung über Versuchstiere und deren Kennzeichnung vom 20. Mai 1988 (BGBl. I S. 639).

3.2.4.1 Behördliche Kontrollen

Die eingeführten SPF-Tiere unterlagen einer 14-tägigen Quarantäne. Diese wurde durch die Überwachungsbehörde Landratsamt Leipziger Land, Lebensmittelüberwachungs- und Veterinäramt am 12.11.1996 überprüft. Die Kontrollen des Regierungspräsidiums Leipzig bezüglich der erteilten Auflagen aus der Tierversuchsgenehmigung erfolgten in unregelmäßigen Abständen mit und ohne Vorankündigung.

3.3 Versuchstiere

3.3.1 Spezifisch pathogenfreie (SPF)-Tiere

Die 40 spezifisch pathogenfreien Katzen (SPF-Tiere), je 20 weiblich und 20 männlich, wurden von der Firma "Harlan-Winkelmann GmbH" (Borchen) geliefert. Zulieferer war "Harlan Sprague Dawley, Inc." aus Indianapolis, Indiana (USA). Die Tiere wurden am 22.09.1996 bestellt und am 30.10.1996 (nach Deutschland über Amsterdam) aus Indianapolis geliefert. Der Transport erfolgte in 20 Spezialbehältern. Bei der Ankunft waren die Tiere 9 Wochen alt, gesund und ungeimpft. Zur eindeutigen Identifikation waren die Katzen vor der Einfuhr jeweils in beiden Ohren mit grüner Farbe tätowiert. Die Tätowierungen eines jeden Tieres bestanden aus dem Harlan-Firmenzeichen (rechtes Ohr) und H6 sowie nachgestellt einer vierstelligen Nummer (linkes Ohr). Die Begleitpapiere belegten Art (*Felis silvestris felis catus*) und Rasse (Domestic Shorthair), die Abstammung und den Status der Tiere.

Garantiert wurde das Freisein von bestimmten feline Antikörpern (“Antibody Profile Defined™“ der Firma Harlan [APD™]), die gerichtet sind gegen:

- Caliciviren (FCV)
- Chlamydien
- Coronaviren (FECV/FIPV)
- Herpesviren (FVR/FHV-1)
- Immundefizienzvirus (FIV/FTLV)
- Leukämievirus (FeLV)
- Parvovirus (FPV)
- Synzytialvirus (FeSFV)
- Toxoplasmen

Die männlichen SPF-Tiere wurden in der Versuchswoche 18 (ca. 27 Wochen Lebensalter) kastriert.

3.3.2 Tierheimkatzen

Zur Auswahl geeigneter Tierheimkatzen, die als natürliche Infektionsquelle im Versuch genutzt wurden, kam ein kompetitiver ELISA zum Nachweis FIP-Virus-spezifischer Immunkomplexe zur Anwendung. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Tiere in Gruppen zu je 5 bis 6 Tieren in Tierställen des Instituts für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig gehalten. Dem Versuchsvorhaben standen 15 Tiere zur Verfügung. Vier der 15 Tiere starben vor Versuchsbeginn an FIP. Die verbleibenden 11 Katzen bildeten im Versuch die Gruppe T3, wobei im Versuch maximal 10 Tiere eingesetzt wurden. Nachdem das erste Tier der Gruppe T3 am 24.02.1997 verstarb, wurde die Gruppe durch das verbleibende Tier wieder auf 10 Tiere ergänzt.

Tabelle 9: Übersicht über die Gruppe T3 (Tierheimkatzen)

Tier-Identifikation (Tätowierung rechtes Ohr)	Geburtsdatum z.T. geschätzt	Geschlecht	Gewicht bei Übernahme in kg	bisherige Haltungart
41	Juli 1996	männlich-kastr.*	2,46	unbekannt
42	Ende 1994	männlich-kastr.	2,80	Wohnungstier
43	Juli 1996	männlich-kastr.*	2,26	unbekannt
44	25.05.1995	männlich-kastr.	3,47	Freigänger
45	Mitte 1995	weiblich	2,43	unbekannt
47	Anfang 1995	weiblich	2,85	Wildfang
48	Ende 1993	weiblich-kastr.	2,64	Wohnungstier
49	Mitte 1995	männlich-kastr.	3,08	unbekannt
50	April 1996	weiblich	1,86	Wildfang
51	April 1996	weiblich	2,14	Wildfang
52	April 1996	weiblich	1,52	Wildfang

*= erst nach Erhalt aus dem Tierheim kastriert

3.4 Impfstoffe

3.4.1 Die Vakzine Primucell®FIP

Der Impfstoff Primucell®FIP gegen die FIP wurde von "SmithKline Beecham", mittlerweile von "Pfizer" übernommen, Ende der 80iger Jahre von Norden Laboratories, Lincoln, NE, USA, entwickelt. Es handelt sich um einen lyophilisierten Lebendimpfstoff. Seit März 1991 ist er in Deutschland kommerziell erhältlich. "Pfizer" ist immer noch weltweit der einzige Anbieter eines Impfstoffes gegen die FIP. Der Impfvirusstamm Norden DF 2 wild-type FIP-Virus (wt-FIPV) wurde von einer klinisch an FIP erkrankten Katze post mortem aus der Leber isoliert (Christianson et. al., 1989). Nach mehreren Passagen in Gewebemogenaten von SPF-Katzen wurde das Virus auf Katzennierenzellen (NL-FK-1 cell line) angezüchtet. Die Attenuierung erfolgte durch 99 Passagen, wobei bei den letzten 39 Passagierungen die Temperatur von 39°C auf 31°C gesenkt wurde. Im Anschluß an die letzte Passage erfolgte eine UV-Bestrahlung (Dauer 5 min, Distanz 5 cm, Westinghouse 782-30 Lampe, 118 V, 0,5 A, 60 Zyklen), danach die Reinigung und

Lyophilisierung des Antigens. Das entstandene avirulente Impfvirus kann sich optimal bei 31°C, aber nicht bei Temperaturen von 39°C (der normalen Körpertemperatur der Katze) vermehren. Bei Temperaturen ab 54°C wird es zerstört. Dadurch unterscheidet sich das temperatursensitive (ts)-FIPV von dem ursprünglichen DF 2-wt-FIPV (Christianson et al., 1989). Das attenuierte, ts-FIPV wird unter Zusatz von Gentamicinsulfat (max. 100 µg/Impfdosis) als Primucell®FIP angeboten. Die Applikation erfolgt intranasal. Die Packungsbeilage empfiehlt Grundimmunisierung ab einem Lebensalter von 16 Wochen und eine Boosterung nach 3 Wochen sowie jährliche Wiederholungsimpfungen.

Im Versuch wurde ein Impfstoff mit 5,5 log₁₀CCID₅₀/Dosis verwendet (Vorschlag von Jay Gerber, Pfizer-Study-Protokoll 2184D-10-95-155). Als Ausgangstiter im Wirksamkeitstest der Vakzine (Charge 29057L) wurden 7,2 log₁₀CCID₅₀/Dosis ermittelt. Daraus ergab sich ein Verdünnungskoeffizient von 50 (von 10^{7,2} zu 10^{5,5}). Die Zubereitung des einsatzfähigen Impfstoffes (20 Dosen à 0,5 ml) erfolgte vor Ort. Vier tiefgefrorene (-79°C) Primucell®FIP-Pellets (Chargen-Nr.: FD 29057L) wurden jeweils mit 1 ml 0,9%iger steriler Kochsalzlösung aseptisch rehydriert. Nach Auflösen der Pellets wurden jeweils 0,25 ml der Lösung aseptisch in ein steriles 30 ml-Gefäß gegeben, anschließend wurde mit 24 ml steriler Kochsalzlösung aufgefüllt. Dementsprechend standen 50 Impfdosen mit einem Titer von 5,5 log₁₀CCID₅₀/Dosis zur Verfügung. 20 Impfdosen von je 0,5 ml wurden im Versuch bei der Gruppe T2 (siehe Tabelle 7) beidseitig intranasal appliziert. Die verbleibende Menge wurde zu je 2 ml portioniert, zügig gefroren und anschließend in Trockeneis gelagert. Unmittelbar danach erfolgte der Transport ins European Clinical Development Laboratory der Firma Pfizer (B-1348 Louvain-la-Neuve), wo die Rücktitration und Prüfung erfolgte. Der Wirksamkeitstest der frischen Vakzine (Prüfung des Antigengehalts) ergab im geometrischen Mittel 10^{7,2} CCID₅₀/Dosis, nach 7 Tagen Aufbewahrung der Vakzine bei einer Raumtemperatur von 37°C wurde ein Antigengehalt von 10^{5,5} CCID₅₀/Dosis ermittelt. Die Prüfung der Probe auf Temperatursensitivität ergab bei 31°C einen Titer von 10^{7,2} CCID₅₀/Dosis und bei 39°C einen Titer von 10^{3,8} CCID₅₀/Dosis, woraus sich schließen läßt, daß sich das Impfvirus bei 31°C 2000- bis 3000-fach stärker vermehrte als bei 39°C. Die Suche nach Fremdviolen verlief negativ. Der Sterilitätstest verlief positiv. Der Gehalt an Gentamicinsulfat betrug < 100 µg/Dosis. Für den am 20.12.1996 eingesetzten Impfstoff ergab sich abschließend ein Titer von 10^{5,4} CCID₅₀/ml und für die Charge, die zur Boosterung am 10.01.1997 verwendet wurde, ein Titer von 10^{5,5} CCID₅₀/ml.

3.4.2 Andere eingesetzte Impfstoffe

Tabelle 10: Übersicht über die anderen eingesetzten Impfstoffe

Vakzine	Chargennummer und Hersteller	Applikation, Formulation
Felocell™CVR (lebendes attenuiertes Rhinotracheitisvirus, Calicivirus und Panleukopenievirus)	30 471 L (“SmithKline Beecham“) und 32 414 L (“Pfizer“)	lt. Hersteller 1 ml s.c./ Tier
Felocell™-T (inaktiviertes Tollwutvirus)	202609 (“SmithKline Beecham“)	lt. Hersteller 1 ml s.c./ Tier
Leukocell™2 (Leukoseantigen gp 70, FOCMA®)	32 293 L (“Pfizer“)	lt. Hersteller 1 ml s.c./ Tier

Eine Prüfung der Impfstoffe mittels Rücktitration wurde nicht durchgeführt.

3.5 Angewandte Tests und Labormethoden

3.5.1 Kompetitiver ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) zum Nachweis löslicher Immunkomplexe in Seren und Exsudaten FIP-verdächtiger Katzen

Bei einer FIPV-Infektion zirkulieren abhängig vom Erkrankungsstadium Immunkomplexe im Serum bzw. sind in eventuell vorhandenen Brust- und/oder Bauchhöhlenergüssen nachweisbar (Jacobse-Geels et al., 1982; Horzinek et al., 1986). Auf dieser Tatsache basiert das Testprinzip des vorliegenden ELISA, der ursprünglich von Nancy Pfeiffer, “SmithKline Beecham Animal Health“, Lincoln, Nebraska, entwickelt (Pfeiffer, 1991) und von Schroo (1994) unter praktischen Bedingungen ausgetestet sowie optimiert wurde. Die Durchführung des Tests erfolgte am Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig.

3.5.1.1 Antigen-Beschichtung der Mikrotiterplatten

(Nunc®, 96-Loch-Mikrotiterplatte)

Das Antigen (FIP-Virus von einem Feldisolat, [von W. Herbst, Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, Justus-Liebig-Universität Gießen, gereinigt und zur

Verfügung gestellt]) wurde im CoatingBuffer (siehe 9.3.1) 1:300 verdünnt und je 100 µl dieser Lösung in jede Kavität einer 96-Loch-Mikrotiterplatte (Nunc GmbH, Wiesbaden) pipettiert. Anschließend wurde die Platte mit einem Deckel und Parafilm[®] verschlossen und 12 bis 16 h bei 4°C inkubiert. Nach vollständiger Entleerung der Mikrotiterplatte durch Ausschlagen auf mehreren Lagen Zellstoff, wurden die Vertiefungen mit je 300 µl Blockierungslösung (siehe 9.3.1) zur Blockierung freier Bindungsstellen gefüllt. Daraufhin wurde die Platte erneut fest verschlossen und 1 h bei 37°C inkubiert, anschließend entleert und zweimal mit Aqua bidest. gespült.

Danach erfolgte die Trocknung bei 37°C über 4 h.

3.5.1.2 Aufbereitung der Serum- und Exsudatproben

Um feste Bestandteile aus den Serum- und Exsudatproben zu entfernen, wurden diese 3 min in einer Tischzentrifuge zentrifugiert und der Überstand zum späteren Testeinsatz vorsichtig abgesaugt. Bis zum Testeinsatz wurden die Proben bei einer Temperatur von -79°C aufbewahrt. Die Proben wurden zu 200 µl portioniert, um mehrmaliges Auftauen und wiederholtes Einfrieren zu vermeiden.

3.5.1.3 Probenvorbereitung

Zur Fällung der löslichen Immunkomplexe wurden 10 ml Präzipitationsreagenz (siehe 9.3.1) und 200 µl der zu testenden Serum- bzw. Exsudatprobe sowie der Positiv- und Negativkontrolle (siehe 9.3.1) in ein konisches Zentrifugenröhrchen aus Glas pipettiert. Die Röhrchen wurden mit Deckel oder Parafilm[®] verschlossen, sorgfältig geschüttelt und wie folgt weiter behandelt:

- 1) Inkubation für 12-16 h bei 4°C
- 2) Zentrifugation bei 1500 x g für 20 min bei 4°C
- 3) Vorsichtiges Absaugen des Überstandes mit einer Einmalpipette, Hinzufügen von 500 µl Präzipitationsreagenz; Resuspendieren
- 4) Zentrifugation bei 1500 x g für 20 min bei 4°C
- 5) Absaugen des Überstandes
- 6) Zugabe von 200 µl PBS, schütteln, anschließend verschließen der Röhrchen
- 7) Inkubation für 25 min bei 37°C

- 8) Kräftiges Schütteln der Röhren, um das Präzipitat vollständig in Lösung zu bringen

3.5.1.4 Durchführung des Tests

- 1) Herstellen einer 1:1-Verdünnung von jeder präzipitierten Serum- bzw. Exsudatprobe (120 µl Probe + 120 µl Verdünnungslösung [siehe 9.3.1])
- 2) Belegen der Antigen-beschichteten (s. 3.5.1.1.) Mikrotiterplatte mit 50 µl/Vertiefung der hergestellten Proben-Verdünnung. Die Vertiefung A₁ stellt den Leerwert dar, die Vertiefung B₁ bleibt bis zu Schritt 10 ungefüllt. Von jeder Probe wird ein Doppelsatz hergestellt, A₂-A₅ wird mit Verdünnungslösung belegt.

Schematische Darstellung der Belegung der Mikrotiterplatte:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	L	V	V	V	V	16*	20*	24*	28*	32*	36*	40*
B		+	+	Pfd.	Pfd.	16*	20*	24*	28*	32*	36*	40*
C	1*	4*	7*	10*	13*	17*	21*	25*	29*	33*	37*	41*
D	1*	4*	7*	10*	13*	17*	21*	25*	29*	33*	37*	41*
E	2*	5*	8*	11*	14*	18*	22*	26*	30*	34*	38*	42*
F	2*	5*	8*	11*	14*	18*	22*	26*	30*	34*	38*	42*
G	3*	6*	9*	12*	15*	19*	23*	27*	31*	35*	39*	43*
H	3*	6*	9*	12*	15*	19*	23*	27*	31*	35*	39*	43*

L = leer

Pfd = Negativkontrolle (gepooltes Pferdeserum)

* = Probennummer

+ = Positivkontrolle (bekannt positives Katzenserum)

V = Verdünnungslösung

- 3) Inkubation der Platte unter Luftabschluß für 30 min bei 37°C
- 4) Auftragen des mAk (siehe 9.3.1), 50 µl/Vertiefung, in einer Verdünnung von 1:10 000
- 5) Inkubation der Platte unter Luftabschluß für 30 min bei 37°C
- 6) Entleeren des Platteninhaltes, dreimaliges Waschen mit je 300 µl Waschlösung (siehe 9.3.1) pro Kavität, zweimaliges Ausspülen mit Aqua bidest., vollständiges Ausleeren durch Ausschlagen auf einer Lage Zellstoff
- 7) Auftragen der Enzymkonjugatlösung (siehe 9.3.1), 100 µl/Vertiefung, in einer Verdünnung von 1:25 000

- 8) Inkubation der Platte unter Luftabschluß für 60 min bei 37°C
- 9) Entleeren des Platteninhaltes, dreimaliges Waschen mit je 300 µl Waschlösung pro Kavität, Ausspülen mit Aqua bidest., vollständiges Ausleeren durch Ausschlagen auf einer Lage Zellstoff
- 10) Auftragen der ABTS-Lösung (siehe 9.3.1), 100 µl/Vertiefung, und Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur unter Lichtausschluß
- 11) Messen der Extinktion in einem ELISA-Photometer bei einer Wellenlänge von 405 nm und einer Referenzwellenlänge von 490 nm
- 12) Hinzufügen der Stoplösung (siehe 9.3.1), 100 µl/Vertiefung, und erneute Messung der Extinktion

3.5.1.5 Auswertung der Meßergebnisse

Von jeder getesteten Probe wurde aus beiden Extinktionswerten des Doppelansatzes der Durchschnittswert berechnet. Ebenso ermittelte man den Durchschnittswert der Extinktionswerte des Vierfachansatzes der Verdünnungslösung, welcher als 100%-Wert diente. Die prozentuale Hemmung der Extinktion der getesteten Proben berechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{Prozent Hemmung} = 1 - \frac{\text{Durchschnitt Extinktion der Probe}}{\text{Durchschnitt Extinktion Verdünnungslösung}}$$

Der "Cut-off"-Wert wurde von Schroo (1994) ermittelt und liegt bei 25%, das entspricht einer Extinktion von 75%. Proben mit Extinktionswerten zwischen 75% und 80% wurden als grenzwertig eingestuft und erneut getestet.

3.5.2 Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT)

Der indirekte Immunfluoreszenztest (Lange et al., 1987; Kölbl u. Schuller, 1988) wurde zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Felinen Infektiösen Peritonitis genutzt (Pedersen, 1976b; Osterhaus et al., 1977). Die Serum- und Aszitesproben wurden im Institut für klinische Prüfung Ludwigsburg GmbH, Veterinärmedizinisches Labor, untersucht. Die für die Testdurchführung benötigten, mit TGEV-infizierten (Stamm Purdue) Monolayer (PD 5) mit je 10 Feldern wurden von Prof. Dr. Lutz, Universität Zürich, bereitgestellt. Die mit Aceton fixierten Monolayer wurden bis zur Verwendung bei -20°C gelagert.

3.5.2.1 Testdurchführung

- 1) Die Objektträger werden auf Raumtemperatur gebracht
- 2) Von den Patientenseren werden je 25 µl in den Verdünnungen 1:25, 1:50, 1:100 und 1:400 auf die Testfelder pipettiert
- 3) Inkubation für 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer
- 4) 15 min Waschen in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS)
- 5) 30 min Inkubation mit 25 µl Konjugat (Fluoreszein-Isothiocyanat [FITC]-markiertes Anti-Katzen-IgG [Binding-site, Heidelberg], Verdünnung im Test 1:1000 [5 ml PBS, 5 µl Anti-Katze-IgG-Konjugat, 10 µl Evans Blue]) in einer feuchten Kammer
- 6) Sorgfältiges Spülen mit PBS 15 min
- 7) Abtrocknen der Objektträger
- 8) Eindecken in Glycerin-PBS (pH-Wert 7,2)
- 9) Beurteilung mit dem Fluoreszenzmikroskop (UV-Licht mit 340 nm)

Bei Antikörper-positiven Proben färbt sich das Zytoplasma der infizierten Zellen homogen grün. Die infizierten Zellen waren als grün aufleuchtende Zellinseln erkennbar. Es wurde mit einem Schwellenwert von 1:100 gearbeitet. Als Antikörper-Titer wurde diejenige Serumverdünnung bestimmt, bei der ein Unterschied zwischen den virusspezifisch fluoreszierenden Zellinseln einerseits und dem nichtinfizierten Zellhintergrund andererseits gerade noch deutlich zu erkennen war. Dabei war es bei positiven Proben mit einem Titer > 1:400 nötig, die Monolayer mit entsprechend höherer Serumverdünnung (1:800 bis 1:3200) neu zu beschicken. Der Test wurde dann mit der neuen Probenverdünnung wiederholt, um den endgültigen Titer bestimmen zu können.

3.5.3 Reverse Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion

(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)

Die RT-PCR (Herrewegh et al., 1995b; Addie et al., 1996; Gunn-Moore et al., 1998) wurde am Department of Clinical Veterinary Science, Division of Molecular and Cellular Biology, University of Bristol, UK, von Dr. Danielle Gunn-Moore, PhD, durchgeführt. Dazu wurden die frisch entnommenen, mit dem Antikoagulans EDTA versetzten Blutproben (ca. 2-3 ml/Tier, in Kabevette[®] [KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth], Monovette[®] oder Multivette[®] [SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht]) gekühlt (4°C)

per Kurier verschickt. Alle Konzentrationsangaben beziehen sich auf das Endvolumen der jeweiligen Lösung.

3.5.3.1 Isolierung und Kultivierung der Monozyten

- 1) Zentrifugieren des Blutes bei 2000 x g für 10 min; Aufnahme der *Buffy Coat*-Zellen (Schicht aus Leukozyten und Thrombozyten, die sich im zentrifugierten Blut oberhalb der verdichteten Erythrozyten absetzt) und Verdünnung mit RPMI-Zellkultur-Medium mit 5% (v/v) fetalem Kälberserum (Sigma, Deisenhofen), 0,1 µg/ml L-Glutamin (Sigma, Deisenhofen), 50 µg/ml Gentamycin, 10 µg/ml Concanavalin A (Sigma, Deisenhofen) und 10 µg/ml Lipopolysaccharid vom *E. coli* Serotyp 0127:B8 (Sigma, Deisenhofen) auf ein Endvolumen von 10 ml
- 2) Kultivierung für etwa 16-18 h bei 37°C und 5% CO₂ in 25 cm² - Gewebekulturflaschen (Corning, UK); Entfernen der nichtadhärenten Zellen durch mehrmaliges Waschen mit warmem, sterilem PBS-Puffer
- 3) Zugabe von 5 ml einer Suspension von *whole feline embryo* (WFE) -Zellen (~ 5 x 10⁴ Zellen/ml) in Eagle`s Minimum Essential Medium (MEM, Sigma, Deisenhofen) mit 10% (v/v) fetalem Kälberserum, 0,23% (w/v) Natriumbikarbonat, 0,1 µg/ml L-Glutamin, 1% (v/v) nicht-essentiellen Aminosäuren (Gibco-BRL, Burlington, ON, Canada), 0,05% (v/v) Laktalbumin-Hydrolysat (Gibco-BRL, Burlington, ON, Canada) und 50 µg/ml Gentamycin
- 4) Kultivierung bei 37°C und 5% CO₂; nach 4 Tagen Überführen der durch Inkubation mit Trypsin abgelösten Zellen in 75 cm²-Gewebekulturflasche (Corning); nach 7 Tagen Entnahme von ²/₃ der zur Subkultivierung hergestellten Zellsuspension nach Trypsin-Behandlung, zentrifugieren bei 2000 x g für 5 min, waschen in sterilem PBS-Puffer, lysieren in 1 ml RNA-Extraktionslösung (TRI Reagenz[®]; Sigma, Deisenhofen) und einfrieren bei -70°C; Subkultivierung des verbleibenden ¹/₃ der Zellsuspension (Gesamtdauer der Kultivierung: 4 Wochen)

3.5.3.2 RNA-Extraktion

- 1) Pipettieren der Zellen in TRI-Reagenz[®] (Sigma, Deisenhofen), bis das Lysat eine flüssige Konsistenz erreicht (ca. 20 -maliges Drücken des Lysates durch auf 5 ml-Spritze aufgesetzte Kanüle [21 G])

- 2) Mischen auf dem Vortexer für 30 sec; Zugabe von 200 µl Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)-fähiges Chloroform (Sigma, Deisenhofen)
- 3) Mischen auf dem Vortexer für 30 sec; zentrifugieren bei 13000 x g für 15 min bei 4°C (Hettich Zentrifuge EBA 12R; Hettich Zentrifugen, Tuttlingen)
- 4) Verbringen der oberen, wäßrigen Schicht in 1,5 ml Mikrozentrifugen-Reaktionsgefäß ; Zugabe der gleichen Menge (ca. 0,5 ml) auf 4°C gekühltes Isopropanol (Sigma, Deisenhofen).
- 5) Mischen auf dem Vortexer; einfrieren der Proben für mindestens 30 min bei -20°C; auftauen, zentrifugieren bei 13000 x g für 15 min bei 4°C
- 6) Verwerfen des Überstands, waschen des Pellets durch Zugabe von 1 ml 75% Ethanol (*molecular grade*; Hayman)
- 7) Mischen auf dem Vortexer; zentrifugieren bei 8000 x g für 10 min bei 4°C
- 8) Verwerfen des Überstands, lufttrocknen; resuspendieren in 20 µl Diethylpyrokarbonat (DEPC)-behandeltem Wasser
- 9) Bestimmung der RNA-Menge in einem Spektrophotometer (Ultrospec 2, LKB Biochrom; Cambridge, UK) (Gunn-Moore, 1997b)

Zum Ausschluß einer möglichen Degradierung der RNA während der Extraktion wurden einzelne Proben auf 2%igem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und mit Ethidiumbromid (200 ng/ml Agarose) gefärbt.

3.5.3.3 DNase-Behandlung zur Entfernung kontaminierender genomischer DNA

- 1) Erhitzen der RNA-Extrakte auf 94°C für 5 min; anschließendes Kühlen auf Eis
- 2) Ansatz der Reagenzmischung (0,1 µg/µl RNA; 20 mM Tris-HCl (pH 8,3); 50 mM KCl; 2,5 mM MgCl₂, 0,1 U/µl DNase 1 (*molecular biology grade*, Gibco-BRL, Burlington, ON, Canada); DEPC-Wasser ad 50 µl); Inkubation für 15 min bei Raumtemperatur
- 3) Stoppen der Reaktion durch Zugabe von 2,5 mM EDTA; anschließende Inkubation für 15 min bei 65°C

3.5.3.4. Synthese der cDNA (RT-Reaktion)

Es wurde ein kommerziell erhältlicher Kit (SuperScript Preamplification System for First strand cDNA synthesis; SuperScript™, Gibco-BRL, Burlington, ON, Canada) verwendet.

- 1) Zugabe von 0,5 µg Oligodesoxythymidintriphosphat (dT)₁₂₋₁₈ Primer zu den DNase-behandelten RNA-Extrakten (ca. 2-5 µg RNA); Inkubation für 10 min bei 70°C
- 2) Kühlen für mindestens 1 min auf Eis
- 3) Volumeneinstellung auf 20 µl durch Zusatz von:
- 4) 20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM KCl, 2,5 mM MgCl₂, 0,5 mM Desoxynucleosidtriphosphat (dNTP)-Mix, 10 mM DTT und 10 U/µl SuperScript 2 RT reverse transcriptase (Gibco-BRL, Burlington, ON, Canada); Inkubation für 45 min bei 45°C; Inaktivierung für 15 min bei 70°C; Kühlung auf Eis.
- 5) Zugabe von 0,1 U/µl *E. coli*-RNase H; Inkubation für 20 min bei 37°C; Lagerung der cDNA bei -20°C

3.5.3.5 Oligonukleotid-Primer

Es wurden Primer für den C-Terminus des S-Gens (Primer A-F, A-R, B-F und B-R; basierend auf der Sequenz des FIPV 79-1146-Stammes; de Groot et al., 1987) und das hochkonservierte N-Gen (Primer NF, NR1 und NR2; Vennema et al., 1991) von FCoV sowie Primer für das Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase-Gen als "housekeeping gene" eingesetzt (Gunn-Moore, 1997b; Gunn-Moore et al., 1998). Für FCoV wurden die Primer als "nested" oder "semi-nested"-Paare konstruiert. Die Primer-Sequenzen sind in Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2: FCoV und Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) Primer

Primer	Größe Bindungs-		Amplifikat
	(nt)	stelle	Größe Sequenz 5'→3' (nt)
FCoV (S)			
A-F	24	2537→2560	TCA CAC ATT CTG ACG GAG ACG TGC
A-R	24	3375←3352	CGC TTT AGC AAC AGT GGC AAG ACC
A-F + A-R			839
B-F	23	2750→2772	CAA TGG GTG CCA GACTTG AAA AC
B-R	25	3104←3080	GCT ACA CCT GGT AGAACC ATG ATG C
B-F + B-R			355
FCoV (N)			
NF	28	436→463	CCA CCA CAA TTC CAG CTT GAA GTG AAC C
NR1	49	1021←995	GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCC GGG ATT TTC TTT GCC TCT GAT CCT TAG C
NR2	45	809←785	GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCA GCA TTT GGCAGC GTT ACC ATT GGC
NF + NR1			587
NF + NR2			373
G3PDH-F	22	167→189	CCT TCA TTG ACC TCA ACT ACA T
G3PDH-R	21	546←566	CCA AAG TTG TAC TGG ATC ACC
G3PDH-F + G3PDH-R			399

F = forward primer (vorwärtslaufender Primer)

R = reverse primer (rückwärtslaufender Primer)

nt = Nukleotide

3.5.3.6 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

- Master-Mix für die 1. PCR:

20 mM Tris-HCl (pH 8,4); 50 mM KCl; 2,0 mM MgCl₂; 200 µM dNTP-Mix; 0,1 U/µl AmpliTaq Gold™ DNA-Polymerase (Perkin Elmer); 2 µl (5% (v/v)) cDNA-Verdünnung; je 3 µM FCoV-Primer; Auffüllen mit DEPC-Wasser auf ein Endvolumen von 50 µl

- eingesetzte Primer:

für das S-Gen A-F und A-R und für das N-Gen NF und NR1

- PCR-Protokoll (Thermocycler: Touchdown-Hybrid, Tübingen)

10 min bei 94°C

35 Zyklen: 1 min bei 94°C

1 min bei 55°C

2 min bei 72°C

10 min bei 72°C

- 2. PCR:

Falls das PCR-Produkt der 1. PCR im Agarosegel (s. 3.5.3.7) keine positive Bande erbrachte, wurde eine zweite PCR durchgeführt, indem 2 µl des Produkts aus der 1. PCR in die 2. PCR eingesetzt wurden

- Mastermix: siehe oben

- eingesetzte Primer

für das S-Gen B-F und B-R und für das N-Gen NF und NR2

Das PCR-Protokoll ist identisch mit der ersten PCR.

- Kontrollen:

Positiv- und Negativkontrollen liefen in jedem Abschnitt der PCR-Reaktion mit. Die Positivkontrollen enthielten amplifizierte cDNA, die aus der Kontroll-RNA des Kits (s. 3.5.3.4) unter Benutzung des PCR-Primers (0,1 µM) des Kits hergestellt wurden, sowie experimentell hergestellte FCoV-cDNA-Proben, die als stark positiv bekannt waren (Gunn-Moore, 1997b; Gunn-Moore et al., 1998). Negativkontrollen enthielten keine RT, keine Primer oder keine cDNA-Kontrollen.

- housekeeping gene GAPDH:

Das PCR-Protokoll ist identisch mit dem für die PCR für die Coronavirus-Sequenzen.

3.5.3.7 Nachweis der PCR-Produkte mittels Agarosegel-Elektrophorese und Ethidiumbromid-Färbung

Die DNA wurde mittels Elektrophorese in einem 2%igen Agarose/Tris-Acetat-EDTA (TAE, s. Anhang Lösungen und Puffer)-Gel mit 200 ng/ml Ethidiumbromid-Agarose aufgetrennt (10 µl PCR-Produkt mit 2 µl 6 x Gel Loading Solution (Sigma, Deisenhofen) je in eine Kavität). Die DNA-Bruchstücke wurden mit einem UV-Transilluminator (UVP Inc.;

Cambridge, UK) sichtbar gemacht und fotografiert (Polaroid Schwarz-Weiß-Film 667; Sigma, Deisenhofen).

3.5.3.8 Quantifizierung der PCR-Produkte

Die Quantifizierung der PCR-Produkte erfolgte anhand der Intensität der Banden im Ethidiumbromid-gefärbten Agarosegel im Vergleich zur Intensität der Banden in den Positivkontrollen und der G3PDH-Bande der gleichen Probe. Dementsprechend wurden die untersuchten Proben folgendermaßen beurteilt:

-	negativ (d.h. keine Monozyten-assoziierte FCoV-Virämie nachweisbar)
(+)	schwach positiv
+	mäßig positiv
++	stark positiv
+++	sehr stark positiv

3.5.3.9 Bestätigung der Spezifität der Banden

Die Spezifität der Banden im Ethidiumbromid-gefärbten Gel wurde mittels Southern Blotting und der Elektrochemolumineszenz (ECL™, Amersham Life Science; Buckinghamshire, UK) zum Nachweis der spezifisch gebundenen Sonden bestätigt (Gunn-Moore, 1997b; Gunn-Moore et al., 1998).

3.5.4 **Fixierung der Gewebe**

Gewebeproben der großen Parenchyme (Gehirn, Lunge, Leber, Niere, Dünn- und Dickdarm, Mesenteriallymphknoten, Knochenmark, Milz sowie alle makroskopisch veränderten Gewebe wurden routinemäßig für 12-18 h in 10% neutralisiertem, ungepuffertem Formalin fixiert. Die Gewebeproben wurden im Einbettautomaten Hypercenter XP (Shandon, Frankfurt) in Vogel-Histo-Comp.® (VO-5-1002; Vogel, Gießen) bei 60° C eingebettet.

3.5.5 Histopathologische Präparation

Von den eingebetteten Geweben wurden Schnitte hergestellt, auf Eiweiß-Glyzerin-beschichtete Objektträger aufgezogen und mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

Für die immunhistologischen Untersuchungen wurden Schnitte auf SuperFrost*/Plus-Objektträger (041300; Menzel Gläser, Braunschweig) aufgezogen, ca. 1 h vor einem Ventilator luftgetrocknet und anschließend direkt weiterverarbeitet.

3.5.6 Nachweis des Coronavirus-Antigens

Zum Nachweis des Coronavirus-Antigens wurde ein monoklonaler Antikörper (FCV3-70) (Customs Monoclonals International, Sacramento, USA) unter Anwendung der PAP-Methode (Tammer et al., 1995; Kipar et al., 1998) eingesetzt. Sämtliche Inkubationen wurden, sofern nicht anders vermerkt, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) Entparaffinieren der Schnitte in Roti-Histol[®] für 10 min, danach 2 x Isopropylalkohol und 1 x 96% Alkohol für je 3 min
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5% H₂O₂ für 30 min
- 3) TUF(Target Unmasking Fluid)-Behandlung: Waschen der Schnitte in Aqua dest. Erhitzen der verdünnten TUF-Lösung (1 Teil TUF + 2 Teile Aqua dest. [Dianova GmbH, Hamburg]) in Plastikküvetten im Wasserbad auf 94° C. Inkubation der Schnitte für 10 min bei 94° C in einer Küvette; anschließendes Abkühlen der Schnitte in den Küvetten bei Raumtemperatur außerhalb des Wasserbades für 15 min. Waschen der Schnitte für 1 min in Aqua bidest. und anschließend in TBS
- 4) Aufbringen der Objektträger auf Coverplates[™] (Life Science International, Frankfurt/Main) und Einführen der Coverplates[™] (Life Science International, Frankfurt/Main) in die Halterung
- 5) Inkubation mit 10% Rattenserum in TBS für 10 min
- 6) Auftragen des monoklonalen Primärantikörpers (FCV3-70) (Customs Monoclonals International, Sacramento, USA) (1 : 100 in TBS). Inkubation der Schnitte für 12 bis 18 h bei 4°C
- 7) Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate[™] (Life Science International, Frankfurt/Main)

- 8) Auftragen des 1:100 in TBS verdünnten Sekundärantikörpers (Ratte anti-Maus IgG) (DIANOVA GmbH, Hamburg)
- 9) Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™ (Life Science International, Frankfurt/Main)
- 10) Auftragen des 1:500 in TBS verdünnten Maus-PAP (DIANOVA GmbH, Hamburg). Inkubation der Schnitte für 30 min
- 11) Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™ (Life Science International, Frankfurt/Main)
- 12) Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in frisch hergestelltem 0,05% 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid mit 0,01% H₂O₂ in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1) für 10 min
- 13) Waschen der Schnitte 3 x für je 5 min in TBS und 1 x 5 min in Aqua dest.
- 14) Gegenfärben mit Papanicolaous Hämatoxylin für ca. 20 sec und Bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 min
- 15) Waschen für 1 min in Aqua dest.
- 16) Entwässern der Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe und zweimaliges Klären in Roti-Histol®
- 17) Eindecken in Eukitt®

4. Ergebnisse

Mit Hilfe des kompetitiven ELISA zum Nachweis von FIPV-spezifischen löslichen Immunkomplexen in Seren und Exsudaten wurden natürlich FIPV-infizierte Katzen aus verschiedenen Tierheimen selektiert und als natürliche Infektionsquelle (unbekannte Feldviren) im Versuch eingesetzt. In den einzelnen Tierheimen reagierten 5 % bis 16 % der getesteten Tiere im ELISA positiv. Insgesamt wurden 265 Katzen serologisch getestet. 18 Tiere (7%) davon reagierten im ELISA positiv. 15 Tiere konnten für den Versuch übernommen werden. Vier dieser Tiere (Gruppe T3) verstarben bereits vor Versuchsbeginn an der effusiven Form der FIP, so daß noch 11 Tiere in den Versuch gelangten. Der klinische Status der meisten in den Versuch gelangten Tierheimkatzen blieb unverändert. Ein Tier der Gruppe T3 entwickelte eine klinisch manifeste Coronavirus-Enteritis, an der es in der Versuchswoche 16 verstarb. Eine weitere Tierheimkatze starb in der Versuchswoche 35 an der effusiven Form der FIP.

In der Versuchswoche 12 wurden alle Gruppen zusammengesetzt (Versuchsbeginn im engeren Sinne = Challenge). Trotz des großzügigen Platzangebotes kam es vermehrt zu Rankämpfen, bei welchen die älteren und schwereren Tierheimkatzen klar dominierten. Aber auch zwischen den SPF-Katzen gab es erhebliche Auseinandersetzungen, was zu verschiedenen Verletzungen führte, die z. T. veterinärmedizinisch behandelt werden mußten (diverse Hautrißwunden hauptsächlich im Kopfbereich, Augenverletzungen). Bei den SPF-Katzen fiel der Zahnwechsel und bei den männlichen SPF-Tieren die Kastration in diese Zeit.

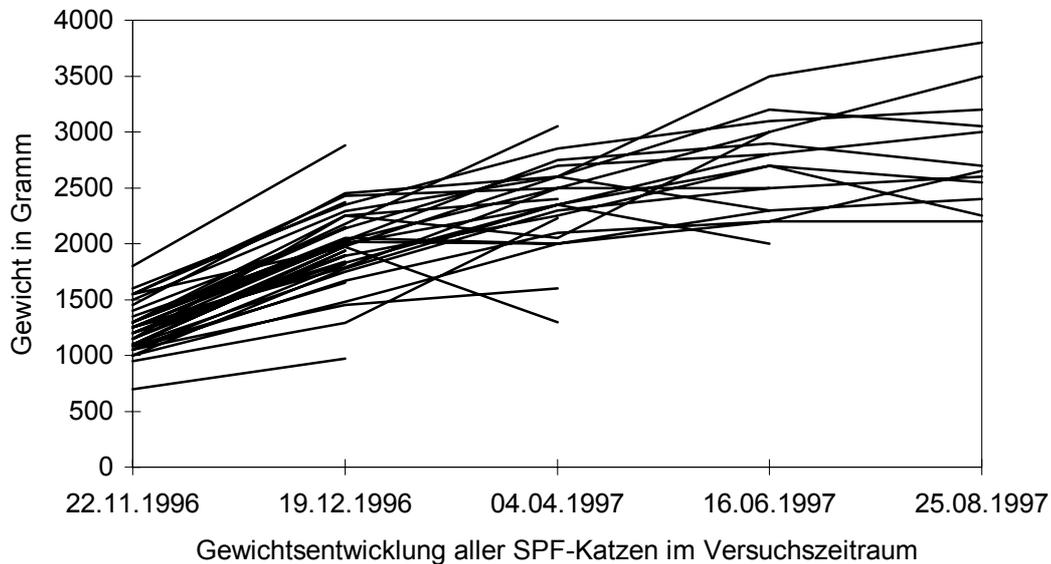
Bereits vor dem Auftreten der Felinen Infektiösen Peritonitis trat ca. eine Woche nach dem Zusammensetzen aller Tiere, d.h. in der Versuchswoche 13, in allen drei Gruppen eine "Katzenschnupfensymptomatik" auf. Vorrangige Symptome waren Augen- und Nasenausfluß (anfangs serös, später sero-mukös), Lidschwellungen, Niesen sowie eine Verschlechterung des Allgemeinbefindens (Inappetenz, Mattigkeit).

4.1 Gewichtsentwicklung der SPF-Tiere

Die Gewichtsentwicklung der SPF-Tiere war unabhängig vom Impfstatus und insgesamt ausgeglichen (Abb. 3). Die leichteste und die schwerste Katze der Jungtier-SPF-Population starben am Anfang des Versuches (nicht an FIP, sondern an respiratorischen Erkrankungen). Das Durchschnittsgewicht der am Versuchsende 12 Monate alten Tiere lag bei 2,82 kg (3,17 kg bei den männlichen und 2,63 kg bei weiblichen Tieren). Laut Harlan

Sprague Dawley, Inc., Indianapolis, Indiana (USA), beträgt das Durchschnittsgewicht der SPF-Katzen schon nach 45 Wochen ca. 3,52 kg (4,25 kg bei den männlichen und 2,8 kg bei weiblichen Tieren).

Abb. 3



4.2 Serologische und andere Testergebnisse

Alle Tiere zeigten im Laufe des Versuchs Serokonversion. Die Vakzine Primucell[®]FIP induzierte CoV-Antikörper-Titer von 1:50 bis 1:800. Nach einsetzendem Infektionsdruck stiegen die CoV-Antikörper-Titer bei einzelnen Impf- und auch Kontrolltieren bis auf > 3200. Nicht alle Tiere, die hohe CoV-Antikörper-Titer aufwiesen, erkrankten auch an FIP. Ebenso gab es im ELISA zeitweise positiv reagierende Tiere, die nicht an FIP erkrankten und bei denen am Versuchsende auch keine FIP festgestellt werden konnte. Auf der anderen Seite erkrankten und starben Tiere an FIP, die im ELISA negativ reagierten. Einige Tiere, die an FIP erkrankten, waren niedrigtitrig und im ELISA negativ, andere wiederum hochtitrig und positiv im ELISA. Eine Gesetzmäßigkeit oder Signifikanz konnte nicht gefunden werden. Auffällig sind aber die ähnlichen Verläufe der CoV-Antikörper-Titer und der ELISA-Ergebnisse (Vorhandensein löslicher Immunkomplexe in Seren) in der graphischen Auswertung (siehe 9.2 [Antikörper-Titer- und ELISA-Verläufe]) bei einigen Tieren, eine Gesetzmäßigkeit konnte aber auch hier nicht gefunden werden. Die Serologie gab bei den SPF-Tieren keinen Hinweis für die Diagnose FIP oder für die Prognose, eine FIP zu entwickeln.

Der Nachweis der FCoV-Infektion erfolgte am lebenden Tier auch direkt mittels RT-PCT zum Nachweis von FCoV-Genom in Monozyten nach deren Ko-Kultivierung mit feline Embryonalzellen (Gunn-Moore, 1997b; Gunn-Moore et al., 1998). Der Nachweis der Monozyten-assoziierten Virämie erfolgte ab Vorliegen des Infektionsdrucks für ca. 5 Monate zweimal im Abstand von ca. 10 Wochen bei allen Tieren, die den Versuch bis dahin überlebt hatten. Sämtliche Tierheimkatzen waren mindestens bei einem der Tests positiv, von den 17 SPF-Katzen, die mindestens einmal untersucht wurden, waren 16 positiv. Am Versuchsende waren 20 von 23 überlebenden Tieren (SPF-Tiere und Tierheimkatzen) in der RT-PCR positiv.

4.3 Klinisch unauffällige SPF-Tiere

Sieben SPF-Tiere (H6 1455, H6 1443, H6 1433, H6 1427, H6 1436, H6 1425 und H6 1432) waren während des gesamten Versuchszeitraumes klinisch unauffällig und zeigten keinerlei Symptome irgendeiner Erkrankung. Das sind 17,5 % aller SPF-Tiere. Davon waren 3 Tiere (2 weiblich / 1 männlich) aus der Gruppe T1 (Kontrollgruppe) und 4 Tiere (3 weiblich / 1 männlich) aus der Gruppe T2 (Primucell[®]-Gruppe). Bei keinem dieser Tiere konnte am Versuchsende in der Obduktion FIP diagnostiziert werden. Zwei Tiere wiesen CoV-Antikörper-Titer > 3200 in der Versuchswoche 22 (erste Blutentnahme nach Challenge) auf. Am Versuchsende beliefen sich die CoV-Antikörper-Titer auf maximal 1 : 400, im kompetitiven ELISA reagierten alle negativ und in der RT-PCR zeigten 5 von den 7 Tieren eine positive Reaktion.

4.4 Andere Todesursachen als FIP

In der Tabelle 11 findet sich eine Übersicht über die anderen Todesursachen als FIP.

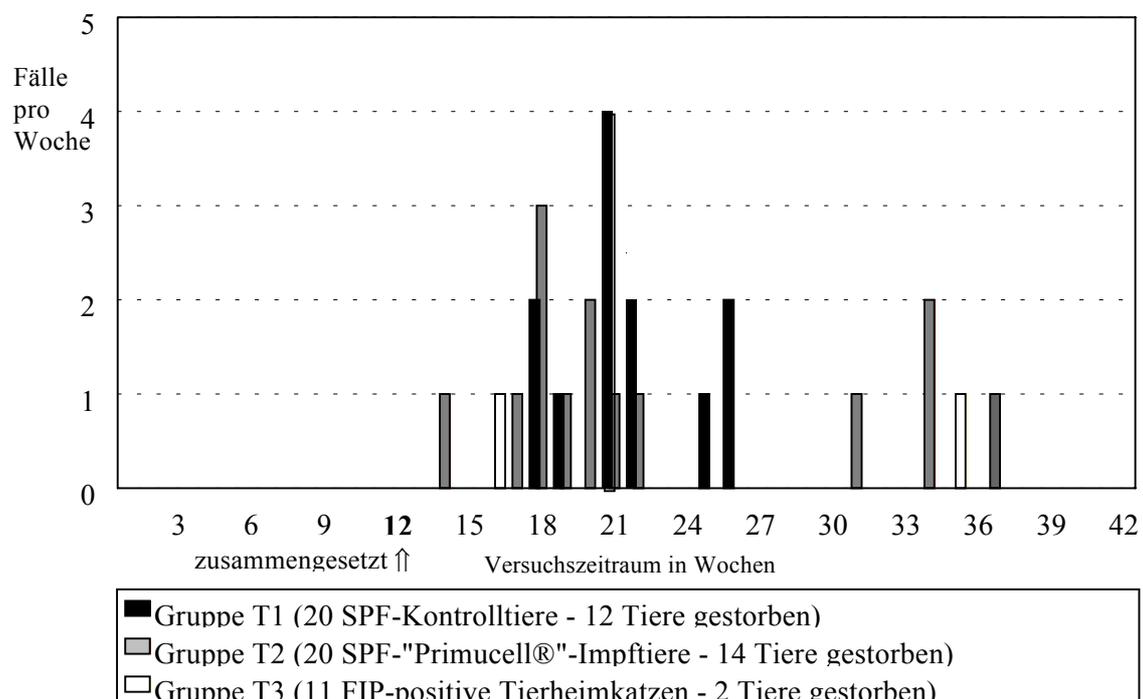
Tabelle 11: Andere Todesursachen im Versuchszeitraum

	Anzahl der im Versuch gestorbenen Tiere	Befund	Geschlecht
T1 (SPF-Kontrolltiere)	1	Kümmerer	weiblich
	1	Pleuritis (Nokardiose)	männlich
T2 (Primucell® - Gruppe)	1	katarrhalisch-eitrige Pneumonie	männlich
	1	Narkosezwischenfall bei Augenoperation	männlich
T3 (Tierheimkatzen)	1	Coronavirus-Enteritis	männlich

4.5 Chronologische Übersicht der Todesfälle

Abb. 4:

Chronologische Übersicht der Todesfälle (aller Ursachen) im Versuchszeitraum:



Die Versuchswoche 12 stellt den Versuchsbeginn im engeren Sinne dar (Zusammensetzen aller Tiere, Beginn des natürlichen Infektionsdrucks für die SPF-Primucell®-Tiere und die SPF-Kontrolltiere, Challenge).

4.6 FIP-Fälle

Der erste FIP-Fall wurde ca. sechs Wochen nach Einbringen der Tierheimkatzen (T3) in der Versuchswoche 18 (6 Wochen nach der Exposition) klinisch manifest. Es folgten wenige Tage später eine Vielzahl von FIP-Erkrankungen bei den SPF-Tieren (Abb. 13 und 14, Anhang 9.1). Es handelte sich überwiegend um die effusive Form der FIP (Abb. 10-15, Anhang 9.1). Ein SPF-Tier überlebte eine FIPV-Infektion mit klinischer Manifestation. Es war nach abgeklungener Symptomatik (Abb. 16-18, Anhang 9.1) vollkommen genesen und klinisch unauffällig. Am Versuchsende war es in der Obduktion FIP-negativ. Im Verlauf des Versuches starben bzw. wurden im Finalstadium der FIP oder anderer Erkrankungen 28 Tiere (Tabelle 12) euthanasiert. Zwölf Tiere stammten aus der Kontrollgruppe und vierzehn aus der Primucell[®]-Impfgruppe. Zusätzlich starben 2 der Tierheimkatzen. Die Diagnose einer FIP wurde post mortem durch den Sektionsbefund, den histopathologischen Befund und den immunhistologischen Nachweis von FIPV-Ag in den Läsionen bestätigt. Die verbleibenden SPF-Katzen wurden am Versuchsende zwecks Abklärung einer FIP euthanasiert. Es handelte sich um sechs SPF-Primucell[®]-Impftiere und acht SPF-Kontrolltiere. Bei keinem dieser Tiere fanden sich Veränderungen im Sinne einer FIP.

Auffällig waren bei fast allen dieser SPF-Tiere Veränderungen der lymphatischen Gewebe (follikuläre Hyperplasie und vergleichsweise verbreiterte T-Zell-Zonen in den Mesenteriallymphknoten und der Milz, sowie eine Thymushyperplasie).

Aufgrund der Tierversuchsaufgaben (Vermittlung der T3-Tiere) konnten die Tierheimkatzen am Versuchsende nicht untersucht werden. Alle vermittelten Katzen waren bei Abgabe jedoch klinisch unauffällig. Zu fünf der vermittelten Katzen existieren noch Informationen nach Ablauf des Versuches: sie sind alle gesund bzw. klinisch unauffällig. Keines der Tiere erkrankte klinisch manifest an FIP oder einer anderen Erkrankung oder verstarb an FIP oder einer anderen Erkrankung (Stand 1.7.2001).

Tabelle 12 und Abbildung 5 geben einen Überblick über die FIP-Erkrankungen des Versuches. Es gab keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,53$) zwischen der SPF-Primucell[®]-Impfgruppe und der SPF-Kontrollgruppe bezüglich der Anzahl der Tiere, die an FIP erkrankt waren. Zur Anwendung kam der Mantel-Haenszel Chi-Quadrat-Test. Weiterhin ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Geschlechtsverteilung der an FIP erkrankten Tiere (Abb. 6).

Abb. 5: chronologische Übersicht über das Auftreten der einzelnen Formen der FIP bei den SPF-Katzen

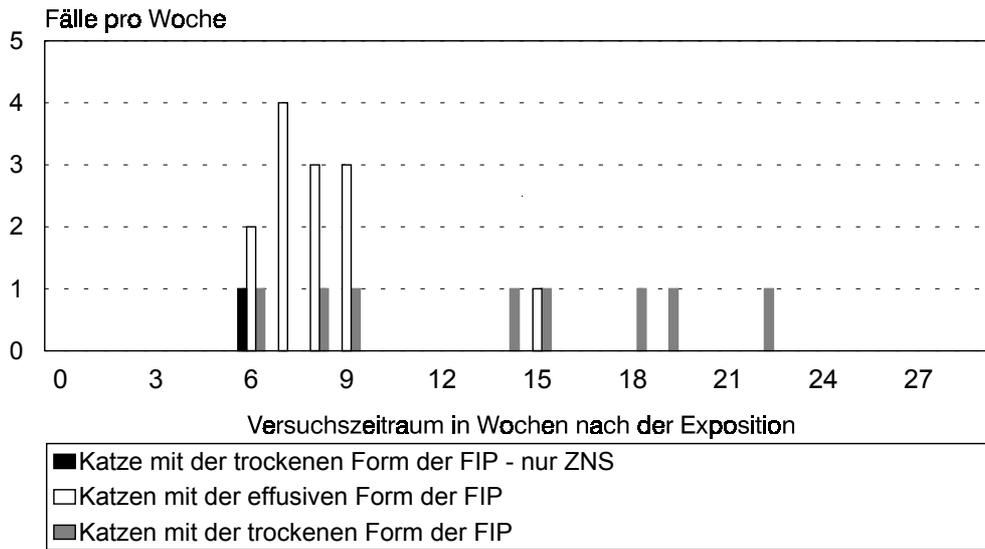
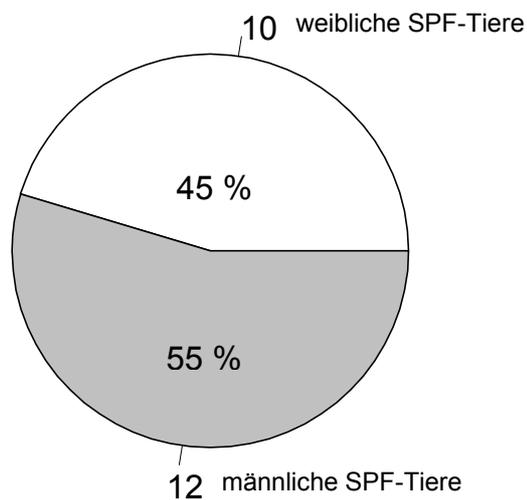


Tabelle 12

Gruppe	Anzahl im Versuch gestorbener* Tiere	davon Befund FIP (Inzidenz in %)	FIP weiblich	FIP männlich
T1 (SPF-Kontrolltiere)	12	10 (50% von T1)	7	3
T2 (Primucell®-Gruppe)	14	12 (60% von T2)	3	9
T3 (Tierheimkatzen)	2	1 (9%)	1	0
alle Gruppen zusammen	28	23 (45%)	11	12

*bzw. im Finalstadium der FIP oder anderer Erkrankungen euthanasiert

Abb. 6: Geschlechtsverteilung der an FIP erkrankten SPF-Tiere



4.7 Preventable fraction

Aus Tabelle 12 ergibt sich eine geschützte Fraktion (preventable fraction) von -20 %, errechnet nach der Formel:

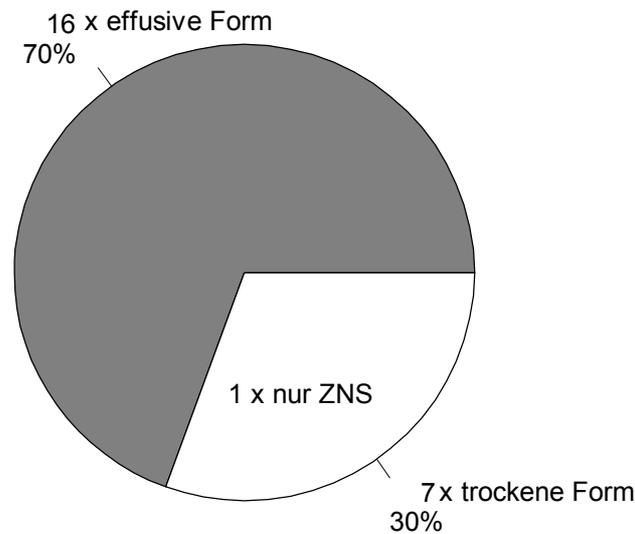
$$\text{Preventable fraction} = \frac{\text{Inzidenz der Gruppe T1} - \text{Inzidenz der Gruppe T2}}{\text{Inzidenz der Gruppe T1}} \times 100$$

4.8 Formen der FIP

Die FIP trat bei den SPF-Tieren sowohl in der feuchten als auch in der trockenen Form auf (Abb. 13, 14 und 16).

Die effusive Form lag in den meisten Fällen in typischer Ausprägung vor (Abb. 10-15, Anhang 9.1). Die Aszitesmenge betrug im Durchschnitt 350 ml. Im Vergleich zu Tieren mit der trockenen Form der FIP zeigten Tiere mit der effusiven Form der FIP einen fulminanteren und kürzeren Krankheitsverlauf, die Krankheitsdauer lag im Durchschnitt bei 14 Tagen (anfänglich 7 Tage, später bis 33 Tage). Eine Ausnahme bildeten eine Tierheimkatze (Nr. 45) und wenige SPF-Katzen (H6 1431, H6 1444), bei denen sich die Krankheitsdauer bei der effusiven Form der FIP über mehrere Wochen erstreckte. Tabelle 13 zeigt die Krankheitsformen und -verläufe der an FIP erkrankten SPF-Katzen in chronologischer Reihenfolge mit Angabe der Aszitesmengen. Erstes wahrnehmbares Symptom war stets die progressive Aszitesbildung. Das Allgemeinbefinden der Tiere war häufig lange Zeit ungestört (Abb. 10-15, Anhang 9.1), der Appetit erhalten. Fieber bzw. Körpertemperaturerhöhung konnten durch stichprobenartiges Messen nicht festgestellt werden. Erst mit massiver Aszitesbildung kam es zur Beeinträchtigungen der Atmung und der Bewegungsfreiheit des jeweiligen Tieres. Die Verdauung war nur in seltenen Fällen gestört. Durch abdominale Punktion zu diagnostischen Zwecken ließen sich bis zu 250 ml Aszites problemlos gewinnen. Das Punktat war in allen Fällen charakteristisch für die FIP. Die Punktion hatte lediglich einen kurzfristigen therapeutischen Effekt.

Abb. 7: Verteilung der FIP-Formen bei den 23 aufgetretenen Fällen (alle Gruppen) im Versuchszeitraum



Tiere mit der trockenen Form der FIP zeigten überwiegend unspezifische Symptome. Daraus resultierte das Problem, daß der Zeitpunkt der klinischen Manifestation nur schwer oder gar nicht zu bestimmen war. Die durchschnittliche Krankheitsdauer lag bei 17 Tagen (anfänglich 4 Tage, später 42 Tage). Tiere mit der trockenen Form der FIP waren über den gesamten Versuchszeitraum anzutreffen. Vorrangige klinische Symptome waren der Gewichtsverlust bzw. die verminderte Gewichtszunahme, der wechselnde Appetit, Habitus- (Abb. 16, Anhang 9.1) und Wesensveränderungen, Kontaktscheue zum Pflegepersonal und zu anderen Tieren, Augenveränderungen (Abb. 18, 19 und 21-26, Anhang 9.1 und Tabelle 14) und ZNS-Störungen (Ataxien, Tremor, Nystagmus etc.). Ein Tier entwickelte eine ausschließlich zentralnervöse klinische Symptomatik (Tier-Nr.: H6 1451, Sektions-Nr.: 433/97).

Durch symptomatische Therapie war eine Beeinflussung der Krankheitsdauer und des Krankheitsverlaufes nicht feststellbar. Es wurden keine Kortikoide, Immunmodulatoren, Paramunitätsinducer, Zytostatika oder antivirale Medikamente eingesetzt, weil dies mit dem Versuchsaufbau und der GCPV-Richtlinie nicht in Einklang zu bringen gewesen wäre.

Tabelle 13: Krankheitsformen und -verläufe, chronologisch, bei der effusiven Form der FIP mit Angabe der Aszitesmengen

Tier-Nr.	Sex	Gruppe	Todestag des Tieres	FIP-Formen (A: Aszites [ml], T: Trocken)	Krankheitsdauer in Tagen	Tage seit Infektionsbeginn
H6 1451	F	"Primucell"	05.03.1997	T, nur ZNS	8	43
H6 1410	M	"Primucell"	08.03.1997	A (200 ml)	4	46
H6 1411	F	"Primucell"	10.03.1997	T mit Diarrhoe	4	48
H6 1400	M	"Primucell"	10.03.1997	A (300 ml)	7	48
H6 1402	M	Kontrolle	12.03.1997	A (400 ml)	6	50
H6 1452	M	Kontrolle	12.03.1997	A (400 ml)	8	50
H6 1446	M	"Primucell"	16.03.1997	A (300 ml)	10	54
H6 1401	F	Kontrolle	18.03.1997	A (400 ml)	10	56
H6 1464	M	"Primucell"	26.03.1997	A (50 ml), ZNS	12	64
H6 1434	M	"Primucell"	26.03.1997	A (400 ml)	7	64
H6 1397	F	Kontrolle	29.03.1997	T	13	67
H6 1391	F	Kontrolle	29.03.1997	A (500 ml)	23	67
H6 1395	F	"Primucell"	03.04.1997	A (400 ml)	16	72
H6 1437	F	Kontrolle	03.04.1997	A (400 ml)	27	72
H6 1399	F	Kontrolle	07.04.1997	T	6	76
H6 1404	M	"Primucell"	08.04.1997	A (400 ml)	14	77
H6 1409	F	Kontrolle	01.05.1997	T incl. Augen	20	103
H6 1431	F	Kontrolle	05.05.1997	A (300 ml)	33	107
H6 1424	M	Kontrolle	05.05.1997	T	33	107
H6 1450	M	"Primucell"	30.06.1997	T incl. ZNS	12	132
H6 1466	M	"Primucell"	02.07.1997	T incl. Augen	42	134
H6 1444	M	"Primucell"	18.07.1997	A (400 ml)	11	150

4.8.1. Augenveränderungen

Bei fünf (12,5 %) der 40 SPF-Tiere (mit und ohne FIP) traten Augenveränderungen im Versuchszeitraum auf, bei denen die Ursache durch die FIPV-Infektion vermutet wurde (Tab. 14).

Tabelle 14: Augenveränderungen

Tier	Gruppe	klinischer ophthalmologischer Befund	FIP-Form
H6 1466	Primucell®	Irisverfärbungen beidseits von leuchtend gelb (Abb. 20, Anhang 9.1) nach orange, rechts: Uveitis anterior, streuende Gefäßinjektionen (Abb. 21 und 22, Anhang 9.1) und endotheliale Präzipitate, Fundus: scharf umrissene lokale Retinaatrophie	trocken
H6 1453	Primucell®	temporärer bilateraler Nickhautvorfall (Abb. 16 und 17, Anhang 9.1), Kammerwassertrübung, Uveitis anterior, Fibrinpräzipitate frei schwebend in der vorderen Augenkammer (Abb. 18, Anhang 9.1) - nach 3 Wochen wieder vollkommen aufgeklärt, Irisödem, Fundus: chorio-retinitische Narben, Irishinterflächenpigmentstrang (Abb. 19, Anhang 9.1)	kein Erguß*
H6 1451	Primucell®	Nystagmus	trocken
H6 1450	Primucell®	Irisverfärbungen, Drohreflex ±, Miosis, Augen vollkommen starr (unbeweglich, folgen nicht der Finger-bewegung oder sich bewegenden Objekten)	trocken
H6 1448	Kontrolle	Anisokorie (Abb. 23, Anhang 9.1), rechts: Enophthalmus, Bulbusverkleinerung, Rubiosis iridis (Abb. 24, Anhang 9.1), Irisödem, Neovaskularisationen (Abb. 25, Anhang 9.1), chronische Uveitis, Uveitis posterior, Miosis, Pupillenödem, Chorioretinitis, Fundus: Hyporeflexien, Infiltrate subretinal (Abb. 26, Anhang 9.1)	kein Erguß*

* trotz deutlicher klinischer FIP-Symptomatik (vorrangig ZNS-Symptome [und Titer > 3200 bzw. positive Reaktion im ELISA]) während des Versuchszeitraumes am Versuchsende kein FIP-Befund in den Sektionen

4.9 FIP und andere Erkrankungen in der Population

Abb. 8: Häufigkeiten von Katzenschnupfen bei den 22 an FIP erkrankten SPF-Katzen

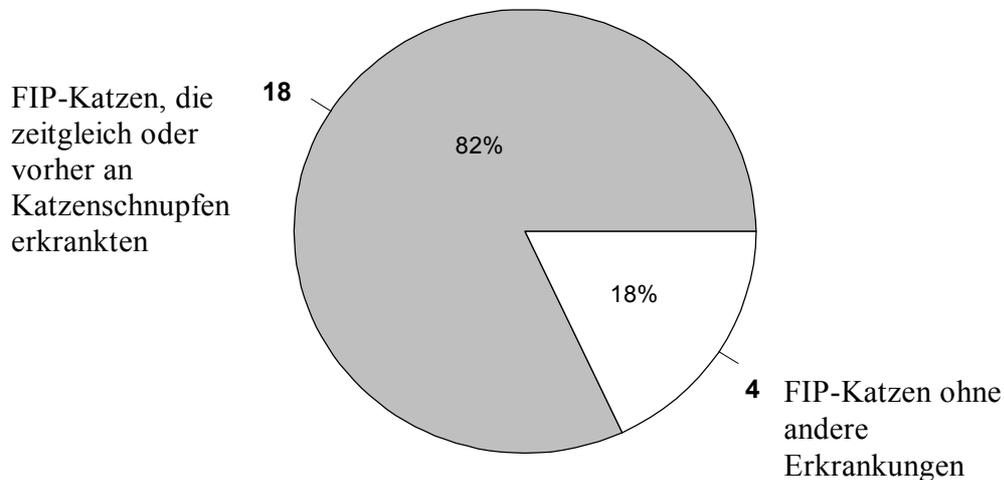
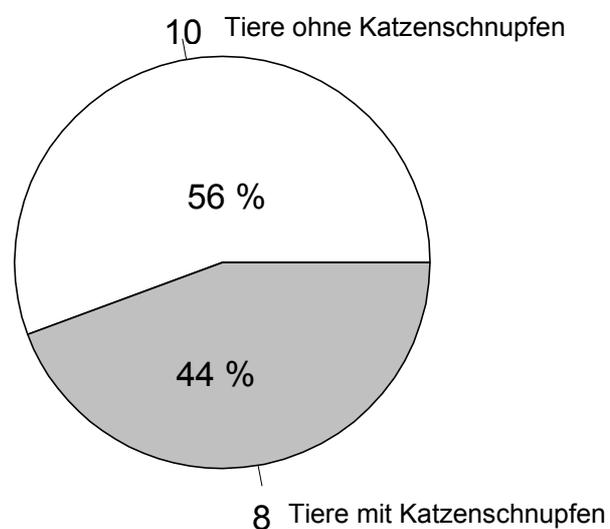


Abb. 9: Häufigkeiten von Katzenschnupfen bei den 18 nicht an FIP erkrankten Katzen



4.10 Rohdaten in Tabellenform

Die Tabellen geben einen Überblick über die Ergebnisse der angewandten diagnostischen Tests für jedes Tier und über die Diagnose FIP am Versuchsende.

Tabelle 15	Übersicht über die Gruppe T1 (Kontroll-Gruppe)	S. 68
Tabelle 16	Übersicht über die Gruppe T2 (Primucell [®] -Gruppe)	S. 69
Tabelle 17	Übersicht über die Gruppe T3 (Tierheimkatzen)	S. 70

Tabelle 15: Übersicht über die SPF-Kontrolltiere (T 1), chronologisch geordnet

Tier-Nr. (Tät.-Nr.)	Tier-Nr. lt. Pfizer	AK-Titer vom 01.11.1996	AK-Titer vom 24.01.1997	AK-Titer vom 04.04.1997	AK-Titer vom 16.06.1997	AK-Titer vom 25.08.1997	PCR (Bristol) 16.06.1997	PCR (Bristol) 25.08.1997	ELISA vom 24.01.1997	ELISA vom 04.04.1997	ELISA vom 16.06.1997	ELISA vom 25.08.1997	Sex F/M	Todestag des Tieres	Sektions- Nr. Vet.pathologie	Sektionsbefund (Diagnose)
H6 1435	14	negativ	*	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	29.12.1996	2562/96	"Kümmerer"
H6 1402	20	negativ	1:50	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	12.03.1997	498/97	FIP
H6 1452	7	1:25	negativ	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	12.03.1997	499/97	FIP
H6 1401	9	1:25	negativ	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	18.03.1997	536/97	FIP
H6 1397	27	negativ	1:50	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	29.03.1997	607/97	FIP (in der Virämie), Pneumonie
H6 1391	34	negativ	negativ	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	29.03.1997	608/97	FIP
H6 1437	15	negativ	1:50	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	03.04.1997	644/97	FIP
H6 1430	26	negativ	negativ	400	*	*	*	*	negativ	positiv	*	*	M	07.04.1997	669/97	Pleuritis (Nocardiose)
H6 1399	13	negativ	negativ	>3200	*	*	*	*	negativ	positiv	*	*	F	07.04.1997	688/97	FIP
H6 1409	17	negativ	negativ	100	*	*	*	*	negativ	negativ	*	*	F	01.05.1997	881/97	FIP
H6 1431	24	negativ	1:25	400	*	*	*	*	negativ	negativ	*	*	F	05.05.1997	900/97	FIP
H6 1424	38	negativ	1:25	>3200	*	*	*	*	negativ	grenzwertig	*	*	M	05.05.1997	901/97	FIP
H6 1405	19	1:25	1:25	800	200	50	negativ	+	negativ	negativ	grenzwertig	negativ	F	26.08.1997	1760/97	obB.
H6 1441	25	negativ	negativ	25	200	25	negativ	(+)	negativ	positiv	positiv	negativ	F	26.08.1997	1765/97	obB.
H6 1448	28	negativ	1:25	100	800	400	+	++	negativ	negativ	positiv	negativ	M	26.08.1997	1769/97	obB., trotz vorübergehender Symptome (ZNS, Auge)
H6 1456	12	negativ	negativ	100	100	50	negativ	+++	negativ	negativ	positiv	negativ	M	27.08.1997	1778/97	obB.
H6 1432	39	negativ	1.25	400	400	400	+	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	M	27.08.1997	1781/97	obB.
H6 1425	37	negativ	negativ	>3200	25	50	+	++	negativ	negativ	negativ	negativ	F	27.08.1997	1782/97	obB.
H6 1442	23	negativ	negativ	>3200	400	400	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	M	28.08.1997	1788/97	obB.
H6 1455	5	negativ	negativ	25	100	negativ	negativ	(+)	negativ	grenzwertig	positiv	negativ	F	28.08.1997	1789/97	obB.

Tabelle 16: Übersicht über die SPF-(Primucell®-) Impftiere (T2), chronologisch geordnet

Tier-Nr. (Tät.-Nr.)	Tier.- Nr.	AK-Titer vom	AK-Titer vom	AK-Titer vom	AK-Titer vom	AK-Titer vom	PCR (Bristol)	PCR (Bristol)	ELISA vom	ELISA vom	ELISA vom	ELISA vom	Sex	Todestag des Tieres	Sektions- Nr.	Sektionsbefund (Diagnose)
	lt. Pfizer	01.11.1997	24.01.1997	04.04.1997	16.06.1997	25.08.1997	16.06.1997	25.08.1997	24.01.1997	04.04.1997	16.06.1997	25.08.1997	F/M		Vet.pathologie	
H6 1408	3	negativ	1:200	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	08.02.1996	251/97	Pneumonie ("Katzenschnupfen")
H6 1451	6	1:25	1:200	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	05.03.1997	433/97	FIP (ausschließlich ZNS-Form)
H6 1410	4	1:25	1:50	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	08.03.1997	457/97	FIP
H6 1411	29	negativ	1:100	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	10.03.1997	472/97	FIP (in der Virämie)
H6 1400	10	negativ	1:400	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	10.03.1997	473/97	FIP
H6 1446	36	negativ	1:100	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	16.03.1997	524/97	FIP
H6 1464	30	negativ	1:400	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	26.03.1997	587/97	FIP
H6 1434	31	negativ	1:200	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	M	26.03.1997	588/97	FIP
H6 1395	1	negativ	1:400	*	*	*	*	*	negativ	*	*	*	F	03.04.1997	639/97	FIP
H6 1404	2	negativ	1:400	100	*	*	*	*	negativ	negativ	*	*	M	08.04.1997	699/97	FIP
H6 1440	40	negativ	1:800	200	*	*	*	*	negativ	positiv	*	*	M	10.06.1997	1172/97	Narkosezwischenfall
H6 1450	22	negativ	1:100	50	25	*	+	*	negativ	positiv	negativ	*	M	30.06.1997	1342/97	FIP (inklusive ZNS, Auge)
H6 1466	35	negativ	1:100	800	25	*	+	*	negativ	positiv	positiv	*	M	02.07.1997	1353/97	FIP (inklusive Auge)
H6 1444	32	negativ	1:100	800	>3200	*	++	*	negativ	negativ	grenzwertig	*	M	18.07.1997	1508/97	FIP
H6 1443	8	negativ	1:100	25	negativ	100	negativ	+	negativ	negativ	positiv	negativ	F	25.08.1997	1755/97	obB.
H6 1436	33	negativ	1:100	200	100	50	+	(+)	negativ	negativ	negativ	negativ	M	26.08.1997	1759/97	obB.
H6 1449	16	negativ	1:100	50	100	200	+	+	negativ	negativ	negativ	negativ	F	26.08.1997	1768/97	obB.
H6 1427	21	negativ	1:200	200	1600	200	negativ	(+)	negativ	positiv	negativ	negativ	F	27.08.1997	1779/97	obB.
H6 1433	18	negativ	1:50	>3200	100	400	+	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	F	27.08.1997	1780/97	obB.
H6 1453	11	negativ	1:400	>3200	800	100	negativ	++	negativ	negativ	negativ	negativ	F	28.08.1997	1787/97	obB., trotz vorübergehender Symptome (ZNS, Augen)

Tabelle 17: Übersicht über die Tierheimkatzen (T3) = Infektionsgruppe

Tier-Nr. (Tät.-Nr.)	AK-Titer vom 01.11.1996	AK-Titer vom 24.01.1997	AK-Titer vom 04.04.1997	AK-Titer vom 16.06.1997	AK-Titer vom 25.08.1997	PCR (Bristol) 16.06.1997	PCR (Bristol) 25.08.1997	ELISA bei Übernahme aus dem Tierheim	ELISA vom 24.01.1997	ELISA vom 04.04.1997	ELISA vom 16.06.1997	ELISA vom 25.08.1997	Sex F/M	Todestag des Tieres	Sektions- Nr. Vet.pathologie	Sektionsbefund (Diagnose)
41	1:400	1:800	400	25	25	+	(+)	positiv	negativ	grenzwertig	positiv	grenzwertig	M			nach Versuch vermittelt
42	1:200	1:100	400	100	400	+	++	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	M			nach Versuch vermittelt
43	1:200	1:200	800	25	100	+	+	positiv	negativ	positiv	positiv	negativ	M			nach Versuch vermittelt
44	1:200	1:100	*	*	*	*	*	positiv	negativ	*	*	*	M	24.02.1997	378/97	Coronavirus-Enteritis
45	1:100	1:800	>3200	100	*	+	*	positiv	negativ	negativ	negativ	*	F	09.07.1997	1425/97	FIP
46	1:6400	*	*	*	*	*	*	positiv	*	*	*	*	F	20.01.1997	152/97	FIP (kurz vor Versuchsbeginn verendet)
47	1:400	1:400	400	800	100	negativ	+++	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	F			nach Versuch vermittelt
48	1:400	1:800	100	neg.	400	negativ	+++	positiv	negativ	negativ	positiv	positiv	F			nach Versuch vermittelt
49	1:200	1:200	100	25	100	negativ	+	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	M			nach Versuch vermittelt
50	1:200	1:800	200	800	400	++	++	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	F			nach Versuch vermittelt
51	1:50	1:800	>3200	400	100	negativ	+	positiv	positiv	negativ	grenzwertig	negativ	F			nach Versuch vermittelt
52	1:200	1:400	100	400	100	+	+	positiv	negativ	negativ	positiv	negativ	F			nach Versuch vermittelt

* = Exitus letalis

5. Diskussion

5.1 Versuchsbedingungen

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirksamkeit des Impfstoffes Primucell®FIP im Tierversuch unter Tierheimbedingungen zu untersuchen. Die Haltung unter Tierheimbedingungen erfolgte auf dem Gelände der Lehr- und Versuchsstation Liebertwolkwitz der Universität Leipzig entsprechend den Anforderungen einer artgerechten Haltung von Katzen (Goldhorn, 1987; Mertens und Schär, 1988; Schmitz, 1990; Mertens, 1994; Schär, 1997). Die Tiere wurden als eine Gruppe in einem großen Gebäude, einem ehemaligen Gewächshaus, gehalten. Die Tiere konnten Freßnäpfe, Katzentoiletten und Spiel- oder Liegeplätze frei wählen, so dass ein ungehinderter Kontakt der Tiere untereinander sowie Kontakt mit den Ausscheidungen (Fäzes, Urin, Speichel) anderer Tiere möglich war, wie es auch in größeren Gruppenhaltungen in Tierheimen erfolgt. Jeder Katze stand auch ein Versteck zur Verfügung, in das sie sich vor Artgenossen, dem Betreuer oder fremden Personen zurückziehen konnte. Da es sich bei den SPF-Katzen um Tiere handelte, die in innerartlich sozialisierten Gruppen herangewachsen waren, entstanden zunächst kaum Probleme. Nach dem Zusammensetzen von SPF-Tieren (zu dem Zeitpunkt 21 Wochen alt) und Tierheimkatzen kam es vermehrt zu Rankkämpfen mit Dominanz der älteren und schwereren Tierheimkatzen. Dies führte zum Auftreten teils behandlungsbedürftiger Haut- und Augenverletzungen. Außerdem erfolgte in dieser Zeit der Zahnwechsel bei den SPF-Katzen. Die Kater wurden kastriert. Die SPF-Tiere waren vor dem Zusammensetzen der Tiere einer zusätzlichen Belastung ausgesetzt (Prozedur der Impfung mit Primucell®FIP), von der die Kontrolltiere verschont blieben. Sämtliche Tiere machten nach dem Zusammensetzen eine Phase erhöhten sozialen und psychischen Stresses durch (Schär, 1998a, b).

Die Rahmenbedingungen des Versuchs waren durch das Protokoll 2184D-10-95-155 der Firma Pfizer, die GCPV-Richtlinie und die Tierversuchsgenehmigung definiert. Die GCPV-Richtlinie und das Protokoll 2184D-10-95-155 der Firma Pfizer machten den Einsatz von SPF-Tieren unerlässlich, was eine möglichst weitgehende Standardisierung der Versuchsbedingungen und eine wissenschaftliche Erfassbarkeit und Verwertbarkeit ermöglichte. Die Anzahl der in den Versuch eingebrachten SPF-Katzen entspricht der Populationsgröße anderer Vakzinations- und Infektionsversuche sowie anderer unter SPF-Bedingungen gehaltenen Tiergruppen, in denen Untersuchungen zur FIPV-Vermehrung erfolgten (Hoskins et al., 1994; Poland et al., 1996; Foley et al., 1997b; Herrewegh et al., 1997).

Die aus Tierheimen stammenden Katzen wurden im Anschluß an den Versuch vermittelt und standen dementsprechend nicht mehr für eine abschließenden Untersuchung in Form einer Sektion zur Verfügung. Sämtliche SPF-Katzen wurden am Versuchsende euthanasiert, seziiert und pathologisch-histologisch untersucht.

5.2. Infektionsstatus der SPF-Katzen und der Tierheimkatzen vor Beginn des Versuchs

Bei den Tierheimkatzen wurde lediglich der FeLV-, FIV- und FCoV-Infektionsstatus bestimmt. Der Nachweis von FeLV-p27-Antigen und von FIV-Antikörpern mittels kommerziellem Schnelltest (Snap™, IDEXX, Wörrstadt) verlief durchweg mit negativem Ergebnis. Der bei sämtlichen seziierten Katzen des Versuchs routinemäßig erfolgte immunhistologische Nachweis von FeLV-Antigen an formalin-fixierten und paraffin-eingebetteten Geweben (Milz, Mesenteriallymphknoten, Knochenmark und Jejunum [Kovacevic et al., 1997]) zeigte ebenfalls durchweg ein negatives Ergebnis, so dass sich kein Hinweis auf FeLV-Infektionen bei den Tierheim- und SPF-Katzen ergibt. Desweiteren waren sämtliche SPF-Katzen zusätzlich gegen FeLV geimpft (Leukocell™2, Pfizer, Karlsruhe).

Vier der insgesamt 15 mittels des kompetitiven ELISA zum Nachweis FIPV-spezifischer Immunkomplexe (Pfeiffer, 1991; Schroo, 1994) selektierten Katzen starben bereits vor dem eigentlich Versuchsbeginn, d.h. während die Tiere in Gruppen zu 5-6 Tieren gehalten wurden, an FIP. Im Laufe des Versuchs entwickelte ein Teil der SPF-Katzen eine FIP, ein anderer Teil wurden lediglich FCoV-infiziert und schied Virus aus. Somit erwies sich der kompetitive ELISA als geeignet für ein Screening von Katzen, um mögliche FCoV-Infektionsquellen als Träger des FIPV-Biotyps von FCoV ohne Virusisolierung zu identifizieren.

Die SPF-Tiere waren spezifisch pathogenfrei. Dies beinhaltete das garantierte Freisein von Antikörpern gegen felines Calicivirus, Chlamydien, FCoV, felines Herpesvirus (FVR/FHV-1), FIV/FTLV, FeLV, felines Parvovirus, felines Synzytialvirus und Toxoplasmen. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn waren die Katzen entsprechend den Herstellerangaben gegen felines Herpesvirus, felines Calicivirus und felines Parvovirus geimpft worden (Felocell™CVR; Pfizer, Karlsruhe). Es traten ab ca. 1 Woche nach dem eigentlichen Versuchsbeginn, d.h. dem Zusammensetzen von Tierheim- und SPF-Katzen, in allen Tiergruppen eine "Katzenschnupfensymptomatik" mit Augen- und Nasenausfluß, Lidschwellungen, Niesen und gestörtem Allgemeinbefinden auf. Eines der Tiere starb 3 Wochen nach Versuchsbeginn und wies eine katarrhalisch-eitrige Pneumonie auf. Knapp 82% der Tiere, die an FIP starben, wiesen zeitgleich oder vorher Symptome des Katzenschnupfens

auf. Mögliche Ursachen für die Erkrankungen trotz Impfung könnten eine Immunsuppression durch den Streß des Zusammensetzens der Tiere, ein erhöhter Infektionsdruck für entsprechende virale Erreger (Calici- und Herpesvirus) sowie bakterielle Erreger und Chlamydien durch die Tierheimkatzen, und eine mögliche Immunsuppression durch den gleichzeitigen FCoV-Infektionsdruck darstellen (Haagmans et al., 1996). Auch eine geringe Schutzwirkung der jeweiligen Impfstoffkomponente gegen die vorhandenen Virusstämme ist möglich.

5.3 Impfung

Das FIP-Impfvirus (Primucell®-FIP; Pfizer, Karlsruhe), das lebendes, sich bei der normalen Körpertemperatur der Katze von ca. 39°C nicht vermehrendes, avirulentes FIPV (DF2) enthält (Christiansen et al., 1989), wurde in Impfdosen mit einem Titer von $5,5 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{Dosis}$ beidseitig intranasal appliziert. Die Tiere wurden zweimal gemäß Herstellerangaben im Abstand von 3 Wochen geimpft (Erstimpfung und Boosterung). Zusätzlich erfolgten jeweils Rücktitration und Prüfung der frischen Vakzine-Chargen. Der Antigengehalt/Titer lag im Mittel bei $10^{5,4} \text{CCID}_{50}/\text{ml}$ bzw. $10^{5,5} \text{CCID}_{50}/\text{ml}$. Das Impfvirus vermehrte sich bei 31°C 2000 bis 3000-fach stärker als bei 39°C. Die Suche nach Fremdviolen verlief negativ, der Sterilitätstest positiv. Der Impfstoff entsprach somit den erforderlichen Bedingungen. In der Literatur wird die Unbedenklichkeit des Impfvirusstammes beschrieben, Angaben über FIP-Induktion durch die Impfung oder anderweitige Gefährdungen oder Nebenwirkungen sind nicht bekannt (Gerber, 1995).

Die Vakzinierung induzierte eine Serokonversion mit CoV-Antikörper-Titern von 1:50 bis 1:800, nachgewiesen am 13. Tag nach der Boosterung, so dass sie prinzipiell als erfolgreich anzusehen ist (Gerber et al., 1991; Gerber, 1994). Die erfolgreiche Rücktitrierung und Prüfung der Vakzine bestätigte, dass es sich beim Virus in den Impfchargen um vermehrungsfähiges Virus handelte.

5.4 FCoV/FIPV-Infektionsdruck

Es ist davon auszugehen, dass der FCoV-Infektionsdruck auf die SPF-Katzen, der mit dem Hinzusetzen der Tierheimkatzen einsetzte, sehr hoch gewesen ist, da 20% der Katzenpopulation (d.h. die 10 Tierheimkatzen unter den insgesamt 50 Katzen) aufgrund des positiven Ergebnisses im kompetitiven ELISA zum Nachweis von zirkulierenden FCoV-spezifischen Immunkomplexen als potentielle Virusausscheider angesehen werden müssen.

Der Anteil an Tieren, die als Infektionsquellen einzuschätzen sind, lag in diesem Versuch demnach etwas höher als durchschnittlich in den Tierheimen, aus denen die selektierten Katzen stammten, in denen der Anteil an Tieren, die im kompetitiven ELISA zum Nachweis FCoV-spezifischer Immunkomplexe ein positives Ergebnis hatten, bei maximal 16 % und im Durchschnitt bei 7 % lagen.

Mit den ungeimpften SPF-Katzen wurde eine FCoV-naive Tierpopulation der Infektion ausgesetzt. Es ist bekannt, dass empfängliche Katzen nahezu unmittelbar infiziert werden und innerhalb von 7-14 Tagen eine Serokonversion durchmachen (Pedersen et al., 1981a). Sechs Wochen nach dem Zusammensetzen waren bereits 14 SPF-Katzen an FIP erkrankt und gestorben oder euthanasiert und seziert worden. Untersuchungen in Katzenzuchten ergaben, dass eine positive Korrelation besteht zwischen der Anzahl an empfänglichen nichtinfizierten Tieren, die neu in einen Bestand mit FCoV-Ausscheidern kommen, und der "Schwere der Infektion" (Kass und Dent, 1995).

Ein Teil der Tiere dieses Versuchs wurde im Rahmen zusätzlicher Untersuchungen auf eine Virusausscheidung mittels Elektronenmikroskopie (Negativ-Staining-Technik) und RT-PCR zum Nachweis von Virusgenom in den Fäzes untersucht (Kipar et al., 1999b). Hier zeigte sich, dass ein Teil der Tiere, die später an FIP starben, sowie ein Teil der SPF-Katzen, die bis zum Ende des Versuchs überlebten, CoV ausschieden (Kipar et al., 1999b), was sowohl deren Empfänglichkeit für die Infektion als auch deren mögliche Rolle als sekundäre Infektionsquelle unterstreicht. Auch in anderen Untersuchungen mittels RT-PCR zum Nachweis von FCoV-Genom in den Fäzes wurde bei natürlich infizierten Katzen eine allerdings intermittierende Ausscheidung über einen längeren Zeitraum (untersucht wurden Katzen über einen Zeitraum von bis zu 13 Monaten) festgestellt (Addie et al., 1996; Foley et al., 1997b; Herrewegh et al., 1997; Harpold et al., 1999). Harpold et al. (1999) konnten zeigen, dass in einer FCoV-durchseuchten Katzenpopulation $\frac{1}{4}$ der Tiere über 75% der Zeit eines Jahres FCoV ausschieden.

CoV haben generell eine sehr hohe Mutationsrate. Man kann davon ausgehen, dass mit jeder RNA-Replikation mehrere Punktmutationen in der genomischen RNA akkumulieren, so dass sogar ein aus einem Plaque gewonnenes CoV-Isolat eine Population aus verwandten Quasispezies repräsentiert (Holmes und Lai, 1996). Dies bestätigen Ergebnisse von Gunn-Moore et al. (1999), die mittels denaturierender Gradientengelelektrophorese im Blut FCoV-infizierter Katzen mit und ohne FIP nachweisen konnten, dass im hochvariablen S-Gen von FCoV eine deutliche Variation zwischen verschiedenen Tieren, aber auch im Einzeltier zu verschiedenen Zeitpunkten besteht. Dies zeigt, dass FCoV im Einzeltier als komplexe Viruspopulationen vorkommen (Quasispezies).

Berücksichtigt man, dass die als Infektionsquellen fungierenden Katzen aus verschiedenen Beständen stammten, ist davon auszugehen, dass hier eine gute Voraussetzung für das Auftreten eines sehr breiten Quasispezies-Spektrums in den infizierten Katzen gegeben ist. Dies konnten Gunn-Moore et al. (1999) bei Welpen aus Beständen mit unterschiedlichen Zulieferern belegen, die ebenfalls die größte Variabilität an FCoV aufwiesen, was die Autoren auf eine Ko-Infektion der Tiere mit mehreren FCoVs zurückführen.

Untersuchungen zum FIP-Vorkommen in einer geschlossenen Katzenpopulation deuten auch darauf hin, dass die entscheidende Infektionsquelle für empfängliche Katzen chronisch infizierte asymptomatische Tiere sind (Herrewegh et al., 1997).

5.5 Nachweis der FCoV-Infektion

Der Nachweis der FCoV-Infektion erfolgte am lebenden Tier indirekt über Serologie (FCoV-Antikörpertiter-Bestimmung, kompetitiver ELISA zum Nachweis zirkulierender FIPV-spezifischer Immunkomplexe) und direkt mittels RT-PCT zum Nachweis von FCoV-Genom in Monozyten nach deren Ko-Kultivierung mit feline Embryonalzellen (Gunn-Moore, 1997a,b; Gunn-Moore et al., 1998). Der Nachweis der Monozyten-assoziierten Virämie erfolgte ab Vorliegen des Infektionsdrucks für ca. 5 Monate zweimal im Abstand von ca. 10 Wochen bei allen Tieren, die den Versuch bis dahin überlebt hatten. Sämtliche Tierheimkatzen waren mindestens bei einem der Tests positiv, von den 17 SPF-Katzen, die mindestens einmal untersucht wurden, waren 16 positiv. Gunn-Moore et al. (1998) wiesen in Katzenbeständen mit endemischer FCoV-Infektion bei 80-90% der Tiere eine FCoV-Virämie nach, die auch über einen Zeitraum von 12 Monaten bestehen blieb. Diese Ergebnisse bestätigen, dass auch der Nachweis einer FCoV-Virämie keine Aussage darüber zulässt, ob ein Tier für die Entwicklung einer FIP prädisponiert ist (Gunn-Moore et al., 1998). Allerdings findet sich eine Korrelation zwischen dem Nachweis einer Monozyten-assoziierten Virämie und FCoV-Antikörpertitern (Gunn-Moore et al., 1998).

5.6 FIP-Fälle

Die aufgetretenen FIP-Fälle entsprachen klinisch und pathologisch weitgehend dem klassischen Bild der FIP bei der effusiven und der trockenen Form (Kriegleder und Geyer, 1984; Rohrer et al., 1993; Hirschberger et al., 1995). Es trat vorrangig die effusive Form der FIP auf, was die Ergebnisse von Hirschberger et al. (1995) bestätigt, die die exsudative Verlaufsform als ausgesprochene Jungtiererkrankung identifizierten. Die Krankheitsdauer war

zu Beginn des Versuchs kürzer, der klinische Verlauf fulminanter. Spätere FIP-Erkrankungen im Versuch zeigten einen subakuten Verlauf. ZNS-Symptome und Augenveränderungen fanden sich nur bei einem geringeren Teil (12,5%) der SPF-Tiere. Die charakteristischen Augenveränderungen wie Iritis, Uveitis, Trübungen des Augenkammerwassers (Krebiel et al., 1974; Kellner u. Litschi, 1989, Shell, 1997) berechtigen aber die Augenuntersuchungen zur FIP-Diagnostik, da sie ein wichtiges Leitsymptom sein kann (Rohrer et al., 1993; Weber, 2000). Es ergab sich keine Geschlechtsdisposition; die zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns erfolgte Kastration der Kater schien keine direkte Disposition für die Erkrankung darzustellen. Das Auftreten mehrerer FIP-Fälle praktisch gleichzeitig bereits kurze Zeit (6 Wochen) nach Beginn des Infektionsdrucks spricht dafür, dass ein hochvirulentes FIPV in die SPF-Population eingebracht und übertragen wurde, da sonst eine praktisch gleichartige und gleichgerichtete Mutation zum gleichen Zeitpunkt in verschiedenen Tieren angenommen werden müßte. Andererseits spricht das Auftreten von Peaks an Krankheitsfällen (Abb. 4, 5) dafür, dass hochvirulente Varianten neu entstanden sind. In jedem Fall deutet die Häufung von Fällen innerhalb kurzer Zeitspannen darauf hin, dass eine Virusübertragung von Tier zu Tier zumindest in diesen Fällen eher wahrscheinlich ist als die Entstehung und Vermehrung der hochvirulenten FIPV-Mutante jeweils neu im infizierten Einzeltier, wie sie in anderen durchseuchten Populationen beobachtet wurde (Hickman et al., 1995; Herrewegh et al., 1997; Vennema et al., 1998). Hier könnte der Unterschied zwischen einer naiven, wenn auch zur Hälfte geimpften SPF-Katzenpopulation und einer durchseuchten Hauskatzenpopulation pathogenetisch und epizootologisch eine wesentliche Rolle spielen. Für das Einbringen eines hochvirulenten FIPV-Stammes in die Population spricht auch der insgesamt sehr hohe Prozentsatz an FIP-Fällen (45%) in dieser Studie im Vergleich zu anderen Untersuchungen (Postorino Reeves et al., 1992; Hoskins et al., 1994, 1995b).

5.7 Beurteilung anderer pathogenetischer relevanter Faktoren

Hier ist zum einen an Faktoren zu denken, die eine mögliche Immunsuppression induziert haben könnten, zum anderen an mögliche Koinfektionen mit anderen Erregern. Beide Arten von Faktoren kommen in jedem Tierheim mit Gruppenhaltung vor, so dass man sie in diesem Versuch zur Belastungsprobe des Impfstoffes unter Tierheimbedingungen dazugehörend ansehen muß. Anders als bei dem Versuch von Hoskins et al. (1994), fand sich kein signifikanter Unterschied in der Gewichtszunahme zwischen Impf- und Kontrollgruppe zugunsten der vakzinierten Tiere .

5.7.1 Psychischer und sozialer Streß

Im vorliegenden Versuch waren die Tiere verschiedensten Streßfaktoren ausgesetzt. Hier sind zunächst der Abtransport der SPF-Tiere aus steriler Umgebung über zwei Tage mit nachfolgendem neuen Umfeld, Futterumstellung und dem Weiterleben in großen Tiergruppen zu nennen. Auch die Tierheimkatzen waren durch den Wechsel der Umgebung und das Weiterleben in neuen Tiergruppen einer vergleichbaren Situation ausgesetzt. Mit dem Zusammensetzen aller Tiere begann die zweite Streßphase. Massive Rangkämpfe ließen sich nicht vermeiden. Zusätzlich führten die Blutentnahmen mit vorherigem Fangen der Tiere zu wiederholtem Streß. Wie auch Untersuchungsergebnisse von Rohrer et al. (1993), bei denen ca. 50 % der FIP-Katzen vor Krankheitsbeginn einer Streßsituation wie Besitzerwechsel, Verbringen in eine fremde Umgebung oder Tierheim- bzw. Klinikaufenthalt ausgesetzt waren, andeuten, könnten diese Streßsituationen sowohl die vermehrte Ausscheidung von FCoV bei den bereits infizierten Tierheimkatzen als auch die Entwicklung einer FIP bei den neu und den bereits länger infizierten Tierheimkatzen (vier Tiere starben vor Versuchsbeginn und eines dieser Tiere starb während des Versuchs an FIP) begünstigt haben. Psychischer und sozialer Streß ist durchaus ein Faktor, der eine zeitweilige Immunsuppression bewirken kann (Weiss und Scott, 1981a).

5.7.2 Koinfektionen

Wie bereits oben diskutiert, ist aufgrund der aufgetretenen Katzenschnupfensymptomatik davon auszugehen, dass die SPF-Tiere sich nicht nur mit FCoV auseinandersetzen mußten, sondern auch mit respiratorischen Erregern wie dem feline Herpesvirus (FHV) und dem feline Calicivirus (FCV), ubiquitären Bakterien und Chlamydien. Es wäre möglich, dass diese Infektionen die Schleimhautbarriere gegen FCoV geschwächt und möglicherweise somit den nasopharyngealen Infektionsweg des FCoV begünstigt hat.

5.7.3 Immunsuppression durch andere Ursachen

Der Zahnwechsel sowie die Kastration der männlichen Tiere um den Zeitraum des Versuchsbeginns könnten neben den oben genannten psychischen und sozialen Streßfaktoren sowie möglichen Koinfektionen ebenfalls immunsuppressiv gewirkt haben.

Die Ergebnisse einer experimentellen Infektion von FIV-infizierten Katzen mit FCoV vom Biotyp FECV lassen vermuten, dass eine Immunsuppression die FIP-Erkrankung von Katzen

über eine vermehrte Bildung und Selektion von FIPV-Mutanten des FCoV begünstigt (Poland et al., 1996). So zeigten FIV-infizierte Katzen eine hohe FCoV-Replikationsrate mit 100-fach stärkerer und länger andauernder Virusausscheidung über die Fäzes als FIV-negative Tiere (Poland et al., 1996). Katzen mit einem intakten Immunsystem können vermutlich zahlreiche FIPV-Mutanten enthalten, ohne FIP zu entwickeln (Pedersen, 1995). Poland et al. (1996) gehen davon aus, dass die beobachtete erhöhte Virusreplikation zusammen mit der Immuninkompetenz der FIV-infizierten Tiere die Bedingungen für die Entstehung der FIPV-Mutanten und die Krankheitsauslösung durch FIPV-Mutanten begünstigen. In unserer Population kam allerdings keine FIV-Infektion vor.

5.8 Beurteilung der Serologie

Wie bereits erwähnt, ist der kompetitive ELISA zum Nachweis FIPV-spezifischer Immunkomplexe (Schroo, 1994) für die Selektion FCoV-infizierter Katzen und möglicher Ausscheider des FIPV-Biotyps geeignet. Man erfaßt Katzen, bei denen höchstwahrscheinlich eine FIPV-Infektion vorliegt (Pfeiffer, 1991). An FIP klinisch erkrankte Tiere zeigten in diesem ELISA zum Teil während der Erkrankung und auch zum Todeszeitpunkt, ein negatives Ergebnis. Ähnliche Ergebnisse erhielt Schroo (1994). Sie sah einen Zusammenhang zwischen dem Testergebnis und der Phase der Erkrankung, da offensichtlich nicht ständig Immunkomplexe in Serum und Exsudat vorliegen. Bei von Jacobse-Geels et al. (1982) durchgeführten experimentellen Untersuchungen war ein deutlicher Anstieg der Immunkonzentration ab dem 25. Tag post infectionem zu erkennen. Sie beobachteten die höchsten Konzentrationen bei moribunden Tieren, was in der Arbeit von Schroo (1994) nicht bestätigt wurde. Allerdings wiesen Jacobse-Geels et al. (1982) sämtliche im Serum vorhandenen Immunkomplexe nach und nicht nur die FIPV-spezifischen. Nicht zuletzt ist es möglich, dass das ELISA-Ergebnis bei Vorliegen nur geringer Mengen an FIPV-spezifischen Immunkomplexen negativ ausfallen kann, da mit Polyethylenglykol nur ein relativ geringer Anteil der vorhandenen Immunkomplexe ausgefällt und somit gewonnen wird (Jones und Orlans, 1981). Ein Teil der Tiere, die nicht an FIP erkrankten, zeigten ein positives Ergebnis im ELISA. Diese Ergebnisse bestätigen die Aussage, dass der positive kompetitive ELISA keine Aussage darüber zuläßt, ob ein Tier eine klinisch manifeste FIP entwickeln wird oder nicht (Pfeiffer, 1991; Reinacher, 1994; Schroo, 1994; Kipar et al., 1999b). Es ist davon auszugehen, dass solche ELISA-positiven Tiere zum einen Katzen sein können, die die Infektion später aufgrund einer starken zellulären Immunantwort beenden können (Pedersen und Black, 1983), zum anderen in seltenen Fällen solche Tiere, die lediglich eine Infektion mit

dem FECV-Biotyp des FCoV durchmachen, da auch bei diesen Katzen, wenn auch nach experimenteller Infektion nur einmalig 3 Wochen p.i., ein positives Ergebnis im ELISA beobachtet werden kann (Pfeiffer, 1991).

Die FCoV-Antikörpertiter-Verläufe waren sehr unterschiedlich. Es ist bekannt, dass die Höhe des Ak-Titers weder einen diagnostischen noch einen prognostischen Wert hat, weil daraus nicht geschlußfolgert werden kann, daß die Katze eine FIP hat oder entwickeln wird (Rohrer et al., 1993; Addie und Jarrett, 1994; Sparkes et al., 1994; Kipar et al., 1999b; Addie et al., 2000). Dementsprechend ist die Ak-Titer-Bestimmung beim gesunden Tier wenig sinnvoll (Lutz, 1992). Unsere Ergebnisse bestätigen die vergleichender Untersuchungen verschiedener Testsysteme zur FIP-Diagnostik, die keine Signifikanz für serologische FCoV-Ak-Tests feststellen konnten (Troy et al., 1996; Kennedy et al., 1998). Serologische Methoden auf der Basis des Ak-Nachweises eignen sich lediglich für Bestands- und Verlaufsuntersuchungen, unabhängig von der Art des FCoV-Biotyps.

Im Rahmen unseres Versuches wären zur Untersuchung des FCoV-Antikörpertiter-Verlaufs kürzere Intervalle bei den Blutentnahmen vorteilhaft gewesen. Allerdings hätten solche Blutentnahmen in einer solch großen frei laufenden Katzengruppe zu anderen Belastungen (Fangstreß, gesteigerte Hämatopoese) geführt, wie sie bei Tierheimkatzen, deren Situation ja nachgestellt werden sollte, nicht in diesem Ausmaß vorkommen.

Im vorliegenden Versuch überlebten Tiere mit einem FCoV-Antikörpertiter von >3200, andere Katzen mit einem solchen Titer entwickelten in unserem Versuch eine letale FIP. Addie et al. (2000) beobachteten eine Korrelation zwischen der Ausscheidung von FCoV mit den Fäzes und hohen FCoV-Antikörpertitern. Dieser Zusammenhang läßt sich in unserem Versuch nur zum Teil bestätigen (s. Tab. 15-17).

Die oben genannte Serokonversion bei den SPF-Tieren nach der Impfung mit Primucell®FIP entspricht den beschriebenen Befunden (Christianson et al. 1989; Gerber et al. 1989).

5.9 Überleben einer klinisch manifesten FIP

Lutz et al. (1985) und Lutz (1992) gingen davon aus, daß ein Tier mit den Symptomen einer FIP praktisch keine Aussicht auf eine definitive Heilung haben kann. Die verschiedenen beschriebenen Therapieversuche (Lutz et al., 1985; Kitchen, 1988; Weiss et al., 1993; Bölskei u. Bilkei 1995a,b) führten nicht zum Überleben der Katzen. Berichte über die Heilung von Katzen sind generell vorsichtig zu werten, da eine eindeutige FIP-Diagnose nicht vorlag (Bilkei, 1988).

Das im Versuch mit Primucell®FIP vakzinierter Tier H6 1453 zeigte über mehrere Wochen eine deutliche neurologische und ophthalmologische Symptomatik. Hinzu traten Gewichtsverlust, Inappetenz, und Apathie. Die FCoV-Antikörpertiter betragen zwischenzeitlich >3200 und fielen nach der Genesung wieder auf 1:100 ab. Die Augenveränderungen und die neurologischen Symptome traten zeitgleich und gleichartig auf, wie bei anderen Katzen (H6 1466, H6 1451, H6 1450), die später an FIP starben und die histologisch sowie immunhistologisch FIP-typische Augenveränderungen aufwiesen (Weber, 2000). Bei der Katze H6 1453 verschwanden die Symptome allerdings wieder fast vollständig, bis auf geringgradige Augenveränderungen (Irishinterflächenpigmentstrang, Abb. 19). Die ZNS-Störungen klangen vollständig wieder ab. Bei der Sektion konnten keine Granulome oder andere auf FIP deutende Veränderungen festgestellt werden. Die intra vitam-Diagnose FIP zum Zeitpunkt der klinischen Manifestation erscheint akzeptabel, da viele Differentialdiagnosen entfallen, es sich nicht um die Frühphase der Erkrankung handelte und alle Symptome der trockenen Form der FIP, wie sie auch bei an FIP gestorbenen Tieren auftraten, massiv ausgeprägt waren. Daraus ergibt sich die Überlegung, ob eventuelle Therapieerfolge nicht auch auf Spontanheilungen zurückzuführen sein können. Möglich ist, dass das Tier mit einer starken zellvermittelten und humoralen Immunantwort auf den Infektionsdruck, eventuell auch als Folge der Impfung reagierte, so daß es nach der ursprünglichen Entwicklung von FIP-Läsionen rekonvaleszierte.

5.10 FIPV-Infektion ohne Entwicklung einer FIP

Auch die Katzen (insgesamt 17%), die nicht klinisch erkrankten, jedoch nachweislich FIPV-infiziert waren (Monozyten-assoziierte FCoV-Virämie, FCoV-Ausscheidung, FCoV-spezifische systemische Immunantwort [Kipar et al., 1999b]) sowie die Tierheimkatzen könnten eine effektive Immunantwort gegen FCoV/FIPV entwickelt und diese über die Dauer des Versuchs aufrechterhalten haben (Kipar et al., 1999b). Ungewiß bleibt, ob die überlebenden Tierheimkatzen schon zu Versuchsbeginn eine natürliche Immunität ausgebildet hatten, oder ob dieser Status erst im Laufe des Versuchs erreicht wurde. Eine zwischenzeitliche Eliminierung der Infektion, das Vorliegen inapparenter Infektionen sowie regelmäßige Reinfektionen, die letztendlich zu einer natürlichen Immunitätsausbildung führt, sind vorstellbar. In einer Langzeitstudie über 10 Jahre wurde ähnliches beobachtet, wobei nur ein geringer Prozentsatz seropositiver Tiere nach langer Inkubationszeit eine FIP entwickelte (Addie et al., 2000). Nach 36 Monaten sind die überlebenden Tierheimkatzen durchweg

klinisch unauffällig. Weitergehende Untersuchungen zum FCoV-Infektionsstatus sind leider nicht mehr möglich, da die Tiere den Untersuchungen nicht mehr zugänglich sind.

Das Überleben eines Teils der FCoV-infizierten SPF-Katzen unabhängig vom Impfstatus über den gesamten Versuchszeitraum ohne klinische Symptomatik deutet darauf hin, daß die Konstitution und Kondition des einzelnen Tieres sowie andere Faktoren einen entscheidenden Einfluß auf die Disposition für die Entwicklung einer FIP haben. Am Versuchsende wiesen diese Tiere niedrige FCoV-Antikörpertiter auf und zeigten im kompetitiven ELISA zum Nachweis zirkulierender FCoV-Immunkomplexe ein negatives Ergebnis, was auf ein Abflauen der Infektion hindeutet (Addie et al., 1996; Gunn-Moore et al., 1998). Solche Tiere könnten für ein Tierheim ein Problem darstellen, da sie kaum als potentielle FCoV-Infektionsquellen zu erkennen sind, Virus mit dem Kot aber noch ausscheiden können, wie unser Versuch zeigt (s. Tab. 15-17).

5.11 Auswertbarkeit des Versuches

Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung erwiesen sich als für die Zielstellung geeignet. Die Untersuchungen lieferten eindeutige Ergebnisse. Für den Fall von nicht signifikanten Tendenzen war eine Wiederholung des Versuches unter gleichen Bedingungen unmittelbar im Anschluß vorgesehen (2. Versuchsdurchlauf); dies erfolgte aufgrund der eindeutigen Ergebnisse aber nicht.

Um der Fragestellung gerecht zu werden, kamen nur natürlich infizierte Katzen aus Tierheimen als Infektionsquelle in Betracht. Eine Sektion der überlebenden Tierheimkatzen am Ende des Versuchs erfolgte gemäß der Tierversuchsgenehmigung nicht, da diese Tiere an neue Besitzer weitervermittelt wurden.

5.12 Beurteilung der Wirksamkeit des FIP-Impfstoffes

Im Rahmen dieses Versuchs erwies sich der eingesetzte FIP-Impfstoff (Primucell®FIP) als nicht protektiv. Die hohe Inzidenz der FIP war überraschend. Bei ähnlich aufgebauten Versuchen (Hoskins et al., 1994) wurde durch die Vakzination mit Primucell®FIP ein Schutz von 50 % erreicht und die Vakzine mit "Gut" bewertet. Fehr et al. (1995) konnten in Felduntersuchungen einen gerade noch signifikanten Impfschutz nachweisen.

Die Vakzine Primucell®FIP beinhaltet nur einen FIPV-Stamm. (ts-FIPV isoliert aus Norden DF 2 wild-type FIPV [Gerber et al., 1990]). Möglich ist, daß unter Feldbedingungen, so wie eventuell auch in diesem Versuch, eine viel höhere Infektionsdosis die Belastungsinfektion

darstellt, als von den Impfstoffherstellern bei der Belastungsinfektion damals verwendet wurde. Scott et al. (1992, 1995) stellten fest, daß der Schutz vor experimentellen Infektionen entscheidend vom Virusstamm und der Virusdosis abhängig ist. Außerdem ist möglich, daß mehrere FIPV-Stämme mit unterschiedlichen virulenten und antigenen Eigenschaften durch die Tierheimkatzen aus den verschiedenen Tierheimen in den Versuch eingebracht wurden. Es ist wahrscheinlich, daß in dieser Studie die Belastungsinfektion nicht durch den gleichen FIPV-Stamm verursacht wurde, wie bei den Wirksamkeitsprüfungen damals von SmithKline Beecham. Dieser Sachverhalt ist aber auch notwendig, um einen Schutz unter Feldbedingungen beweisen zu können.

Die Wirksamkeit der Vakzine soll gewährleistet werden über eine starke Immunantwort in der Nasen-Rachen-Mukosa, vorrangig über eine zellvermittelte Immunität und nicht über eine humorale Immunität und durch die Verhinderung der systemischen Ausbreitung des Virus (Christianson et al., 1989; Gerber et al., 1989; Gerber et al., 1991). Der Aspekt der zellulären Immunität neben der humoralen Immunität ist interessant, wenn man von der These (Pedersen und Boyle, 1980; Walter und Rudolph, 1989; McReynolds und Macy, 1997) ausgeht, daß Katzen mit einer ausgeprägten humoralen und zellulären Immunität keine FIP entwickeln und Katzen mit partieller zellulärer bzw. ohne zelluläre Immunität neben der vorhandenen humoralen Immunität eine trockene bzw. effusive FIP entwickeln.

Letztendlich muß man davon ausgehen, daß die Impfung je nach Situation nicht geeignet ist, um potentiell empfängliche Tiere in einer gemischtaltrigen Mehrfachhaltung, wie sie in Tierheimen immer wieder vorkommt, bei hohem Infektionsdruck vor der FIP zu schützen.

Da zwischen der Impf- und der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied bezüglich der FIP-Erkrankungen im Versuch auftrat, kann man also auch bei ungünstigen Bedingungen davon ausgehen, daß sich die Vakzine Primucell®FIP nicht nachteilig auf die immunologischen Prozesse der Katzen auswirkt. Dieses Ergebnis unterstützt also ebenfalls nicht die von experimentellen Infektion abgeleitete These, daß geimpfte Katzen sensibilisierte Katzen sind, die bei Infektion mit dem FIPV sehr schnell an FIP erkranken und hochgradige klinische Symptome zeigen (ADE) (Hohdatsu et al., 1991; Olsen et al., 1992; Corapi et al., 1992, 1995; Scott et al., 1995).

Abschließend seien noch einige Konsequenzen und Empfehlungen aus den Ergebnissen und der Diskussion für Tierheime zusammengefaßt:

Aufgrund dieser Studie und der beträchtlichen Kosten, die bei der routinemäßigen konsequenten Impfung mit Primucell®FIP für ein Tierheim anfallen, ist diese Variante der Prävention in einer Situation, wie sie im Versuch vorlag, ungeeignet. Man bedenke dabei auch, daß Primucell®FIP einer der teuersten veterinärmedizinischen Impfstoffe ist. Um das Problem

der FIP in den Tierheimen anzugehen, scheinen die Empfehlungen von Addie und Jarrett (1990, 1995) sowie Pedersen et al. (1995) noch am effektivsten, die auf einem konsequenten Hygieneregime (minimale fäkale Kontamination), der Quarantäne sowie dem frühen Absetzen der Welpen (mit 4 bis 6 Wochen) basieren. Die Hauptinfektionsquelle der Felinen CoV sind die Faeces infizierter Katzen. Aufgrund des fäkal-oralen Übertragungsweges der CoV (McReynolds u. Macy, 1997) wird der Katzentoilette eine Schlüsselrolle zugeschrieben, weil hier die Möglichkeit besteht, Einfluß auf die fäkale Kontamination zu nehmen. Es wird empfohlen, eine leicht zu reinigende und gut zu desinfizierende Katzentoilette für nicht mehr als zwei Katzen weit ab des Freß- und Wasserplatzes aufzustellen. Eine Streßminimierung sollte auch im Hinblick auf andere Katzenkrankheiten angestrebt werden. Demzufolge sollte die Gruppengröße nicht mehr als 10 Tiere betragen. Das Trennen von CoV-Ak seronegativen und -positiven Tieren erscheint sinnvoll, wird aber unter Praxisbedingungen nur schwer zu realisieren sein. Insgesamt muß es das Ziel sein, alle für die FIP prädisponierenden Faktoren auszuschalten.

5.13 Abschließende Bemerkungen

Die angewandten diagnostischen Methoden im Rahmen eines Feldversuches wurden ausgeschöpft. Kürzere Untersuchungsintervalle wären wissenschaftlich interessant gewesen, hätten sich aber mit den Kriterien eines Feldversuches bzw. den Bedingungen eines Tierheimes, dem Protokoll sowie der Tierversuchsgenehmigung nicht vereinbaren lassen. Bezüglich der Infektionsquelle, des Impfregimes, des Stresses und der Betreuung der Tiere lassen sich realitätsnähere Bedingungen zu einem Tierheim kaum schaffen.

Dies ergibt, dass die FIP-Inzidenz direkt abhängig sein muß von der FECV/FIPV-Mutationsrate, die wiederum beeinflusst wird von der FECV-Replikationsrate, der erworbenen/angeborenen Resistenz der Einzelkatze gegenüber den FIPV-Mutanten und der Mutationsrate des jeweiligen FECV-Stammes (Vennema et al., 1998).

Um eine Population vor der FIP zu schützen, muß man auch eine Elimination des FECV erreichen, das heißt, dass man die chronischen FCoV-Ausscheider erfassen und eliminieren muß (Foley et al., 1997a). Das sollte ein wichtiger praktischer Ansatzpunkt für Tierheime und andere Mehrfachhaltungen sein, der sicherlich nur über ein generelles CoV-Screening zu erreichen ist.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirksamkeit einer Vakzine (Primucell®FIP) im Tierversuch unter den Bedingungen eines Tierheimes zu untersuchen.

Zehn Tierheimkatzen, die mit Hilfe des kompetitiven ELISA zum Nachweis löslicher FIPV-spezifischer Immunkomplexe in Seren und Exsudaten als Virusträger ohne klinische FIP identifiziert wurden, wurden mit 20 geimpften und 20 ungeimpften SPF-Katzen zusammengesetzt.

Im Versuchszeitraum erkrankte der überwiegende Teil der SPF-Tiere an FIP. Ein SPF-Tier überlebte eine vermutliche FIPV-Infektion mit klinischer Manifestation. Sie genas nach abgeklungener Symptomatik vollkommen und blieb klinisch unauffällig. Die Sektion am Versuchsende ergab keine FIP-spezifischen Befunde.

Sieben SPF-Tiere (17,5 %) zeigten während des gesamten Versuchszeitraumes keinerlei Symptome irgendeiner Erkrankung. Keines dieser am Ende des Versuchs euthanasierten SPF-Tiere wies eine FIP auf.

Der klinische Status der meisten Tierheimkatzen, die in den Versuch gelangten, blieb unverändert. Eines der Tiere entwickelte allerdings eine klinisch manifeste Coronavirus-Enteritis, an der es verstarb.

Im Verlauf des Versuches erkrankten und starben (bzw. wurden im Finalstadium der Erkrankung euthanasiert) 23 Tiere (45%) an FIP.

10 Tiere stammten aus der Kontrollgruppe,
12 Tiere aus der Primucell®-Impfgruppe,
und ein Tier aus der Tierheimgruppe.

Bezüglich der Anzahl der an FIP erkrankten Tiere ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,53$) zwischen der SPF-Primucell®-Impfgruppe und der SPF-Kontrollgruppe. Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Geschlechtsverteilung der an FIP erkrankten Tiere.

Im Versuch ergab sich eine geschützte Fraktion (preventable fraction) von -20 %, also kein Schutz durch die Impfung.

Die FIP präsentierte sich überwiegend in der feuchten (65%), aber auch in der trockenen Form. Die effusive Form lag in den meisten Fällen in klassischer Ausprägung vor. Der Krankheitsverlauf war i.a. fulminant bei kurzer Krankheitsdauer. Erstes wahrnehmbares Symptom war stets die Aszitesbildung, die rasant voranschritt.

Bei den Fällen der trockenen Form der FIP waren die Symptome überwiegend unspezifischer Natur. Die trockene Form wurde während des gesamten Versuchszeitraums beobachtet. Ein Tier entwickelte eine ausschließlich zentralnervöse klinische Symptomatik.

Durch symptomatische Therapie war eine Beeinflussung der Krankheitsdauer und des Krankheitsverlaufes nicht feststellbar.

Über 80% der Tiere, die an FIP erkrankt waren, hatten zeitgleich oder kurz davor eine Katzenschnupfenproblematik, während dies bei den nicht an FIP erkrankten Katzen nur für 44 % zutraf.

Alle Tiere zeigten im Laufe des Versuchs eine Serokonversion. Die Vakzine Primucell® FIP induzierte CoV-Antikörpertiter von 1:50 bis 1:800. Nach einsetzendem Infektionsdruck stiegen die CoV-Antikörpertiter bei einzelnen Tieren bis auf > 3200, sowohl bei den Impf- als auch bei den Kontrolltieren. Nicht alle Tiere, die hohe CoV-Antikörpertiter aufwiesen oder im ELISA positiv reagierten, erkrankten auch an FIP.

Katzen, die im kompetitiven ELISA zum Nachweis von löslichen Immunkomplexen in Seren und Exsudaten positiv reagieren, auch wenn sie keine klinische Symptomatik aufweisen, müssen als potentielle Infektionsquelle für empfängliche Tiere betrachtet werden. Die CoV-Antikörpertiter erlauben keine Aussage darüber, ob eine Katze eine FIP entwickeln wird und sind deshalb zur Prognose eines Infektionsverlaufs ungeeignet.

Am Versuchsende wurde bei fast allen Tieren (20 von 23), die den Versuch überlebten, mittels RT-PCR eine Monozyten-assoziierte FCoV-Virämie nachgewiesen.

7. Summary

The study aimed at the evaluation of the efficacy of the Primucell[®]FIP vaccine in an animal experiment. The experiment was set up under conditions simulating those of an animal shelter. The natural source of FIPV was represented by a group of 10 clinically healthy cats from animal shelters which were tested positive for circulating FCoV immune complexes by means of a competitive ELISA.

During the experiment, most of the 40 SPF cats developed FIP. One SPF cat survived a presumed FIPV infection with clinical manifestation and remained clinically healthy after the symptoms had resolved. Necropsy at the end of the experiment did not reveal any FIP-specific lesions.

During the experiment, seven SPF cats (17.5%) did not show any clinical symptoms. None of these animals who all were necropsied at the end of the experiment, exhibited FIP.

The clinical status of most cats originating from animal shelters, remained unaltered throughout the experiment. One of these cats, however, developed and died of coronavirus enteritis.

Twenty-three cats (45%) died of or were euthanatized in the final stage of FIP during the experiment. Ten of these animals were control SPF cats, 12 animals were Primucell[®]FIP vaccinated SPF cats, and one animal was originating from an animal shelter.

Concerning the number of cats developing FIP, there was neither a significant difference between Primucell[®]-vaccinated and control SPF cats ($p=0.53$) nor with regards to the sex distribution. The experiment yielded a protected/preventable fraction of -20%, that is to say, no protection by Primucell[®]FIP vaccination occurred.

Pathologically, FIP was mainly represented by the effusive form (65%) which mostly appeared in the classical form. The clinical course was often fulminant with short duration of disease. In general, ascites represented the first symptom and showed fast progression.

With the dry form of FIP which occurred throughout the whole experiment, symptoms were mainly non-specific. In one animal, clinical signs were restricted to CNS symptoms.

Neither duration nor the course of disease were affected by symptomatic therapy.

At the same time as the clinical signs of FIP or prior to their development, more than 80% of the animals had clinical signs of upper respiratory disease, where as only 44 % of the FIP-negative cats developed such symptoms.

During the experiment, all SPF cats showed seroconversion. The vaccine Primucell[®]FIP induced CoV antibody titres of 1:50 up to 1:800. With the onset of infectious pressure, CoV antibody titres rised to >3200 in some animals. Animals who developed high CoV antibody

titres or showed a positive result in the competitive ELISA for circulating FCoV immune complexes did not necessarily develop FIP.

Regardless of the presence of clinical symptoms, cats with a positive result in the competitive ELISA for circulating FCoV immune complexes in sera or exudates have to be regarded as potential source of FCoV infection for susceptible animals. CoV antibody titres do not allow a prognosis concerning the development of FIP.

At the end of the experiment, monocyte-associated FCoV viraemia was identified by RT-PCR in nearly all animals who had survived (20 of 23).

8. Literaturverzeichnis

- Addie, D. D., O. Jarrett (1990)
Control of feline coronavirus infection in kitten
Vet. Rec. 126, 164
- Addie, D. D., O. Jarrett (1992)
Feline coronavirus antibodies in cats
Vet. Rec. 131, 202-203
- Addie, D. D., O. Jarrett (1994)
Die Epidemiologie der Felinen Infektiösen Peritonitis
Proceedings des Symposiums "Neue Perspektiven zur Bekämpfung der Felinen Infektiösen Peritonitis", Berlin, Dezember 1994, 13-16
- Addie, D. D., O. Jarrett (1995)
Control of feline coronavirus infections in breeding catteries by serotesting, isolation, and early weaning
Feline Pract. 23, 92-95
- Addie, D. D., O. Jarrett (1998)
Feline Coronavirus Infection
In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 2nd Ed., Greene, C.E. (Ed.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 58-69
- Addie, D. D., S. Toth, G. D. Murray, O. Jarrett (1995a)
The risk of typical and antibody enhanced feline infectious peritonitis among cats from feline coronavirus endemic households
Feline Pract. 23, 24-26
- Addie, D. D., S. Toth, G. D. Murray, O. Jarrett (1995b)
Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline coronavirus
Amer. J. Vet. Res. 56, 429-434
- Addie, D. D., S. Toth, A. A. P. M. Herrewegh, O. Jarrett (1996)
Feline coronavirus in the intestinal contents of cats with feline infectious peritonitis
Vet. Rec. 139, 522-523
- Addie, D. D., J. M. Dennis, S. Toth, J. J. Callanan, S. Reid, O. Jarrett (2000)
Long-term impact on a closed household of pet cat of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus
Vet. Rec. 146, 419-424
- August, J. R. (1984)
Feline infectious peritonitis: An immune-mediated coronaviral vasculitis
Vet. Clin. North Am. 14, 971

- Bae, I., D. J. Jackwood, D. A. Benfield, L.J. Saif, R. D. Wesley, H. Hill (1991)
Differentiation of transmissible gastroenteric virus from porcine respiratory coronavirus and other antigenically related coronaviruses by using cDNA probes specific for the 5'-region of the s-glycoprotein gene
J. Clin. Microbiol. 29, 215-218
- Baldwin, C. A. (1986)
Immunization studies against feline infectious peritonitis
Diss. Abstr. Int. B 47, 2791
- Baldwin, C. W., F. W. Scott (1997)
Attempted immunization of cats with feline infectious peritonitis virus propagated at reduced temperatures
Am. J. Vet. Res. 58, 251-256
- Barlough, J. E., J. C. Adsit, F. W. Scott (1982)
The worldwide occurrence of feline infectious peritonitis
Feline Pract. 12, 26-30
- Barlough, J. E., R. C. Weiss (1983)
Feline infectious peritonitis
In: Kirk, R. W. (ed.): Current Vet. Therapy VIII, Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1186-1193
- Barlough, J. E., R. H. Jacobsen, R. C. Weiss (1983a)
Feline coronaviral serology
Feline Pract. 13, 25-35
- Barlough J. E., C. A. Stoddart, G. P. Sorresso, R. H. Jacobsen, F. W. Scott (1983b)
Experimental inoculation of cats with canine coronavirus and subsequent challenge with feline infectious peritonitis virus
Ann. Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago, November 1983, 44, 64
- Barlough, J. E. (1984)
Experimental studies with four coronaviruses in cats (ELISA)
Diss. Abstr. Int. B 45, 2042
- Barlough J. E., R. H. Jacobsen, C. E. Pepper, F. W. Scott (1984)
Role of recent vaccination in production of false-positive coronavirus antibody titers in cats
J. Clin. Microbiol. 19, 442-445
- Barlough, J. E. (1985)
Cats, coronaviruses and coronavirus antibody tests
J. Small Anim. Pract. 26, 353-362

-
- Barlough, J. E., C. M. Johnson-Lussenburg, C. A. Stoddart, R. H. Jacobson, F. W. Scott (1985)
Experimental inoculation of cats with human coronavirus 229E and subsequent challenge with feline infectious peritonitis virus
Can. J. Comp. Med. 49, 303-307
- Barlough, J. E., C. A. Stoddart (1990)
Feline coronaviral infections
Greene CE (ed): Infectious disease of the dog and cat, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 300-312
- Barlough, J. E., B. L. Shacklett (1994)
Antiviral studies of feline infectious peritonitis virus in-vitro
Vet. Rec. 135, 177-179
- Bilkei, G. (1988)
Beitrag zur Therapie der FIP
Tierärztl. Umschau 43, 192-196
- Black, J. W. (1980)
Recovery and in vitro cultivation of a coronavirus from laboratory-induced cases of feline infectious peritonitis (FIP)
Vet. Med. Small Anim. Clin. 75, 811-814
- Bölskei, A., G. Bilkei (1995a)
Langzeitstudie über behandelte FIP-verdächtige Katzen, 1. Mitteilung: Überlebensrate der FIP-verdächtigen Katzen nach Behandlung mit Ampicillin, Prednisolon und Cyclophosphamid
Tierärztl. Umschau 50, 590-594
- Bölskei, A., G. Bilkei (1995b)
Langzeitstudie über behandelte FIP-verdächtige Katzen, 2. Mitteilung: Die Auswirkungen verschiedener Therapieversuche auf das Überleben FIP-verdächtiger Katzen
Tierärztl. Umschau 50, 721-728
- Bölskei, A., G. Bilkei, O. Biro u. Takács (1995)
Retrospektive FIP-Studie, III. Mitteilung: Bericht über die Wirksamkeit der Vakzine Primucell FIP unter Praxisbedingungen und über die Akzeptanz dieser Impfung bei den Katzenhaltern
Tierärztl. Umschau 50, 851-853
- Bonaduce, A. (1942)
Sulla pleurite infettiva de gatto
Nuova Vet. 21, 32-36
- Cammarata Parodi, M., G. Cammarata, S. Paltrinieri, A. Lavazza, F. Ape (1993)
Using direct immunofluorescence to detect coronaviruses in peritoneal and pleural effusions
J. Small Anim. Pract. 34, 609-613

-
- Cavanagh, D., D. A. Brian, L. Enjuanes, K. V. Holmes, M. M. C. Lai, H. Laude, S. G. Siddell, W. Spaan, F. Taguchi, P. J. Talbot (1990)
Recommendations of the coronavirus study group for the nomenclature of the structural proteins mRNA, and genes of coronaviruses
Virology 176, 306-307
- Christianson, K. K., J. D. Ingersoll, R. M. Landon; N. E. Pfeiffer, J. D. Gerber (1989)
Characterization of a temperature sensitive feline infectious peritonitis coronavirus.
Arch. Virol. 109, 185-196
- Colly, L. P. (1973)
Feline infectious peritonitis
Vet. Clin. 13, 34
- Corapi, W. V., Olsen, C. W., Scott, F. W. (1992)
Monoclonal antibody analysis of neutralization and antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus
J. Virol. 11, 6695-6705
- Corapi W. V., Darteil R. J., Audonnet J. C., Chappuis G. E. (1995)
Localization of antigenic sites of the S glycoprotein of feline infectious peritonitis virus involved in neutralization and antibody-dependent enhancement
J Virol 69, 2858-2862
- Cotter, S. M., C. E. Gilmore, C. Rolins (1973)
Multiple cases of feline leukemia and feline infectious peritonitis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 166, 1054-1058
- De Groot, R. J., J. Maduro, J. A. Lenstra, M. C. Horzinek, B. A. M. van der Zeijst, W. J. M. Spaan (1987)
cDNA-cloning and sequence analysis of the gene encoding the peplomer protein of feline infectious peritonitis virus
J. Gen. Virol. 68, 2639-2646
- Dea, S., R. S. Roy, M. A. S. Y. Elazhary (1982)
Corona-like particles in the feces of cat with diarrhea
Can. Vet. J. 23, 153-155
- Doherty, M. J. (1971)
Ocular manifestation of feline infectious peritonitis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 159, 417-424
- Escobar, J. C., S. A. Kochik, E. Skaletsky, J. S. Rosenberg, T. R. Beardsley (1992)
Immunization of cats against feline infectious peritonitis with anti-idiotypic antibodies
Viral Immunol. 5, 71-79
- Essex, M., S. M. Cotter, Jr. W. D. Hardy, P. Hess, W. Jarrett, O. Jarrett, L. Mackey (1975)
Feline oncornavirus-associated cell membrane antigen. IV. antibody titers in cats with naturally occurring leukemia, lymphoma, and other disease
J. Natl. Cancer Inst. 55, 463-467

-
- Evermann, J. F., L. Baumgartener, R. L. Ott, E. V. Davis, A. J. McKeirnan (1981)
Characterization of a feline infectious peritonitis virus isolate
Vet. Path. 18, 256-265
- Evermann, J. F., J. L. Heeney, M. E. Roelke, A. J. McKeirnan, S. J. O'Brien (1988)
Biological and pathological consequences of feline infectious peritonitis infection in
the cheetah
Arch. Virol. 102, 155-171
- Evermann, J. F., A. J. McKeirnan, R. L. Ott (1991)
Perspectives on the epizootiology of feline enteritic coronavirus and the
pathogenesis of feline infectious peritonitis
Vet. Microbiol. 28, 243-255
- Fankhauser, R., R. Fatzer (1977)
Meningitis und Chorioependymitis granulomatosa der Katze; mögliche Beziehung
zur feline infektiösen Peritonitis (FIP)
Kleintierpraxis 22, 19-22
- Fanton, R. W. (1991)
Field safety studies of an intranasal FIPV vaccine
Proceedings of the symposium: New perspectives on prevention of feline infectious
peritonitis, Orlando, Florida, 47-50
- Fatzer, R. (1975)
Leukodystrophische Erkrankungen im Gehirn junger Katzen
Schweiz. Arch. Tierheilk. 117, 641-648
- Fehr, D., E. Holznagel, S. Bolla, B. Hauser, A. A. P. M. Herrewegh, M. C. Horzinek, H. Lutz
(1995)
Evaluation of the safety and efficacy of a modified live FIPV vaccine under field
conditions
Feline Pract. 23, 83-88
- Fehr, D., S. Bolla, A. A. P. M. Herrewegh, M. C. Horzinek, H. Lutz (1996)
Nachweis feliner Coronaviren mittels RT-PCR: Grundlage zum Studium der
Pathogenese der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP)
Schweiz. Arch. Tierheilk. 138, 74-79
- Fehr, D., E. Holznagel, S. Bolla, B. Hauser, A. A. P. M. Herrewegh, M. C. Horzinek, H. Lutz
(1997)
Placebo-controlled evaluation of a modified live virus vaccine against feline infectious
peritonitis: Safety and efficacy under field conditions
Vaccine 15, 1101-1109
- Feldmann, B. M., B. S. Jortner (1964)
Clinico-pathologic conference
J. Am. Vet. Med. Assoc. 144, 1409-1420

- Fiscus, S. A., Y. A. Teramoto, M. M. Mildbrand, C. V. Knisley, S. E. Winston, N. C. Pedersen (1985)
Competitive enzyme immunoassays for the rapid detection of antibodies to feline infectious peritonitis virus polypeptides
J. Clin. Microbiol. 22, 395-401
- Foley, J. E., A. Poland, J. Carlson, N. C. Pedersen (1997a)
Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus
J. Am. Vet. Med. Assoc. 210, 1313-1318
- Foley, J. E., A. Poland, J. Carlson, N. C. Pedersen (1997b)
Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments
J. Am. Vet. Med. Assoc. 210, 1307-1312
- Ford, R. B. (1982)
New information on epidemiology of feline infectious peritonitis
Norden News 57, 6
- Fransen, D. R. (1972)
Feline infectious peritonitis in an infant jaguar
Proc. Ann. Meet. Am. Assoc. Zoo Vet. 261-264
- Frost, J. W., W. Lohrbach (1987)
Der Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) mittels Indirektem Immunfluoreszenztest
Tierärztl. Praxis 15, 301-304
- Gamble, D. A., A. Lobbiani, M. Gramegna, L. E. Moore, G. Colucci (1997)
Development of a nested PCR assay for detection of feline infectious peritonitis virus in clinical specimens
J. Clin. Microbiol. 35, 673-675
- Gelatt, K. N. (1973)
Iridocyclitis-panophthalmitis associated with feline infectious peritonitis
Vet. Med. Small Anim. Clin. 68, 56-57
- Gerber, J. D., J. D. Ingersoll, K. K. Christianson, R. M. Landon, N. L. Selzer, U. E. Pfeiffer (1989)
Protection of cats against feline infectious peritonitis (FIP) by intranasal administration of an FIP virus vaccine
Immunobiology Suppl. 4, 116
- Gerber, J. D., J. D. Ingersoll, A. M. Gast, K. K. Christianson, N. L. Selzer, R. M. Landon; N. E. Pfeiffer, R. L. Sharpee, W. H. Beckenhauer (1990)
Protection against feline infectious peritonitis by intranasal inoculation of a temperature-sensitive FIPV vaccine
Vaccine 8, 536-542

-
- Gerber, J. D., K. K. Christianson, A. M. Gast, N. E. Pfeiffer (1991)
Lokale IgA und zellvermittelte Immunreaktion in Verbindung mit dem Schutz von Katzen, die intranasal mit einem temperatursensitiven Impfstoff gegen die Feline Infektiöse Peritonitis immunisiert wurden
Proceedings (XVI. Weltkongress in Wien), 07-Immunology, 210-212
- Gerber, J. (1994)
Immunantworten auf Infektionen mit dem feline infektiösen Peritonitis Virus und auf einen feline infektiösen Peritonitis Impfstoff
Proceedings Symposium: Neue Perspektiven zur Bekämpfung der Feline Infektiösen Peritonitis; Berlin
- Gerber, J. D. (1995)
Overview of the development of a modified live temperature-sensitive FIP virus vaccine
Feline Pract. 23, 62-66
- Gerbig, T., W. Kraft (1979)
Zur Klinik der Feline Infektiöse Peritonitis
Kleintierpraxis 24, 5-8
- Gierend, M., B. Heppner (1983)
Diagnostische Untersuchungen bei der Feline Infektiösen Peritonitis
Kleintierpraxis 28, 103-104, 106
- Goldhorn, W. (1987)
Das Tierheim - ein Tierschutzproblem?
Prakt. Tierarzt 9, 23-27
- Grahn, B. J. (1991)
The feline coronavirus infections - feline infectious peritonitis and feline coronavirus enteritis
Vet. Med. 86, 376-393
- Griffiths, G., P. Rottier (1992)
Cell biology of viruses that assemble along the biosynthetic pathway
Semin. Cell. Biol. 3, 367-381
- Gunn-Moore, D. A. (1997a)
PCR-based diagnosis of feline infectious peritonitis
Vet. Rec. 26, 464
- Gunn-Moore, D. A. (1997b)
Molecular characterisation of feline coronavirus infection
PhD-Thesis, Bristol, UK
- Gunn-Moore, D. A., T. J. Gruffydd-Jones, D. A. Harbour (1998)
Detection of FCoV by culture and RT-PCR of blood samples from healthy cats and cats with clinical FIP
Vet. Microbiol. 62, 193-205

-
- Gunn-Moore, D. A., F. J. Gunn-Moore, T. J. Gruffydd-Jones, D. A. Harbour (1999)
Detection of FCoV quasispecies using denaturing gradient gel electrophoresis
Vet. Microbiol. 69, 127-130
- Haagmans, B. L., H. Egberink, V. E. C. J. Schijns, M. C. Horzinek (1996)
Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis
J. Virol. 70, 789-793
- Hardy, W. D., A. I. Hurvitz (1971)
Feline infectious peritonitis: experimental studies
J. Am. Vet. Med. Assoc. 158, 994-1002
- Harpold, L. M., Legendre, A. M., Kennedy, M. A., Plummer, P. J., Millsaps, K., Rohrbach, B. (1999)
Fecal shedding of feline coronavirus in adult cats and kittens in an Abyssinian cattery
J. Am. Vet. Med. Assoc. 215: 948-951
- Hasegawa, T., A. Hasegawa (1991)
Interleukin 1 alpha mRNA-expressing cells on the local inflammatory response in feline infectious peritonitis
J. Vet. Med. Sci. 53, 995-999
- Hawkins, E. C. (1991)
Feline infectious peritonitis: update
Proc 9th ACVIM Forum, New Orleans, 133-135
- Hayashi, T., F. Utsumi, R. Takahashi, K. Fujiwara (1980)
Pathology of non-effusive type of feline infectious peritonitis and experimental transmission
Jpn. J. Vet. Sci. 42, 197-210
- Hayashi, T., Y. Watabe, H. Nakayama, K. Fujiwara (1982)
Enteritis due to feline infectious peritonitis virus
Jpn. J. Vet. Sci. 44, 97-106
- Hayashi, T., K. Doi, K. Fujiwara (1983)
Role of circulating antibodies and thymus-dependent lymphocytes in production of effusive type feline infectious peritonitis after oral infection
Adv. Exp. Med. Biol., 173, 383-384
- Herrewegh, A. A. P. M., H. F. Egberink, M. C. Horzinek, P. J. M. Rottier, R. J. de Groot (1995a)
Polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis of naturally occurring feline coronavirus infections
Feline Pract. 23, 56-59

- Herrewegh, A. A. P. M., R. J. de Groot, A. Cepica, H. F. Egberink, M. C. Horzinek, P. J. M. Rottier (1995b)
Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body-fluids of naturally infected cats by reverse-transcriptase PCR
J. Clin. Microbiol. 33, 684-689
- Herrewegh, A. A. P. M., Vennema, H., Horzinek, M. C., Rottier, P. J. M., Degroot, R. J. (1995c)
The molecular-genetics of feline coronaviruses - comparative sequence-analysis of the Orf7a/7b transcription unit of different biotypes
Virology 212, 622-631
- Herrewegh, A. A. P. M., M. Mähler, H. J. Hedrich, B. L. Haagmans, H. F. Egberink, M. C. Horzinek, P. J. M. Rottier, R. J. de Groot (1997)
Persistence and evolution of feline coronavirus in a closed cat-breeding colony
Virology 234, 349-363
- Herrewegh, A. A. P. M., Smeenk, I., Horzinek, M. C., Rottier, P. J. M., Degroot, R. J. (1998)
Feline Coronavirus Type-II Strain-79-1683 and Strain-79-1146 Originate from a Double Recombination Between Feline Coronavirus Type-I and Canine Coronavirus
J. Virol. 72, 4508-4514
- Hickman, M. A., J. G. Morris, Q. R. Rogers (1995)
Elimination of feline coronavirus infection from a large experimental specific pathogen-free cat breeding colony by serologic testing and isolation
Feline Pract. 23, 96
- Hirschberger, J., K. Hartmann, N. Wilhelm, J. Frost, H. Lutz, W. Kraft (1995)
Klinik und Diagnostik der Felinen Infektiösen Peritonitis
Tierärztl. Prax. 23, 92-99
- Hohdatsu, T., Nakamura, M., Ishizuka, Y., Yamada, H., Koyama, H. (1991)
A study on the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline macrophages by monoclonal antibodies
Arch. Virol. 117, 85-89
- Hohdatsu, T., S. Okada, Y. Ishizuka, H. Yamada, H. Koyama (1992)
The prevalence of types I and II feline coronavirus infection in cats
J. Vet. Med. Sci. 54, 557-562
- Hök, K. (1990)
Demonstration of feline coronavirus (FCV) antigen in organs of cats suspected of feline infectious peritonitis (FIP) disease
Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 98, 659-664
- Hök, K. (1991)
A comparison between immunofluorescence staining on smears from Membrana nictitans (M3 test), immunohistopathology and routine pathology in cats with suspected feline infectious peritonitis (FIP)
Acta Vet. Scand. 32, 171-176

- Hök, K. (1993a)
Morbidity, mortality and coronavirus antigen in previously coronavirus free kittens placed in two catteries with feline infectious peritonitis
Acta Vet. Scand. 34, 203-210
- Hök, K. (1993b)
Development of clinical signs and occurrence of feline coronavirus antigen in naturally infected barrier reared cats and their offspring
Acta Vet. Scand. 34, 345-356
- Holmes, K. V., M. M. C. Lai (1996)
Coronaviridae: The viruses and their replication
Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1075-1090
- Holzworth, J. (1963)
Some important disorders of cats.
Cornell Vet. 53, 157-160
- Horchler-Jahn, H., M. Seidel (1993)
Zwei seltene Fälle von Ascites abdominalis bei Katze und Hund
Kleintierpraxis 38, 103-110
- Horzinek, M. C., A. D. M. E. Osterhaus, D. J. Ellens (1977)
Feline infectious peritonitis virus
Zbl. Vet. Med. B. 24, 398-405
- Horzinek, M. C., A. D. M. E. Osterhaus (1979a)
Feline infectious peritonitis: A worldwide serosurvey
Am. J. Vet. Res. 40, 1487-1492
- Horzinek, M. C., A. D. M. E. Osterhaus (1979b)
The virology and pathogenesis of feline infectious peritonitis. Brief review
Arch. Virol. 59, 1-15
- Horzinek, M. C., J. Ederveen, H. Egbering, H. E. L. Jacobse-Geels, T. Niewold, J. Prins (1986)
Virion polypeptide specificity of immune complexes and antibodies in cats inoculated with feline infectious peritonitis virus
Am. J. Vet. Res. 47, 754-761
- Horzinek, M. C., A. Herrewegh, R. J. de Groot (1995)
Perspectives on feline coronavirus evolution
Feline Pract. 23, 34-39
- Hoshino, Y., F. W. Scott (1978)
Brief communication: Replication of feline infectious peritonitis virus in organ cultures of feline tissue
Cornell Vet 68, 411-417

- Hoshino, Y., F. W. Scott (1980)
Coronavirus-like particles in the feces of normal cats
Arch. Virol. 63, 147
- Hoskins, J. D. (1991)
Coronavirus infection in cats
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 13, 567-585
- Hoskins, J. D., H. W. Taylor, T. L. Lomax (1994)
Challenge trial of an intranasal feline infectious peritonitis vaccine
Feline Pract. 22, 9-13
- Hoskins, J. D., W. G. Henk, J. Storz, M. T. Kearney (1995a)
The potential use of a modified live FIPV vaccine to prevent experimental FECV infection
Feline Pract. 23, 89-90
- Hoskins, J. D., H. W. Taylor, T. L. Lomax (1995b)
Independent evaluation of a modified live feline infectious peritonitis virus vaccine under experimental conditions (Louisiana experience)
Feline Pract. 23, 72-73
- Jacobse-Geels H. E. L., M. R. Daha, M. C. Horzinek (1980)
Isolation and characterization of feline C₃ and evidence for the immune complex pathogenesis of feline infectious peritonitis
J. Immunol. 125, 1606-1610
- Jacobse-Geels H. E. L., M. R. Daha, M. C. Horzinek (1982)
Antibody, immune complexes and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis
Am. J. Vet. Res. 43, 666-670
- Jones, V. E., E. Orlans (1981)
Isolation of immune complexes and characterisation of their constituent antigens and antibodies in some human diseases: a review
J. Immunol. Methods 44, 249-70
- Kaas, P. H., T. H. Dent (1995)
The epidemiology of feline infectious peritonitis in catteries
Feline Pract. 23, 27-32
- Kai, K., Y. Kaneda, N. Goto, M. Kanoe (1987)
Isolation and characterization of a new and higher titer strain of feline infectious peritonitis virus
Jpn. J. Vet. Sci. 49, 1105-1111
- Kai, K., M. Yukimune, T. Murata, Y. Uzuka, M. Kanoe, H. Matsumoto (1992)
Humoral immune response of cats to feline infectious peritonitis virus infection
J. Vet. Med. Sci. 54, 501-507

- Kai, K., Y. Akagi, T. Soma, K. Nomura, M. Kanoe (1995)
Biphasic immune responses of cats under controlled infection with feline enteric coronavirus 79-1683 strain
J. Vet. Med. Sci. 57, 781-783
- Kellner, S. J., B. Litschi (1989)
Augenveränderung bei der Felinen Infektiösen Peritonitis
Kleintierpraxis 34, 261-266
- Kennedy, M. A., K. Brennehan, R. K. Millsaps, J. Black, L. N. D. Potgieter (1998)
Correlation of genomic detection of feline coronavirus with various diagnostic assays for feline infectious peritonitis
J. Vet. Diagn. Invest. 10, 93-97
- Kersten, U. (1985)
Ergüsse in Körperhöhlen, Diagnose und Differentialdiagnose
Effem-Report 21, 1-7
- Kipar, A., J. Kremendahl, D. D. Addie, W. Leukert, C. K. Grant, M. Reinacher (1998)
Fatal enteritis associated with coronavirus infection in cats
J. Comp. Pathol. 119, 1-14
- Kipar, A., K. Koehler, S. Bellmann, M. Reinacher (1999a)
Feline infectious peritonitis presenting as a tumour in the abdominal cavity
Vet. Rec. 144, 118-122
- Kipar, A., S. Bellmann, D. A. Gunn-Moore, W. Leukert, K. Köhler, S. Menger, M. Reinacher (1999b)
Histopathological alterations of lymphatic tissues in cats without feline infectious peritonitis after long-term exposure to FIP virus
Vet. Microbiol. 69, 131-137
- Kitchen, L. W. (1988)
Effect of diethylcarbazine on serum antibodies to feline infectious peritonitis in cats
Vaccine 6, 10-11
- Klumperman, J., J. K. Locker, A. Meijer, M. C. Horzinek, H. J. Geuze, J. M. Rottier (1994)
Coronavirus M-protein accumulate in the golgi complex beyond the site of virion budding
J. Virol. 68, 6523-6534
- Kölbl, S., W. Schuller (1988)
Zur Diagnostik von viralen Erkrankungen bei der Katze
Wiener Tierärztl. Mschr. 75, 64-67
- Kolb, E. (1982)
Vom Leben und Verhalten unserer Haustiere
S. Hirzel Verlag Leipzig, 129-150

-
- Kornegay, J. N. (1978)
Feline infectious peritonitis: The central nervous system form
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 14, 580-584
- Kovacevic, S., A. Kipar, J. Kremendahl, D. Teebken-Schuler, C. G. Grant, M. Reinacher (1997)
Immunohistochemical diagnosis of feline leukemia virus infection in formalin-fixed tissue
Eur. J. Vet. Path. 3, 13-19
- Krebiel, J. D., V. L. Langer, A. Ravi (1974)
Ophthalmic lesions in feline infectious peritonitis: Gross, microscopic and ultrastructural changes
Vet. Pathol. 11, 443-444
- Kriegleder, H.u. S. Geyer (1984)
Befunde der Felinen Infektiösen Peritonitis
Tierärztl. Umschau 39, 382, 387-389
- Krum, S., K. Johnson, J. Wilson (1975)
Hydrocephalus associated with the noneffusive form of feline infectious peritonitis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 167, 746-748
- Landes, C., H. Kriegleder, K. D. Lengfelder (1984)
Todes- und Erkrankungsursachen bei Katzen anhand der Sektionsstatistik 1969-1982
Tierärztl. Praxis 12, 369-382
- Lange, H., W. Herbst, M. Noack, T. Schliesser (1987)
Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen die Infektiöse Peritonitis der Katze (FIP) mittels Immunfluoreszenz und Enzym Immuntest (ELISA)
J. Vet. Med. B. 34, 530-537
- Li, X., Scott, F.W., (1994)
Detection of feline coronaviruses in cell cultures and in fresh and fixed feline tissues using polymerase chain reaction
Vet. Microbiol. 42, 65-77
- Liebermann, H. (1992)
Lehrbuch der veterinärmedizinischen Virologie
G. Fischer Verlag Jena-Stuttgart, 130
- Loeffler, D. G., R. L. Ott, J. F. Evermann, J. E. Alexander (1978)
The incidence of natural occurring antibodies against feline infectious peritonitis in a selected cat population
Feline Pract. 8, 43-45

- Lutz, H., B. Hauser, M. C. Horzinek (1984)
Die Diagnostik der feline infektiösen Peritonitis mittels Serologie
Prakt. Tierarzt 65, 406-408
- Lutz, H., B. Hauser, M. C. Horzinek (1985)
Die Feline Infektiöse Peritonitis - Wo stehen wir heute?
Kleintierpraxis 30, 51-59
- Lutz, H., B. Hauser, M. C. Horzinek (1986)
Feline infectious peritonitis (FIP) - the present state of knowledge
J. Small Anim. Prac. 27, 108-116
- Lutz, H., R. Lehmann, G. Winkler, B. Kottwitz, A. Dittmer, C. Wolfensberger, P. Arnold (1990)
Das feline Immunschwächevirus in der Schweiz: Klinik und Epidemiologie im Vergleich mit dem Leukämie- und Coronavirus
Schw. Arch. Tierheilk. 132, 217-225
- Lutz, H. (1992)
Feline Infektiöse Peritonitis
In: Schmidt, V. u. M. C. Horzinek (Hrsg.): Krankheiten der Katze
G. Fischer Verlag, Jena-Stuttgart, 318-337
- Lutz, H., J. Huder, D. Fehr, C. Oehninger, B. Sigrist (1996)
Neue Methoden zur Diagnose der Katzensvirosen (FeLV, FIV, FIP)
Referatesammlung zur 27. Jahresversammlung der Schweizerischen Vereinigung für Kleintiermedizin 9.-11.5.1996 Interlaken /Schweiz, 51-57
- Madron, E. de (1986)
Pericarditis with cardiac tamponade secondary to feline infectious peritonitis in a cat
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 22, 65-69
- Maess, J. (1985)
Feline Infektiöse Peritonitis (FIP)
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 92, 482-483
- McArdle, F, M. Bennett, R. M. Gaskell, B. Tennant, D. F. Kelly, C. J. Gaskell (1992)
Induction and enhancement of feline infectious peritonitis by canine coronavirus
Am. J. Vet. Res 53, 1500-1506
- McArdle, F, B. Tennant, M. Bennett, D. F. Kelly, C. J. Gaskell, R. M. Gaskell (1995)
Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (university of Liverpool experience)
Feline Pract. 23, 67-71
- McKeirnan, A. J., J. F. Evermann, A. Hargis, L. M. Miller, R. L. Ott (1981)
Isolation of feline coronaviruses from cats with diverse disease manifestations
Feline Pract. 11, 16-20

- McReynolds, C., D. Macy (1997)
Feline infectious peritonitis. Part I. Etiology and diagnosis
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 19, 1007-1016
- Mertens, C. (1994)
Tiergerechte Katzenhaltung.
Tierlaboratorium 17, 89-101
- Mertens, C., R. Schär (1988)
Practical Aspects of research on cats. In: The Domestic Cat: The biology of its
behavior
ed. Turner D. C. and P. Bateson, pp. 179-190. Cambridge: Cambridge University Press
- Morris, D. (1994)
Catwatching
Ebury Press Limited, London, 78
- Möstl, K. (1983)
Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Felinen Infektiösen Peritonitis in
Katzenserum und Peritonealexsudaten
Wiener Tierärztl. Mschr. 70, 318-323
- Motokawa, K., Hohdatsu, T., Hashimoto, H., Koyama, H. (1996)
Comparison of the amino acid sequence and phylogenetic analysis of the peplomer,
integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine
coronaviruses
Microbiol. Immunol. 40, 425-433
- Neu, H., E. G. Pfeifer (1985)
FIP (Feline Infektiöse Peritonitis): Klinische Frühsymptome und vorausgegangene
Belastungen
Kleintierpraxis 30, 307-314
- Nicolaysen, P., T. Van Winkile, M. Haskuis, H. Rozimiarek (1990)
Feline coronavirus (feline infectious peritonitis) in a cat breeding colony
Lab. Animal Science 40, 543
- Olsen, C. W., F. W. Scott (1991)
Feline infectious peritonitis vaccination - past and present
Feline Health Topics for Veterinarians 6, 1-8
- Olsen C. W., Corapi W. V., Ngichabe C. K., Baines J. D., Scott F. W. (1992)
Monoclonal antibodies to the spike protein of feline infectious peritonitis virus
mediate antibody-dependent enhancement of infection of feline macrophages
J. Virol. 66, 956-965
- Olsen, C. W. (1993)
A review of feline infectious peritonitis virus: molecular biology,
immunopathogenesis, clinical aspects, and vaccination
Vet. Microbiol. 36, 1-37

- O'Reilly, K. J., B. Fishman, L. M. Hitchcock (1979)
Feline infectious peritonitis: Isolation of a coronavirus
Vet. Rec. 104, 348
- Osterhaus, A. D. M. E., M. C. Horzinek, D. J. Ellens (1976)
Untersuchungen zur Ätiologie der Felinen Infektiösen Peritonitis, Vorläufige
Mitteilung
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 89, 135-137
- Osterhaus, A. D. M. E., M. C. Horzinek, D.J. Reynolds (1977)
Seroepidemiology of feline infectious peritonitis using transmissible gastroenteritis
virus as antigen
Zbl. Vet. Med. B 24, 835-841
- Osterhaus, A. (1979)
Feline Infektiöse Peritonitis
Kleintierpraxis 24, 115-120
- Panzero, R. A. (1992)
An outbreak of feline infectious peritonitis in a colony of cornish rex cats
Feline Pract. 20, 7-8
- Pedersen, N. C. (1976a)
Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis
Am. J. Vet. Res. 37, 1449-1453
- Pedersen, N. C. (1976b)
Morphologic and physical characteristics of feline infectious peritonitis virus and its
growth in autochthonous peritoneal cell cultures
Am. J. Vet. Res. 37, 567-572
- Pedersen, N. C., J. F. Boyle (1980)
Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis
Am. J. Vet. Res. 41, 868-876
- Pedersen, N. C., Boyle, J. F., Floyd, K. (1981a)
Infection studies in kittens, using feline infectious peritonitis virus propagated in cell
culture
Am. J. Vet. Res. 42, 363-367
- Pedersen, N. C., J. F. Boyle, K. Floyd, A. Fudge, J. Barker (1981b)
An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious
peritonitis.
Am. J. Vet. Res. 42, 368-377
- Pedersen, N. C. (1983a)
Feline infectious peritonitis and feline enteric coronaviruses infections. Part 2. Feline
infectious peritonitis.
Feline Pract. 13, 5-20

- Pedersen, N. C. (1983b)
Feline infectious peritonitis and feline enteric coronaviruses infections. Part 1. Feline enteric coronavirus infections.
Feline Pract. 13, 13
- Pedersen, N. C., J. W. Black (1983)
Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using either avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus
Am. J. Vet. Res. 44, 229-234
- Pedersen, N. C., J. W. Black, J. F. Boyle, J. F. Evermann, A. J. McKeirnan, R. L. Ott (1984a)
Pathogenic difference between various feline coronavirus isolates
Adv. Exp. Med. Biol. 173, 365-380
- Pedersen, N. C., Evermann, J. F., McKeirnan, A. J., Ott, R. L. (1984b)
Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683
Am. J. Vet. Res. 45, 2580-2585
- Pedersen, N. C., K. F. Floyd (1985)
Experimental studies with three new strains of feline infectious peritonitis virus: FIPV-UCD2, FIPV-UCD3, and FIPV-UCD4
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 7, 1001-1011
- Pedersen, N. C. (1987)
Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis infection
Adv. Exp. Med. Biol. 218, 529-550
- Pedersen, N. C. (1989)
Animal virus infections that defy vaccination: Equine infectious anemia, caprine arthritis-encephalitis, maedi-visna, and feline infectious peritonitis
Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 33, 413-428
- Pedersen, N. C. (1995)
An overview of feline enteric coronavirus and infectious peritonitis virus infections
Feline Pract. 23, 7-20
- Pedersen, N. C., D. Addie, A. Wolf (1995)
Recommendations from working groups of the international feline enteric coronavirus and feline infectious peritonitis workshop
Feline Pract. 23, 108-111
- Petterson, R. F. (1991)
Protein localization and virus assembly at intracellular membranes
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 179, 67-106
- Pfeiffer, N.E. (1991)
Prospects and problems of coronaviral serology
Proc. Symp. New Perspectives on Prevention of Feline Infectious Peritonitis, 30-34

-
- Pfeiffer, M. L., J. F. Evermann, M. E. Roelke, A. M. Gallina, R. L. Ott, A. J. McKeirnan (1983)
Feline infectious peritonitis in a captive cheetah
J. Am. Vet. Med. Assoc. 183, 1317-1319
- Poelma, F. G., J. C. Peters, W. H. W. Mieog, P. Zwart (1974)
Infektiöse Peritonitis bei Karakal (*Felis caracal*) und Nordluchs (*Felis lynx lynx*)
Erkrankungen der Zootiere, 13. Int. Symp. Helsinki, 249-283
- Poland, A., H. Vennema, J. E. Foley, N. C. Pedersen (1996)
Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus
J. Clin. Microbiol. 34, 3180-3184
- Porterfield, J. S. (1986)
Antibody-dependent enhancement of viral infectivity
Adv. Virus Res. 31, 335-355
- Postorino Reeves, N. C., R. V. H. Pollock, E. T. Thurber (1992)
Long-term follow-up study of cats vaccinated with a temperature-sensitive feline infectious peritonitis vaccine
Cornell Vet. 82, 117-123
- Postorino Reeves, N. C. (1995)
Vaccination against naturally occurring FIP in a single large cat shelter
Feline Pract. 23, 81-82
- Reinacher, M. (1993a)
Pathologie der Infektion mit dem Felinen Immundefizienzvirus (FIV) bei der Katze
Prakt. Tierarzt 74, 80-81
- Reinacher, M. (1993b)
Pathologie der Infektion mit dem Felinen Leukämievirus (FeLV) bei der Katze
Prakt. Tierarzt 74, 82-83
- Reinacher, M. (1994)
Pathogenese und Diagnose von natürlich auftretenden Infektionen mit dem Felinen Infektiösen Peritonitis Virus
Proceedings des Symposiums "Neue Perspektiven zur Bekämpfung der Felinen Infektiösen Peritonitis", Berlin, Dezember 1994, 9-12
- Reubel, G. H. (1987)
FIP Problematik der Serodiagnose
Veterinärmedizin 9, 6-8
- Richter, M., Schinking, M. F., Möstl, K., (1996)
Nachweis von Infektionen mit felinen Coronaviren Typ II im Blut von Katzen mittels Reverser Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR)
Wiener Tierärztl. Mschr. 83, 263-268

-
- Robinson, R. L., J. Holzworth, C. E. Gilmore (1971)
Naturally occurring feline infectious peritonitis: signs and clinical diagnosis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 158, 981-986
- Rohrer, C. (1992)
Die Diagnostik der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP): eine retrospektive Studie
Vet. Med. Diss. Zürich, 1992
- Rohrer, C., P. F. Suter, H. Lutz (1993)
Die Diagnostik der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP): Retrospektive und
prospektive Untersuchungen
Kleintierpraxis 6, 379-389
- Roikjo, J. L., M. L. Perdsock, C. M. Cheney, G. J. Kociba (1985)
The effects of concurrent viruses on the susceptibility of cats to the feline leukemia
virus and disease
Feline Pract. 15, 30-31
- Schär, R. (1989)
Die Hauskatze. Lebensweise und Ansprüche.
Ulmer Verlag, Stuttgart, 3. Auflage, 45-58
- Schär, R. (1991)
Ursachen von Verhaltensproblemen bei Katzen
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 98, 13-15
- Schär, R. (1996)
Some frequent occurring behavioral disorders of cats
Hungarian Vet. J. 51, 664-665
- Schär, R. (1997)
Ethologie der Katze: Grundlagen und Bedeutung für die Versuchstierhaltung.
Der Tierschutzbeauftragte 1, 10-13
- Schär, R. (1998a)
Ethologie der Katze: Grundlagen und Bedeutung für den Tierarzt
Kleintiermedizin 6, 7-8
- Schär, R. (1998b)
Verhaltenstherapie bei der Katze
Kleintiermedizin 6, 9-11
- Schalm, O. W. (1971)
Feline infectious peritonitis. Vital statistics and laboratory findings
Calif. Vet. 25, 6-9
- Schmidt, V. (1998)
Reihe FIP: Typische Augenbefunde
Kleintier Konkret 2, 21-22

- Schmitz, J. (1990)
Möglichkeiten besserer Haltung von Versuchstieren - Empfehlungen aus ethologischer Sicht.
Broschüre Hessisches Sozialministerium, Wiesbaden
- Schroo, S. (1994)
Kompetitiver ELISA zum Nachweis von löslichen Immunkomplexen in Seren und Exsudaten FIP-verdächtiger Katzen
Vet. Med. Diss., Gießen
- Schwendenwein, I., S. Koelbl (1991)
Evaluation of a commercially available CELISA testkit for the detection of antibodies against feline infectious peritonitis
Wiener Tierärztl. Mschr. 78, 177-180
- Scott, F. W. (1987)
Immunization against feline coronaviruses.
Adv. Exp. Med. Biol. 218, 569-576
- Scott, F. W., W. V. Corapi, C. W. Olsen (1992)
Evaluation of the safety and efficacy of Primucell FIPV Vaccine
Feline Health Topic 7, 6-8
- Scott, F. W. (1993)
Feline infectious peritonitis: Transmission and epidemiology
In: Feline Infektiöse Peritonitis, Wissenschaftliche Basisinformation, SmithKline Beecham, München, 7-12
- Scott, F. W., W. V. Corapi, C. W. Olsen (1995a)
Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (cornell experience)
Feline Pract. 23, 74-76
- Scott, F. W., W. V. Corapi, C. W. Olsen (1995b)
Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection
Feline Pract. 23, 77-79
- Shell, L. G. (1997)
Feline infectious peritonitis viral meningoencephalomyelitis
Feline Pract. 25, 24
- Siddell, S., H. Wege, V. Ter Meulen (1982)
The structure and replication of coronaviruses
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 99, 131-161
- Siddell, S. G., R. Anderson, D. Cavanagh, K. Fujiwara, H. D. Klenk, M. R. Macnaughton, M. Pensaert, S. A. Stohlman, L. Sturman, B. A. M. van der Zeijst (1983)
Coronaviridae
Intervirology 20, 181-189

- Slauson, D. O., J. P. Finn (1972)
Meningoencephalitis and panophthalmitis in feline infectious peritonitis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 160, 729-734
- Snijder, E. J., J. A. Den Boon, M. C. Horzinek, W. J. M. Spaan (1991)
Comparison of the genome organization of toro- and coronaviruses: evidence for two nonhomologous RNA recombination events during Berne virus evolution
Virology 180, 448-452
- Sparkes, A. H., T. J. Gruffydd-Jones, D. A. Harbour, C. D. Hopper, T. N. Smerdon (1990)
Blood tests for FIP
Vet. Rec. 126, 225
- Sparkes, A. H., T. J. Gruffydd-Jones, P. E. Howard, D. A. Harbour (1992)
Coronavirus serology in healthy pedigree cats
Vet. Rec. 11, 35-36
- Sparkes, A. H., T. J. Gruffydd-Jones, D. A. Harbour (1994)
An appraisal of the value of laboratory tests in diagnosis of feline infectious peritonitis
J. Am. Anim. Hospit. Assoc. 30, 345-350
- Stoddart, C. A., J. E. Barlough, F. W. Scott (1984)
Experimental studies of a coronavirus and coronavirus-like agent in a barrier maintained feline breeding colony
Arch. Virol. 79, 85-94
- Stoddart, C. A., J. E. Barlough, C. A. Baldwin, F. W. Scott (1988a)
Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using canine coronavirus
Res. Vet. Sci. 45, 383-388
- Stoddart, M. E., Gaskell, R. M., Harbour, D. A., Gaskell, C. J. (1988b)
Virus shedding and immune response in cats inoculated with cell culture-adapted feline infectious peritonitis virus
Vet. Microbiol. 16, 145-158
- Stoddart, C. A., F. W. Scott (1989)
Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence
J. Virol. 63, 436-440
- Stünzi, H., V. Grevel (1973)
Die ansteckende fibrinöse Peritonitis der Katze. Vorläufige Mitteilungen über die ersten spontanen Fälle in der Schweiz
Schw. Arch. Tierheilk. 115, 579-586
- Suter, P. F., C. Rohrer, H. Lutz (1993)
Zur Problematik der FIPV-Infektion
Kleintierpraxis 38, 373-378

- Tamke, P. G., M. G. Petersen, A. E. Dietze, A. de Lahunta, (1988)
Acquired hydrocephalus and hydromyelia in a cat with feline infectious peritonitis: a case report and brief review
Can. Vet. J. 29, 997-1000
- Tammer, R., O. Evensen, H. Lutz, M. Reinacher (1995)
Immunohistological demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies.
Vet. Immunol. Immunopathol. 49, 177-182
- Tammer, R. (1996)
Immunhistologischer Nachweis von Antigen des Virus der Felinen Infektiösen Peritonitis bei Sektionskatzen.
Vet. Med. Diss., Gießen, 73-76
- Theobald, J. (1978)
Felidae
In: Fowler, M. E. (ed): Zoo and wild animal medicine, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 650-667
- Timoney, J. F. (1976)
Feline infectious peritonitis
Vet. Clin. North Am. 6, 391-394
- Toma, B., C. Duret, G. Chappius, B. Pellerin (1979)
Echec de l'immunisation contre la peritonite infectieuse feline par infection de virus de la gastroenterite transmissible du porc
Rec. Med. Vet. 155, 799
- Toolan, D. P. (1993)
Peritoneal form of feline infectious peritonitis (FIP)
Irish Vet. J. 46, 102-103
- Troy, G. C., M. J. Becker, R. T. Greene (1996)
Proficiency testing of selected antigen and antibody tests for use in dogs and cats
J. Am. Vet. Med. Assoc. 209, 914-917
- Tuch, K., K. H. Witte, H. Wüller (1974)
Feststellung der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) bei Hauskatzen und Leoparden in Deutschland
Zbl. Vet. Med. B 21, 426-441
- Tupper, G. T., J. F. Evermann, R. G. Russel, M. E. Thouless (1987)
Antigenic and biological diversity of feline coronaviruses: Feline infectious peritonitis and feline enteritis virus
Arch. Virol. 96, 29-38
- Vacirca, G., F. Mantelli, E. Ferro, P. G. Brambilla (1989)
Pericardial effusion with feline infectious peritonitis
Comp. Anim. Pract. 19, 25-27

- Vanden Bossche, G. (1990a)
Zur epizootiologischen Interpretation der Coronavirus-Serologie bei gesunden und non-FIP (Feline Infektiöse Peritonitis) kranken Katzen mittels der indirekten Immunfluoreszenz (IF)
Kleintierpraxis 35, 189-191
- Vanden Bossche, G. (1990b)
Zur Serodiagnose der Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) mittels eines indirekten Immunfluoreszenz-Tests (IFT): Eine statistische Bewertung der diagnostischen Treffsicherheit
Kleintierpraxis 35, 201-213
- Vennema, H. (1999)
Genetic drift and genetic shift during feline coronavirus evolution
Vet. Microbiol. 69, 139-141
- Vennema, H., R. de Groot, D. A. Harbour, M. Dalderup, T. Gruffydd-Jones, M. C. Horzinek, W. J. M. Spaan (1990)
Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization
J. Virol. 64, 1407-1409
- Vennema, H., R. de Groot, D. A. Harbour, M. C. Horzinek, W. J. M. Spaan (1991)
Primary structure of the membrane and nucleocapsid protein genes of feline infectious peritonitis virus and immunogenicity of recombinant vaccinia viruses in kittens
Virology 181, 327-335
- Vennema, H., A. Poland, K. Floyd Hawkins, N. C. Pedersen (1995)
A comparison of the genomes of FECVs and FIPVs and what they tell us about the relationships between feline coronaviruses and their evolution
Feline Pract. 23, 40-44
- Vennema, H., A. Poland, J. Foley, N. C. Pedersen (1998)
Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses
Virology 243, 150-157
- Viefhues, G., O. Uysal, A. Heusinger (1990)
Der Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIPV) mit dem DiasystemTMFIP Test Kit im Vergleich zur direkten Immunfluoreszenz
Tierärztl. Umschau 45, 490-492
- Vieler, E., Herbst, W., (1995)
Detection of viruses in faeces of diarrhoeic dogs by electron microscopy.
Tierärztl. Praxis 23, 66-69
- Wallach, J. D., W. J. Boever (1983)
Diseases of exotic animals. Medical and surgical management
Saunders Verlag Philadelphia, 369-370

-
- Walter, J. H., R. Rudolph (1989)
Untersuchungen zur Häufigkeit und Pathogenese der Feline Infektiöse Peritonitis (FIP)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 96, 194-201
- Ward, J. M. (1970)
Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis
Virology 41, 191-194
- Ward, J. M., R. J. Munn, D. H. Gribble, D. L. Dungworth (1968)
An observation of feline infectious peritonitis
Vet. Rec. 83, 416-417
- Weber, M. (2000)
Pathologische und immunhistologische Untersuchungen am Auge von Katzen mit Feliner Infektiöser Peritonitis
Vet. Med. Diss., Leipzig
- Weiss, R. C., F. W. Scott (1980)
Laboratory diagnosis of feline infectious peritonitis
Feline Pract. 10, 16-22
- Weiss, R. C., F. W. Scott (1981a)
Pathogenesis of feline infectious peritonitis. Nature and development of viremia
Am. J. Vet. Res. 42, 382-390
- Weiss, R. C., F. W. Scott (1981b)
Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue-haemorrhagic-fever
Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Diseases 4, 175-189
- Weiss, R. C. und T. Oostrom-Ram (1989)
Inhibitory effects of ribavirin alone or combined with human alpha interferon on feline infectious peritonitis virus replication in vitro
Vet. Microbiol. 20, 255-265
- Weiss, R. C. (1991)
The diagnosis and clinical management of feline infectious peritonitis
Vet. Med. 86, 308-319
- Weiss, R. C., N. R. Cox, M. L. Martinez (1993)
Evaluation of free or liposome-encapsulated ribavirin for antiviral therapy of experimentally induced feline infectious peritonitis
Res. Vet. Sci. 55, 162-172
- Weiss, R. C. (1995)
Treatment of feline infectious peritonitis with immunomodulating agents and antiviral drugs: A review
Feline Pract. 23, 103-106

- Wisser, J. (1984)
Feline Infektiöse Peritonitis - Sektionsbild bei einer Löwin (*Panthera leo*)
Verhandlungsbericht des Internationalen Symposiums über Erkrankungen der Zootiere
26, 341-348
- Witte, K. H., K. Tuch, H. Dubenkropp, C. Walter (1977)
Untersuchungen über die Antigenverwandtschaft der Viren der Felinen Infektiösen
Peritonitis (FIP) und der Transmissiblen Gastroenteritis (TGE) des Schweines
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 396-401
- Wolf, A. (1997)
Feline infectious peritonitis, Part I
Feline Pract. 25, 26-29
- Wolfe, L. G., R. A. Griesemer (1966)
Feline infectious peritonitis
Path. Vet. 3, 255-270
- Wolfe, L. G., R. A. Griesemer (1971)
Feline infectious peritonitis: Review of gross and histopathologic lesions
J. Am. Vet. Med. Assoc. 158, 987-993
- Woods, R. D., N. C. Pedersen (1979)
Cross-protection studies between feline infectious peritonitis and porcine
transmissible gastroenteritis viruses
Vet. Microbiol. 4, 11-16
- Yaling, Z., J. Ederveen, H. Egberink, M. Pensaert, M. C. Horzinek (1988)
Porcine epidemic diarrhea virus (CV 777) and feline infectious peritonitis virus
(FIPV) are antigenically related
Arch. Virol. 102, 63-71
- Zook, B. C., N. W King, R. L Robinson, H. L. McCombs (1968)
Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis
Path. Vet. 5, 91-95

9. Anhang

9.1 Abbildungen

- Abb. 1:** Geschlechtsverteilung der SPF-Tiere nach randomisierter Einteilung in T1 und T2 (3.2.1; S. 35)
- Abb. 2:** FCoV und Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) Primer (3.5.3.5; S. 52)
- Abb. 3:** Gewichtsentwicklung aller SPF-Katzen im Versuchszeitraum (4.1; S. 58)
- Abb. 4:** Chronologische Übersicht der Todesfälle (aller Ursachen) im Versuchszeitraum (4.5; S. 60)
- Abb. 5:** chronologische Übersicht über das Auftreten der einzelnen Formen der FIP bei den SPF-Katzen (4.6; S. 62)
- Abb. 6:** Geschlechtsverteilung der an FIP erkrankten SPF-Tiere (4.6; S. 62)
- Abb. 7:** Verteilung der FIP-Formen bei den 23 aufgetretenen Fällen (alle Gruppen) im Versuchszeitraum (4.8; S. 64)
- Abb. 8:** Häufigkeit von Katzenschnupfen bei den 22 an FIP erkrankten SPF-Katzen (4.9; S. 67)
- Abb. 9:** Häufigkeit von Katzenschnupfen bei den 18 nicht an FIP erkrankten Katzen (4.9; S. 67)

Abb. 10, 11:

effusive Form der FIP bei
einer SPF-Katze mit
ausgeprägter Aszitesbildung
ohne Beeinträchtigung des
Allgemeinbefindens

Abb. 12:

Vergleich SPF-FIP-Katze
mit Aszites mit SPF-Katze
ohne Symptomatik



Abb. 13: Vergleich SPF-FIP-Katze mit Aszites mit SPF-Katze ohne Symptomatik

Abb. 14, 15: ungestörtes Freß- und Trinkverhalten bei SPF-FIP-Katzen mit Aszites



Abb. 16: SPF-Katze (Primucell®-Gruppe, H 6 1453) mit Symptomatik der nichteffusiven FIP

Abb. 17: gleiche Katze wie Abb. 16 mit Nickhautvorfall und Augenveränderungen



Abb. 18: gleiche Katze wie Abb. 16 mit frei schwebenden Fibrinpräzipitaten in der vorderen Augenkammer

Abb. 19: gleiche Katze wie Abb. 16 nach überstandener FIP-Symptomatik mit bleibendem Irishinterflächenpigmentstrang

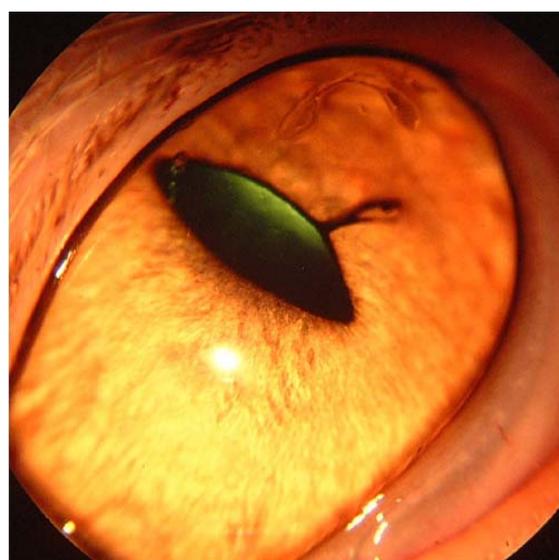
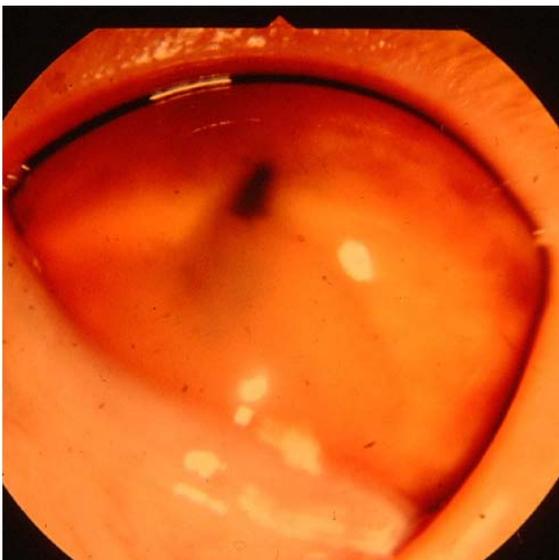


Abb. 20: SPF-Katze (Primucell[®]-Gruppe, H 6 1466) vor der FIP-Erkrankung



Abb. 21: gleiche Katze wie Abb. 20 mit Augenveränderungen



Abb. 22: gleiche Katze wie Abb. 20 mit Irisverfärbungen und streuenden Gefäßinjektionen

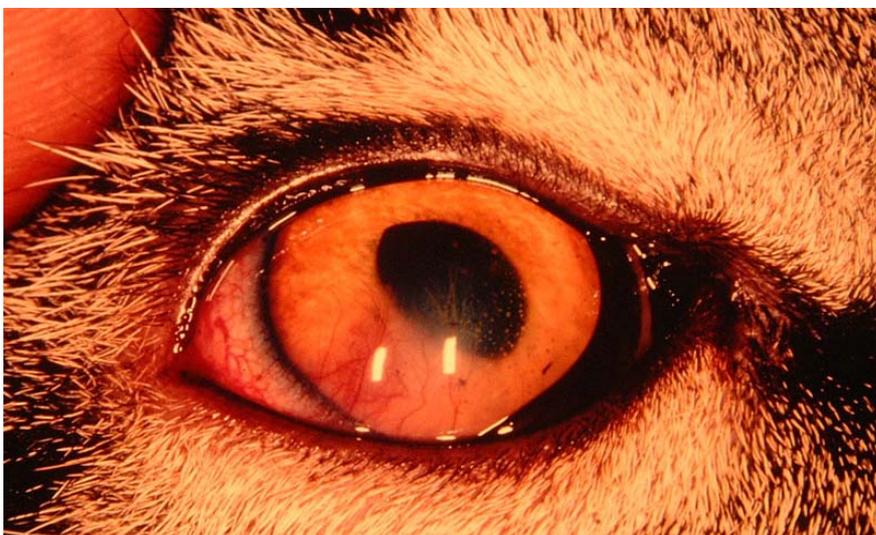


Abb. 23: SPF-Katze (Kontroll-Gruppe, H 6 1448) mit Anisokorie



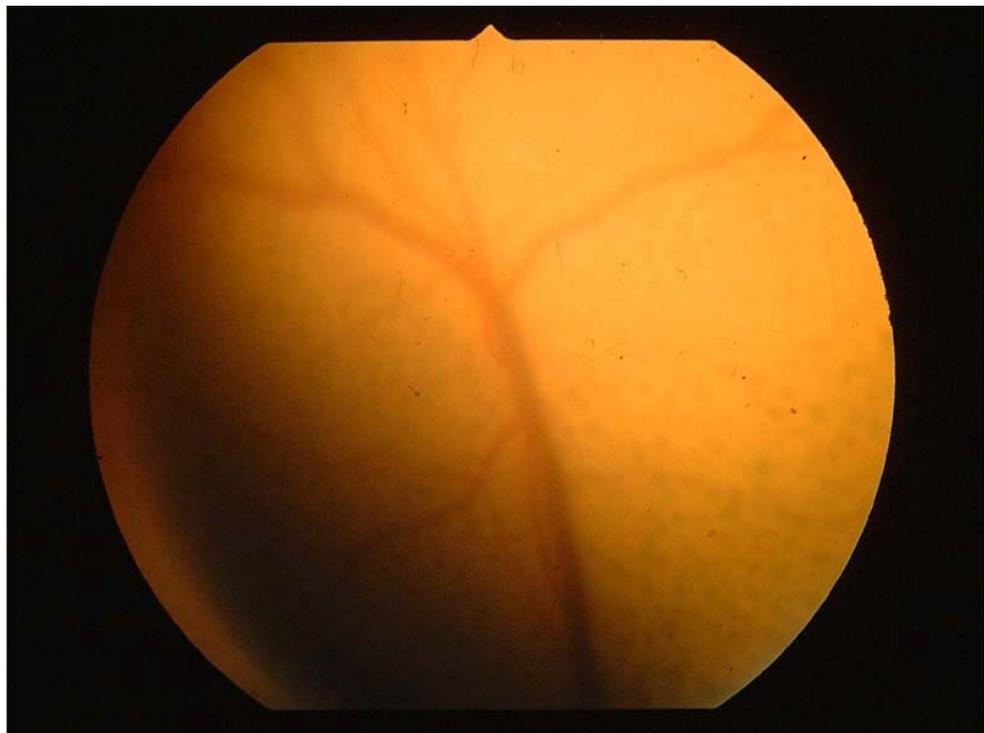
Abb. 24: gleiche Katze wie Abb. 23 mit Rubiosis iridis



Abb. 25: gleiche Katze wie Abb. 23 mit Neovaskularisationen



Abb. 26: gleiche Katze wie Abb. 23: Fundus: Hyporeflexien, subretinale Infiltrate



9.2

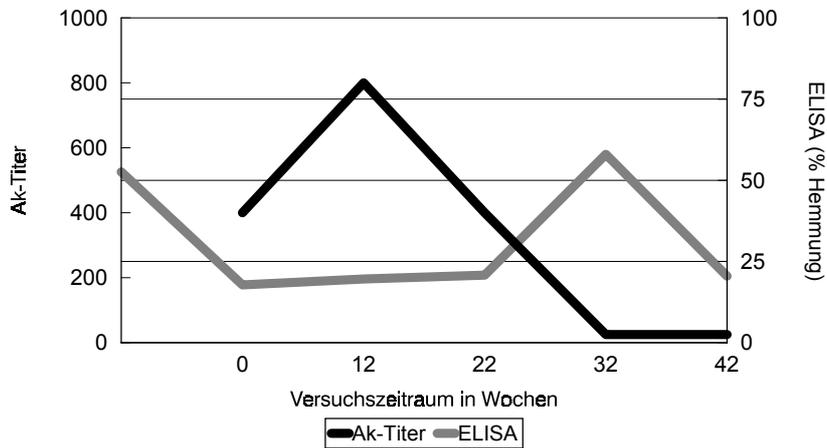
Diagramme

Titerverläufe CoV-Ak und ELISA (> 25% Hemmung = positiv)

FIP-Vakzine: 1. Impfung 7. Woche, 2. Impfung (Boosterung) 10. Woche

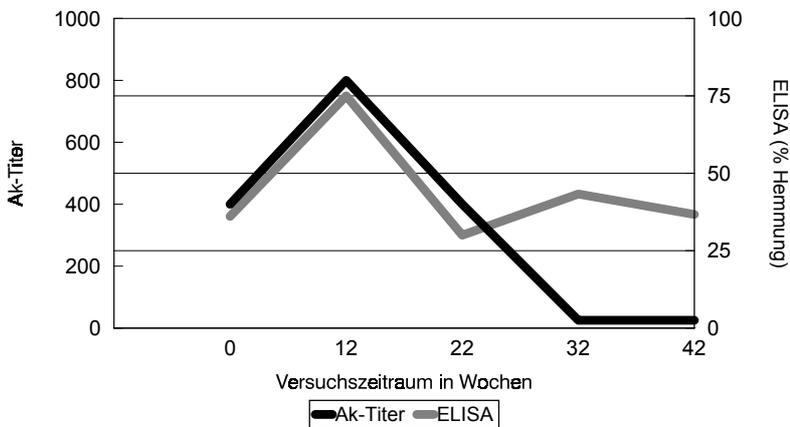
Zusammensetzen mit Tierheimkatzen 12. Woche

Tierheimkatze Nr. 41



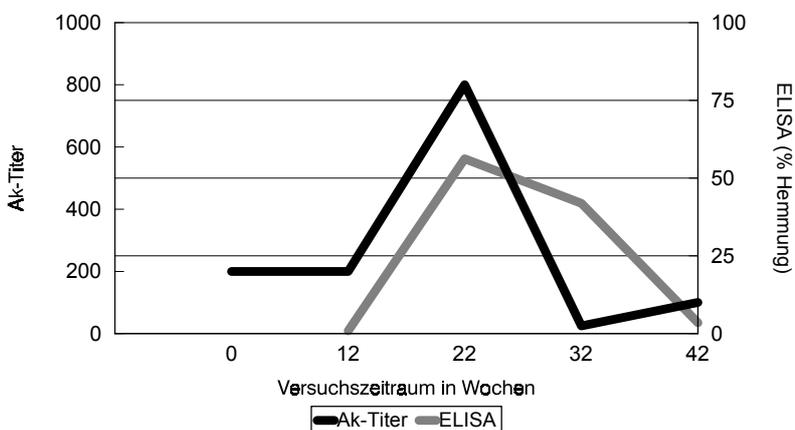
zeitweise Enteritis, Tier am Versuchsende vermittelt, derzeit wohlauf

Tierheimkatze Nr. 42



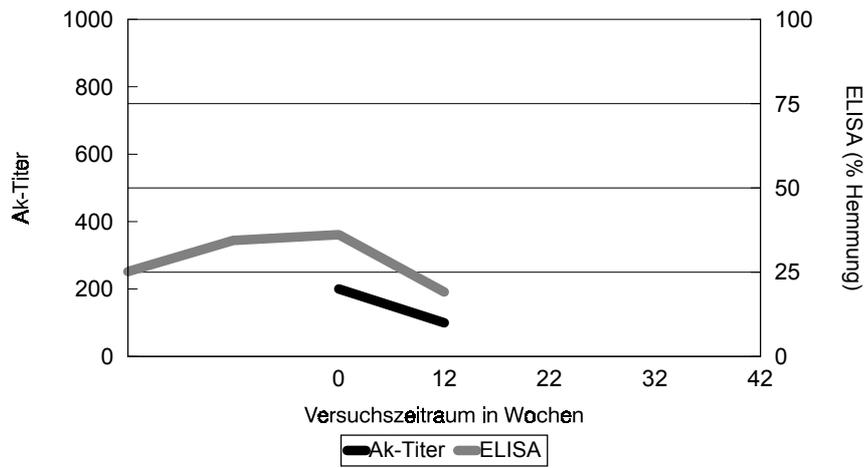
niemals Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 43



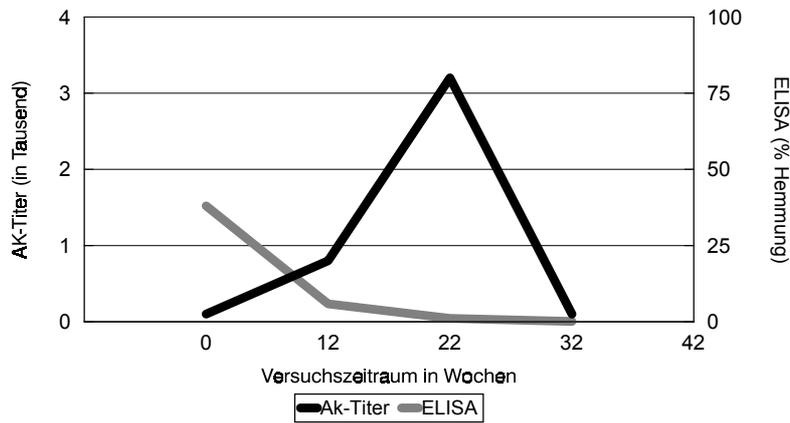
niemals Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 44



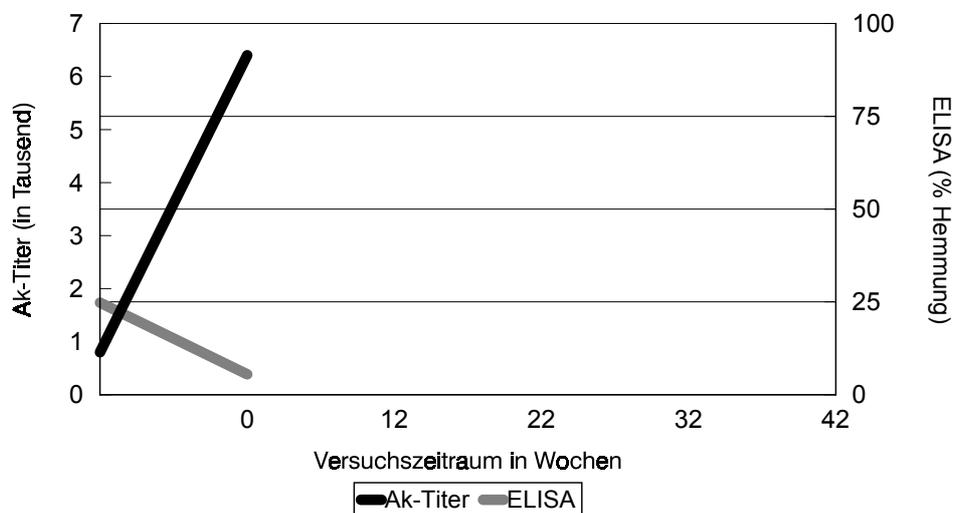
Tier verendet, Diagnose: Coronavirus-Enteritis

Tierheimkatze Nr. 45



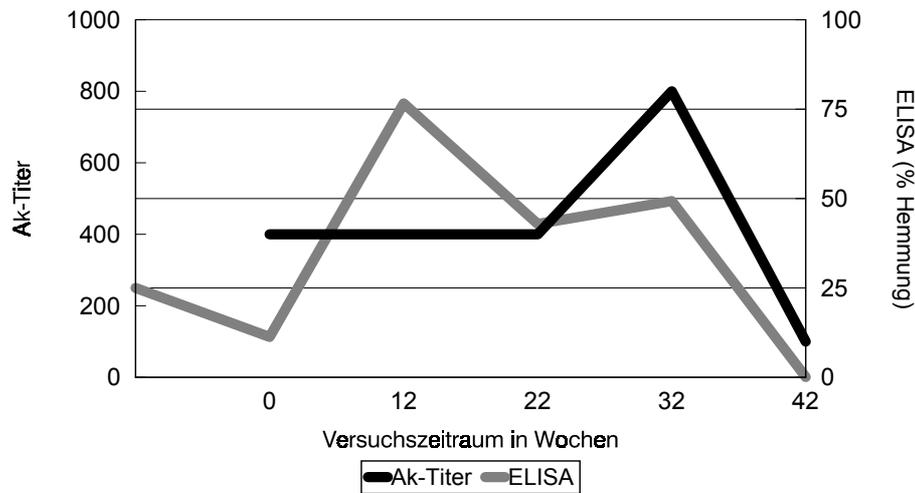
Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

Tierheimkatze Nr. 46



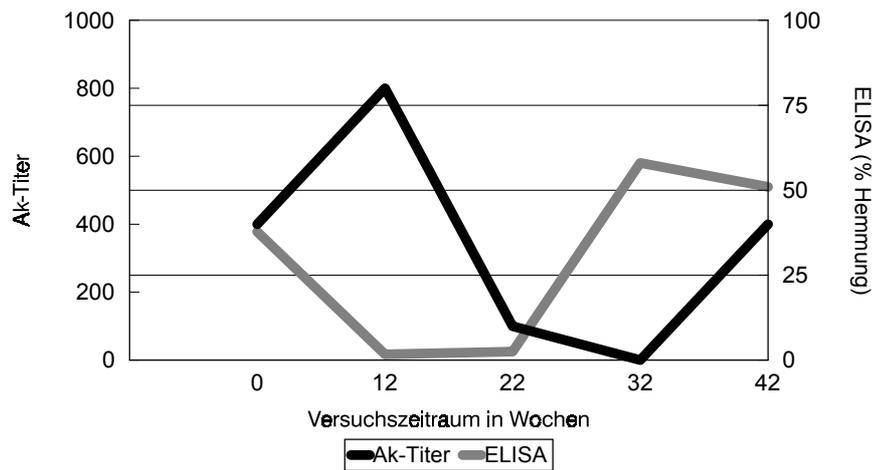
rapider Krankheitsverlauf, Tier verendet, Diagnose: FIP

Tierheimkatze Nr. 47



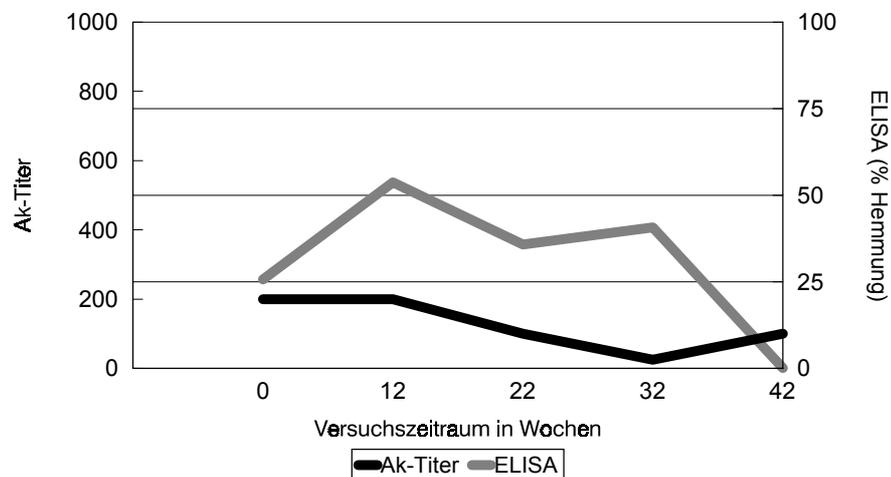
zeitweise Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt, derzeit wohlauf

Tierheimkatze Nr. 48



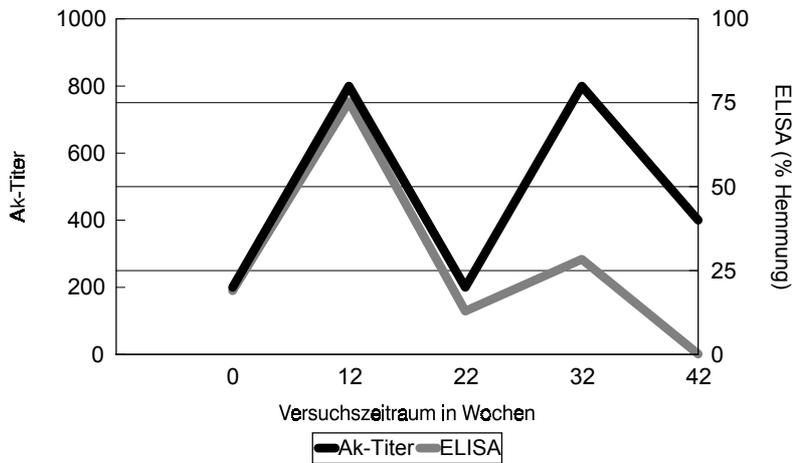
niemals Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 49



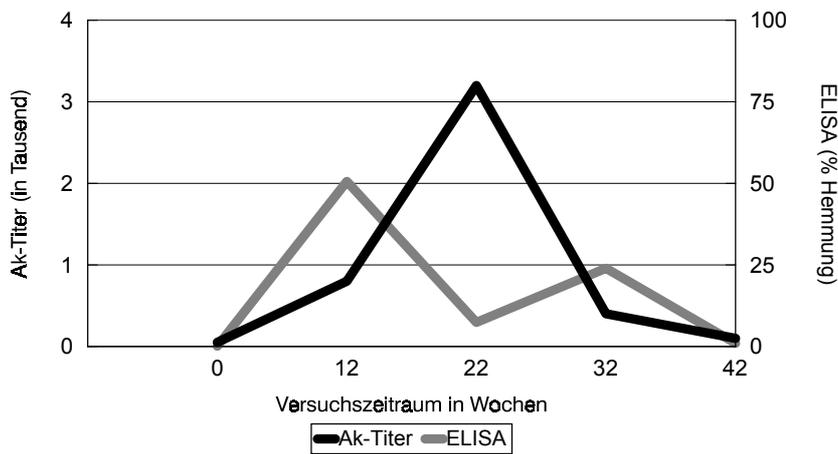
niemals Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 50



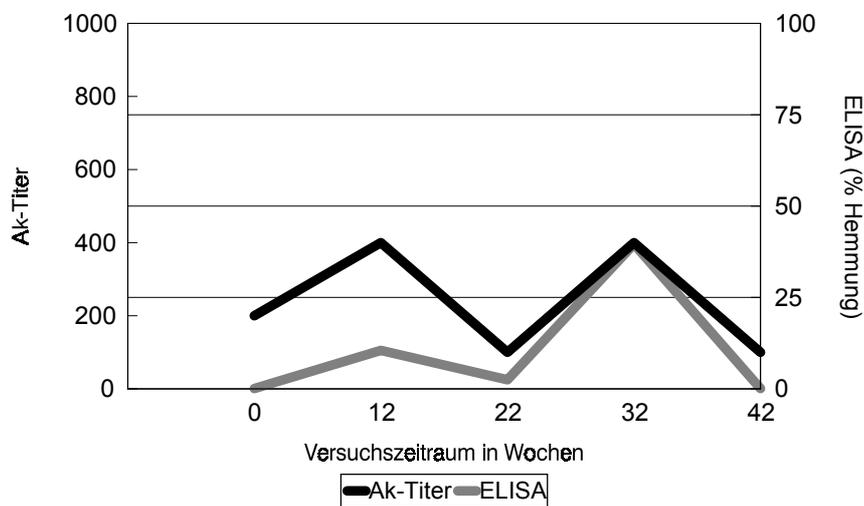
keine Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 51



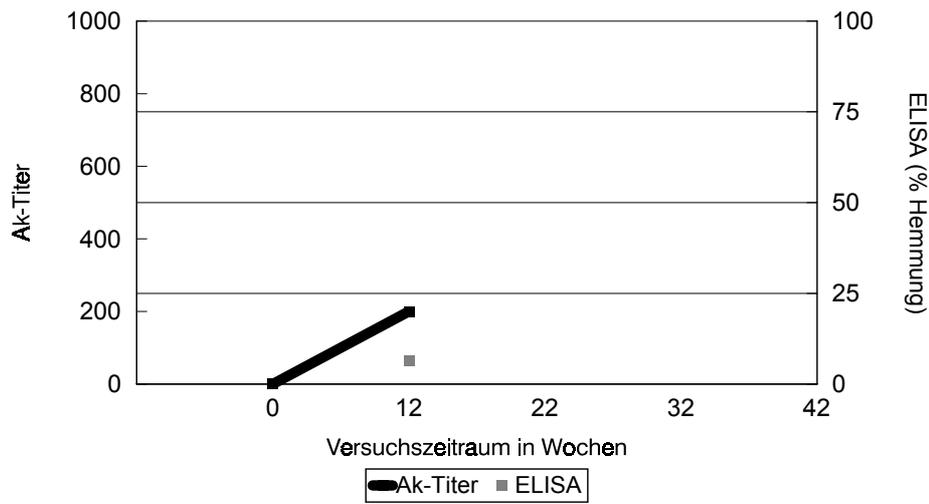
niemals Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

Tierheimkatze Nr. 52



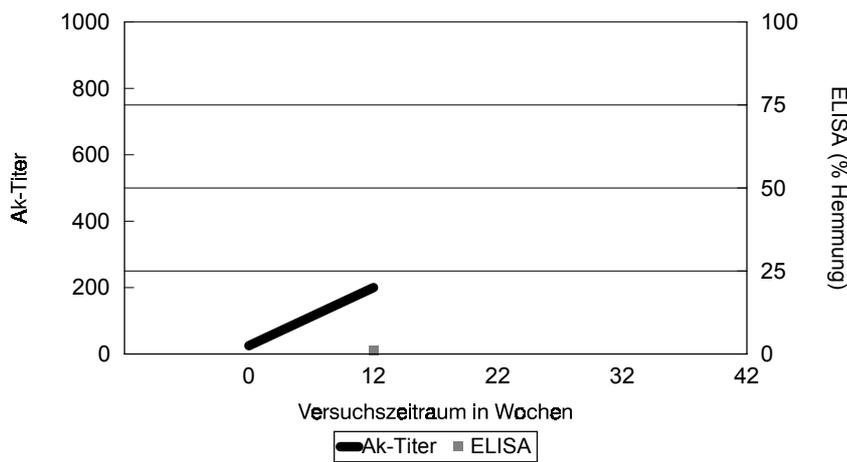
keine Symptomatik, Tier am Versuchsende vermittelt

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1408



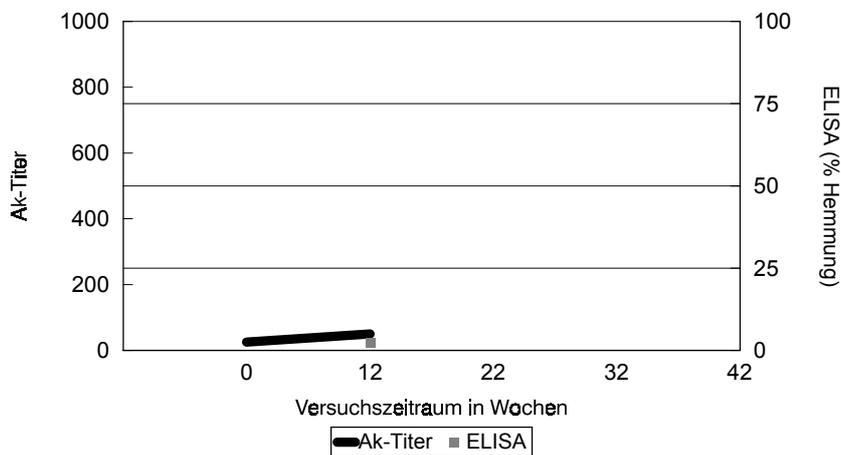
Tier verendet, Diagnose: keine FIP, Pneumonie

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1451

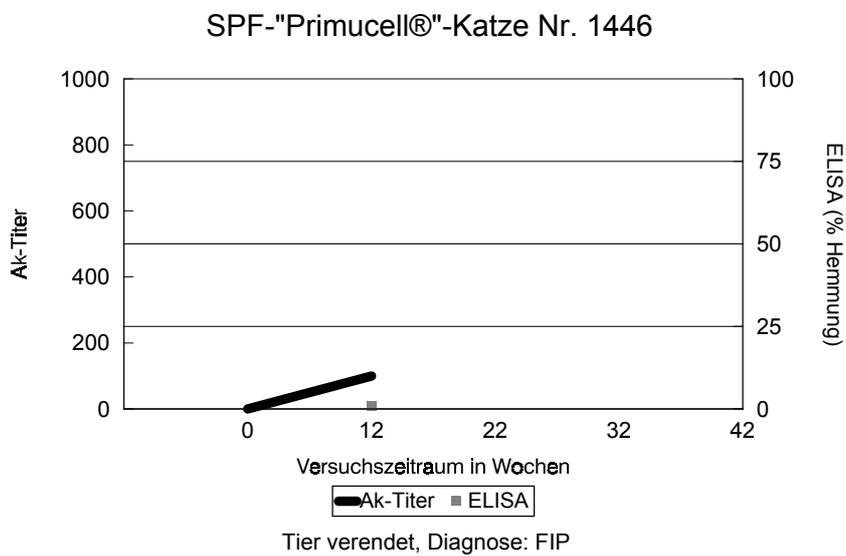
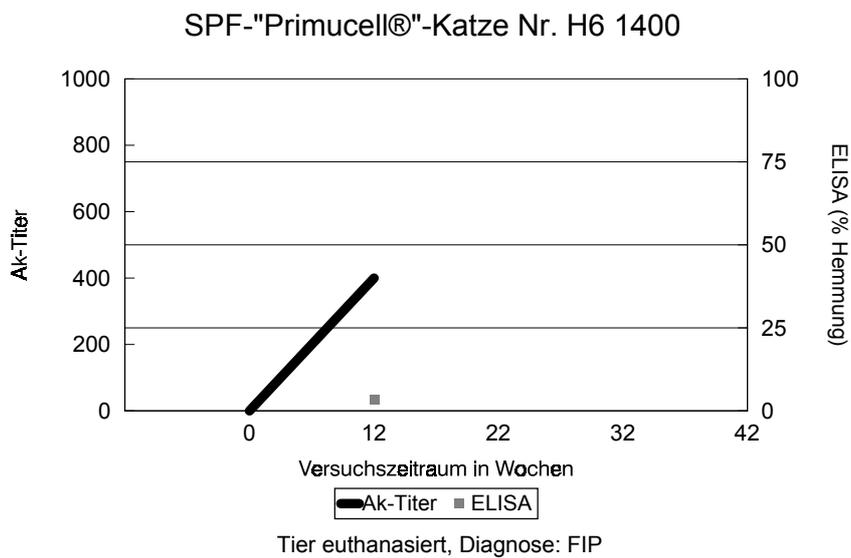
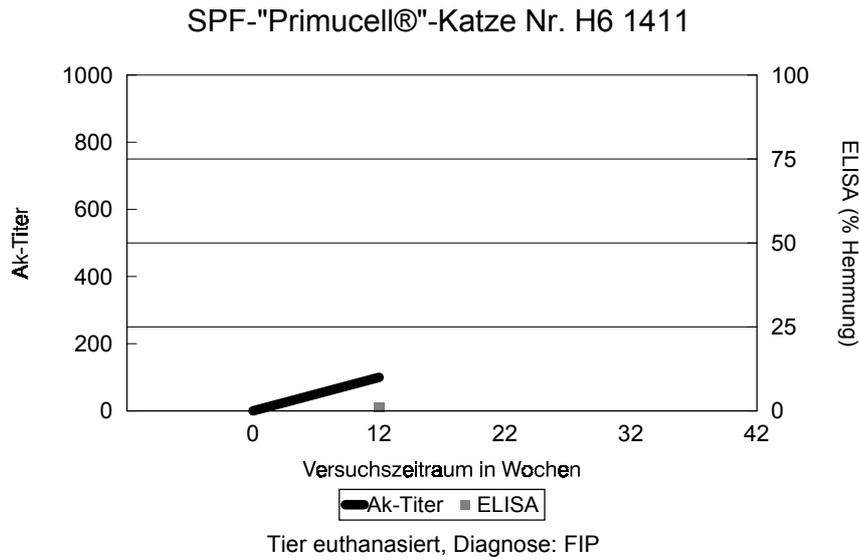


Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

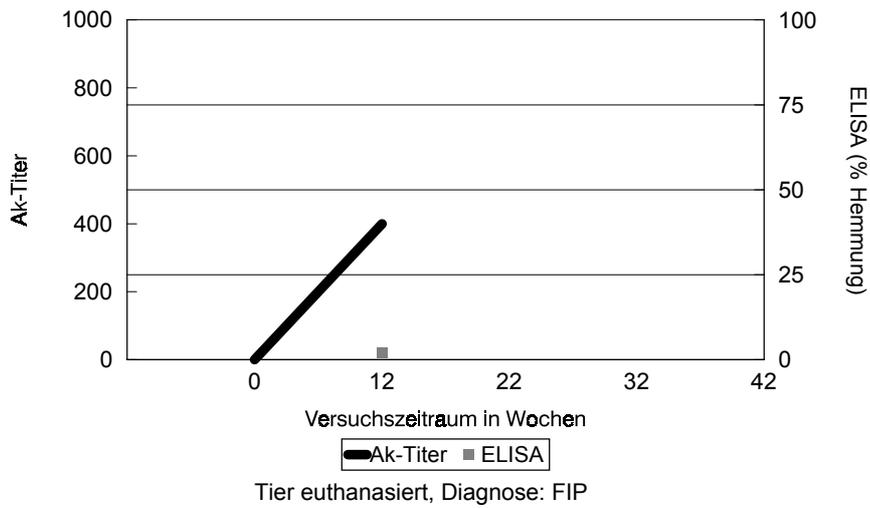
SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1410



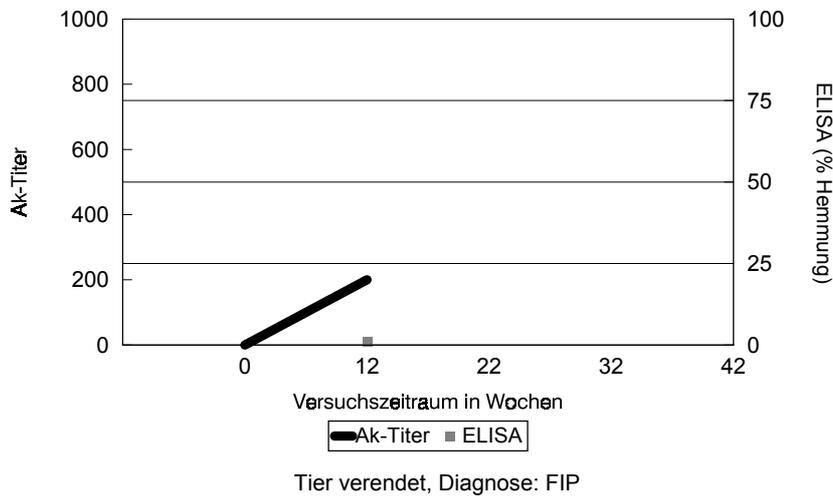
Tier verendet, Diagnose: FIP



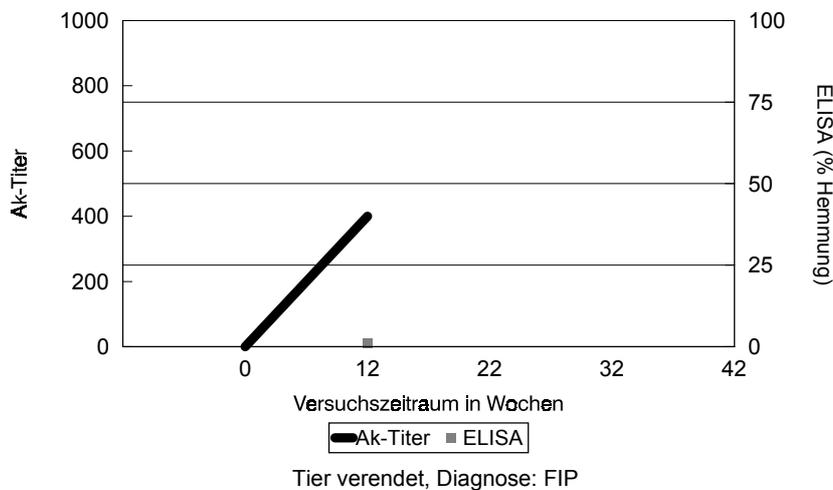
SPF-"Primucell®"-Katze Nr. 1464



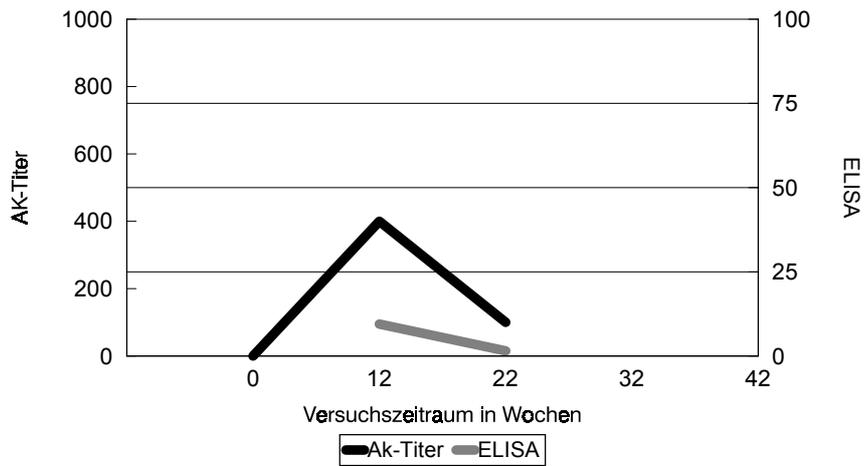
SPF-"Primucell®"-Katze Nr. 1434



SPF-"Primucell®"-Katze Nr. 1395

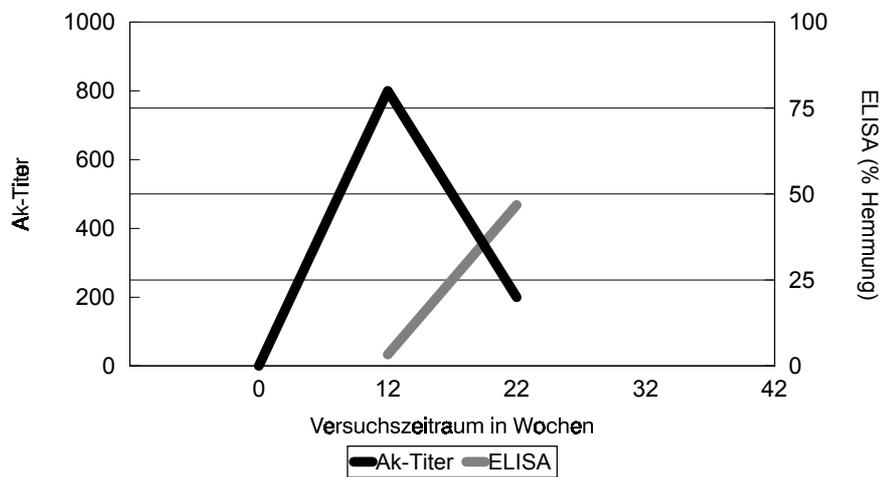


SPF-"Primucell®"-Katze Nr. 1404



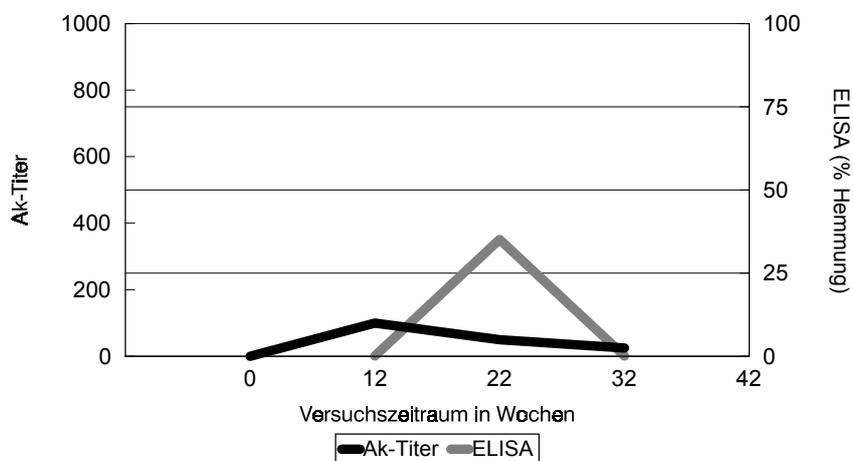
Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1440



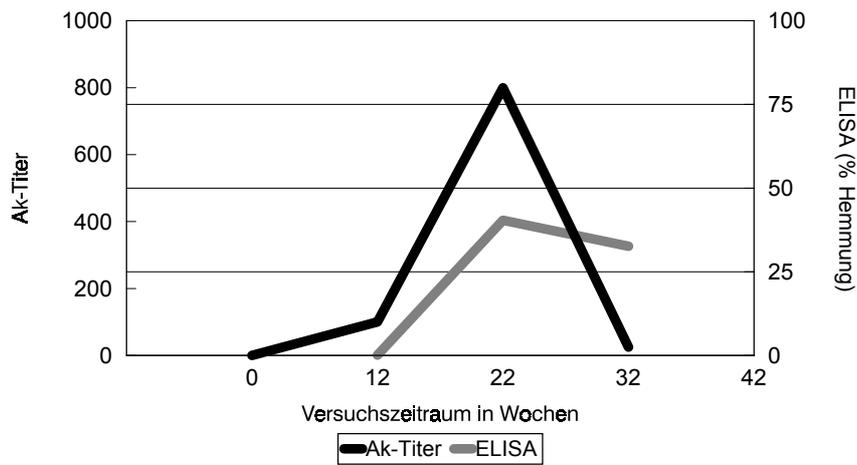
Tod bei Narkosezwischenfall (ophthalmologische OP), keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1450



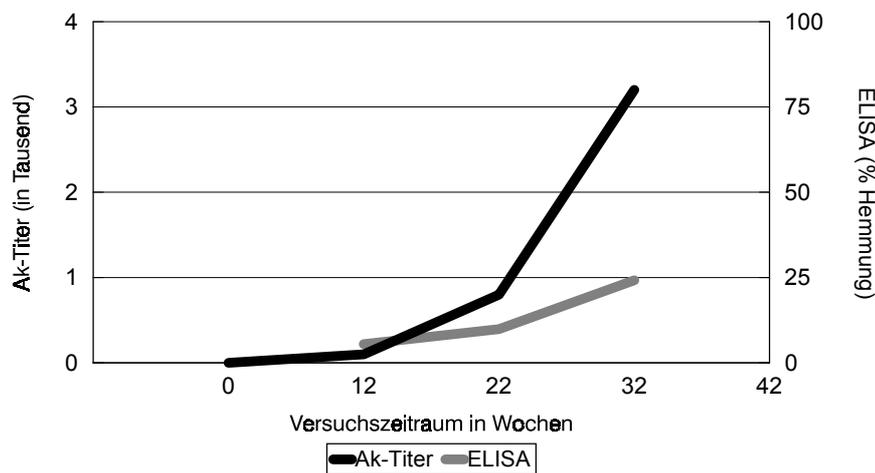
Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1466



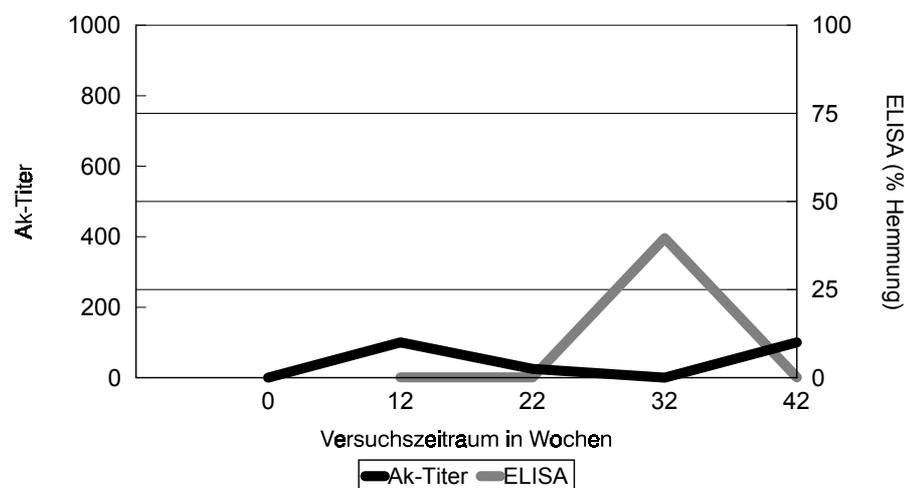
Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. 1444



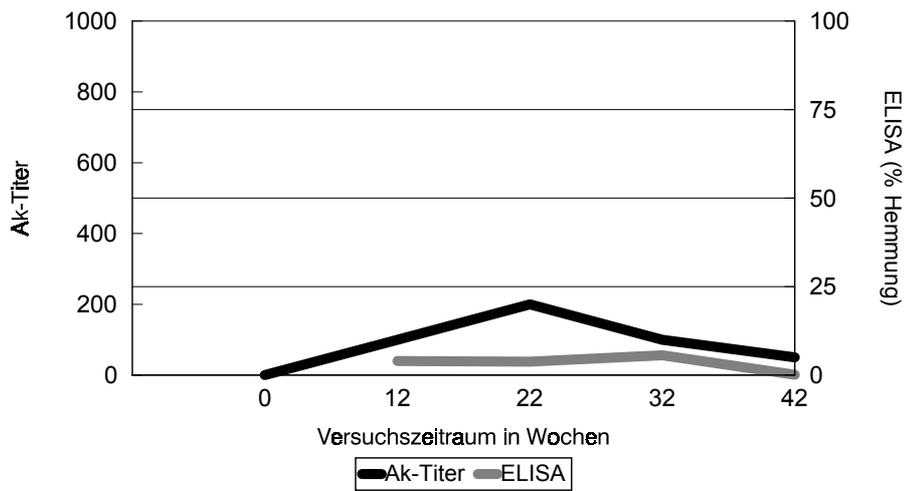
Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1443



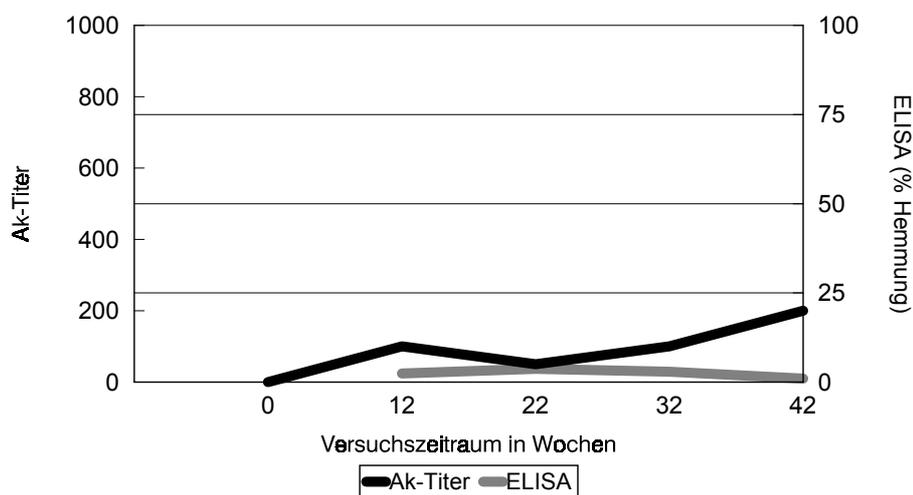
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1436



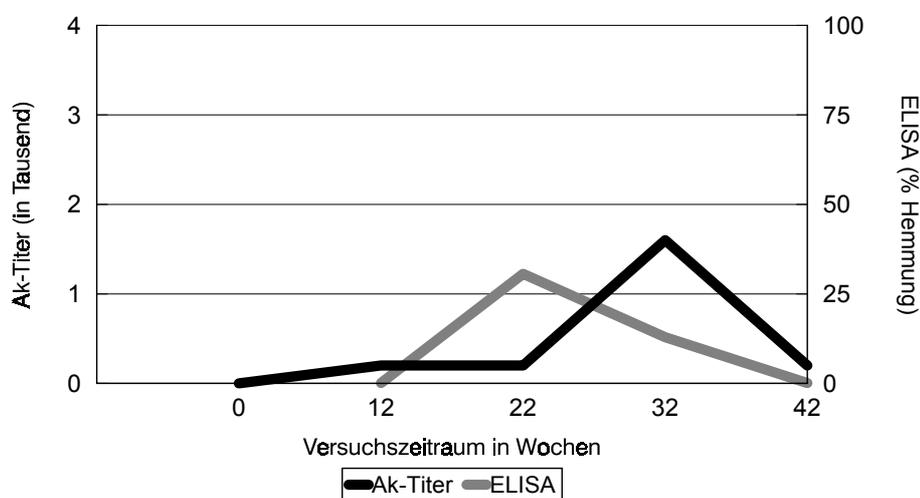
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1449



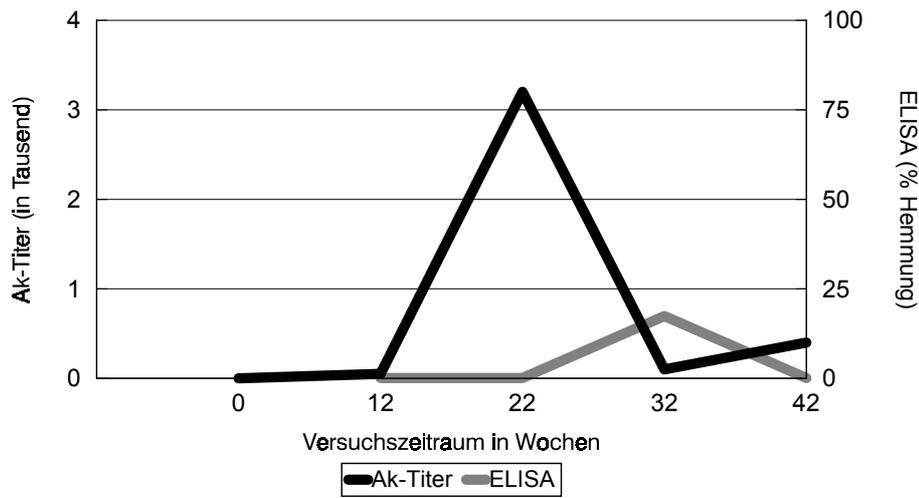
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1427



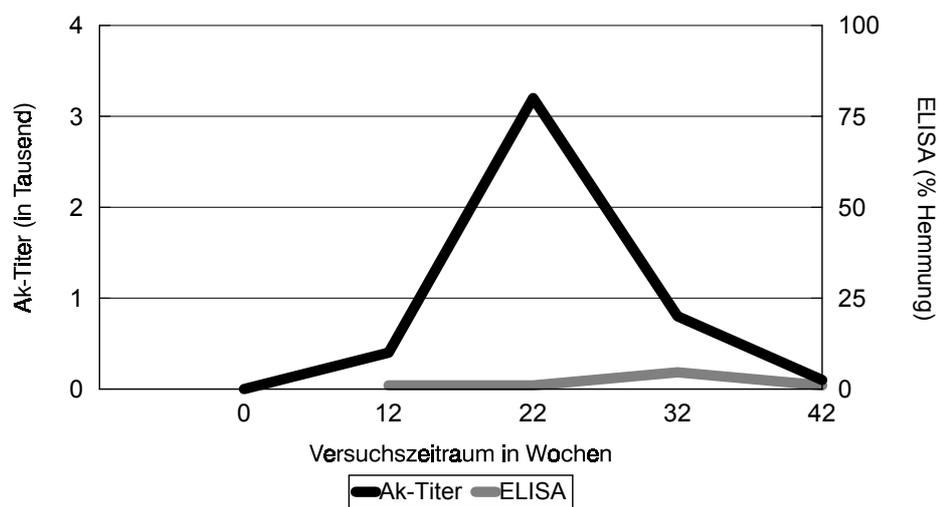
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1433



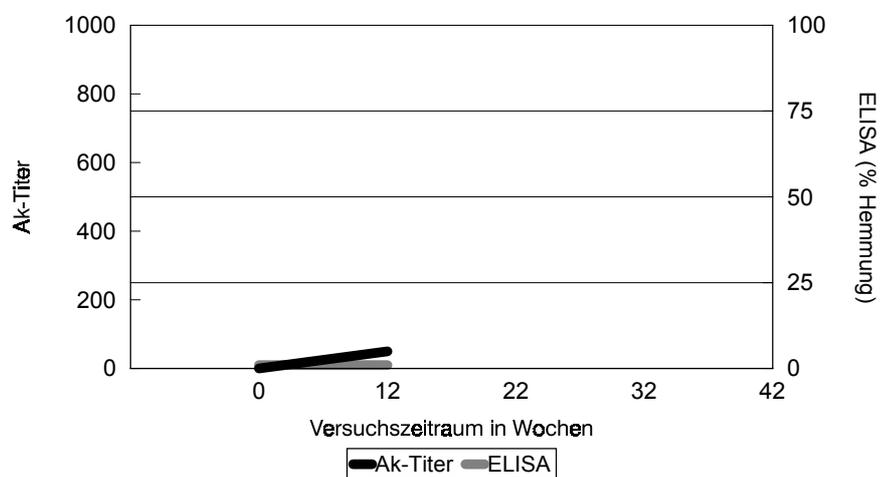
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-"Primucell®"-Katze Nr. H6 1453



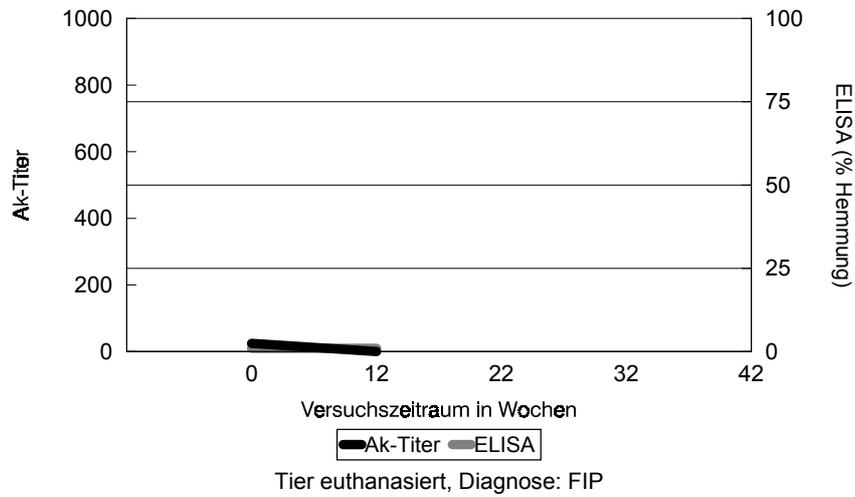
ZNS), Diagnose: keine FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1402

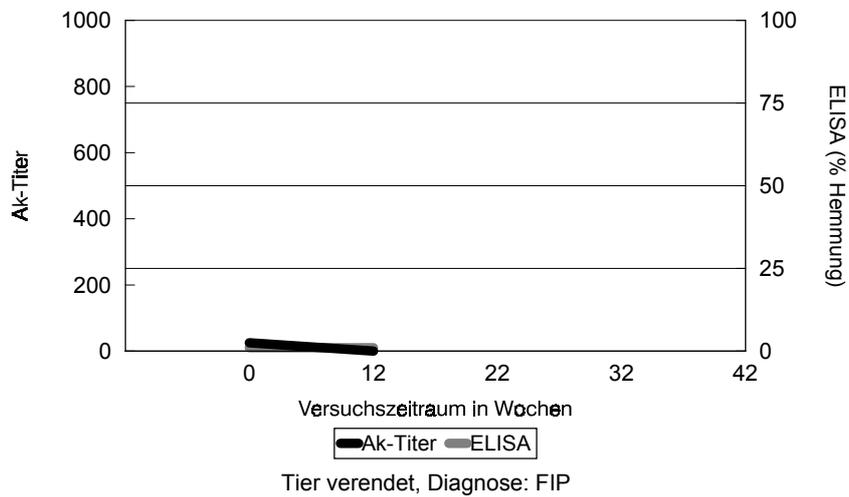


Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

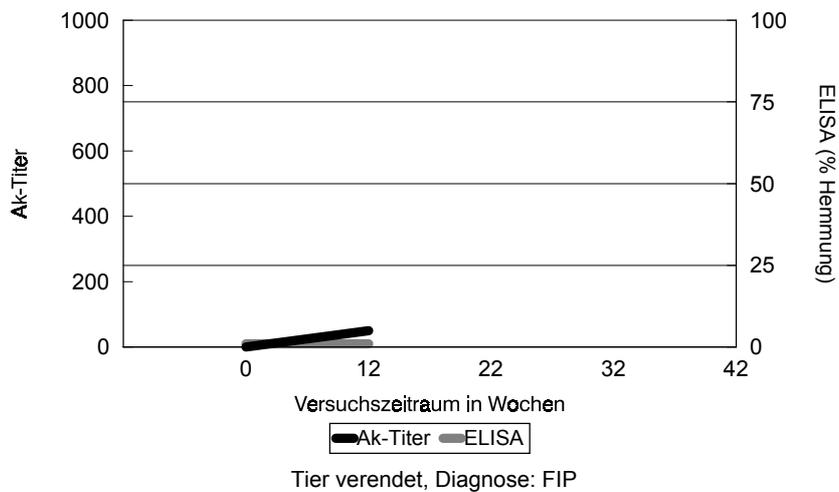
SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1452



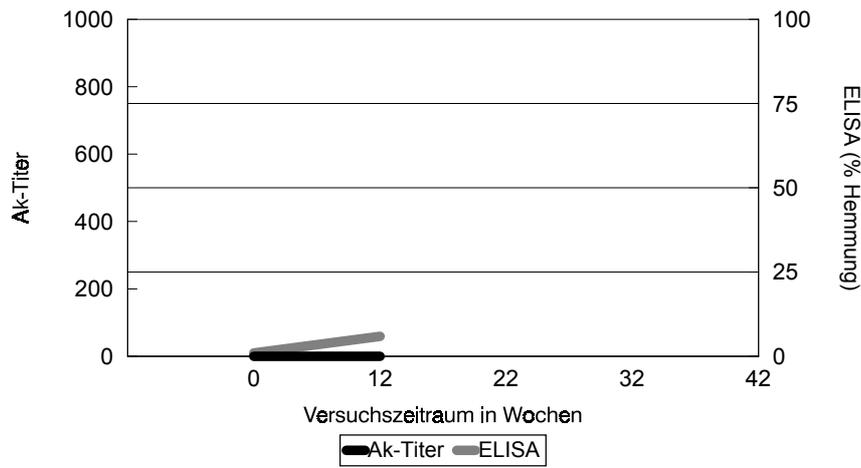
SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1401



SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1397

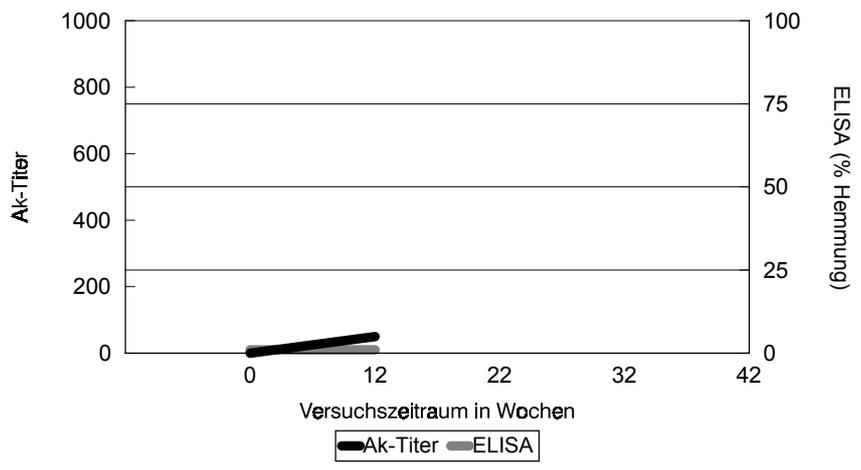


SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1391



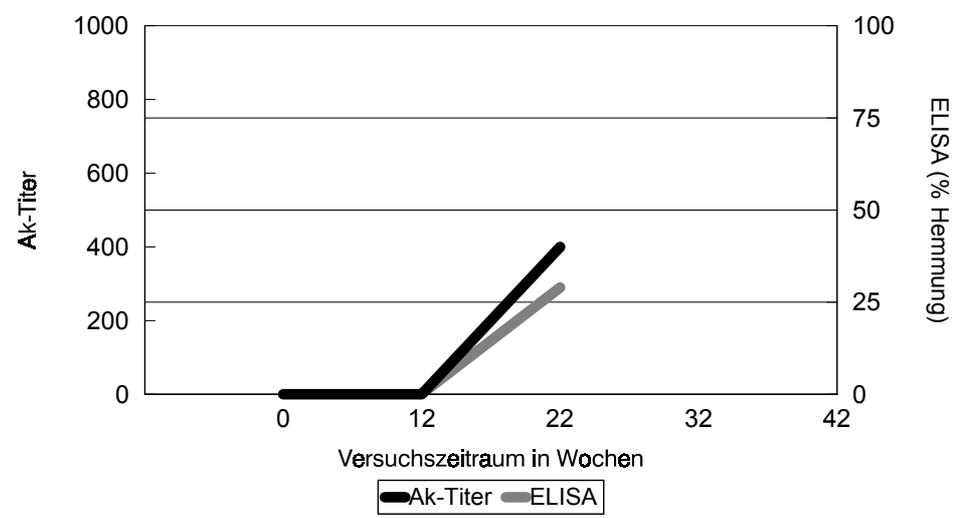
Tier verendet, Diagnose: FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1437



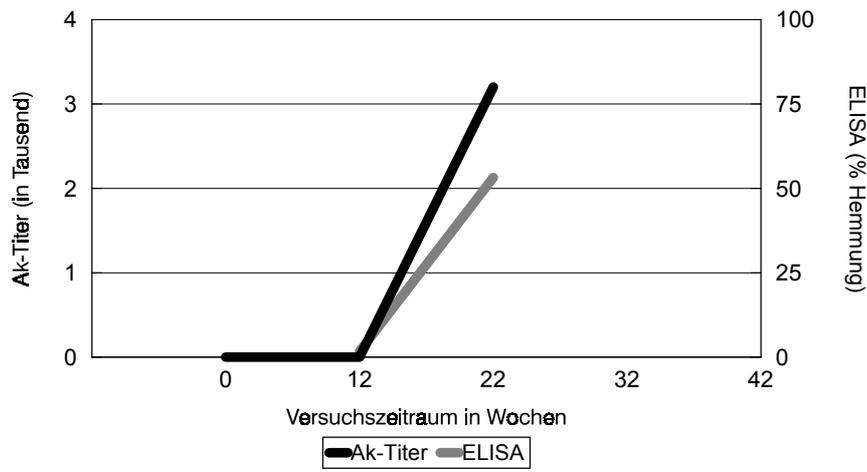
Tier verendet, Diagnose: FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1430



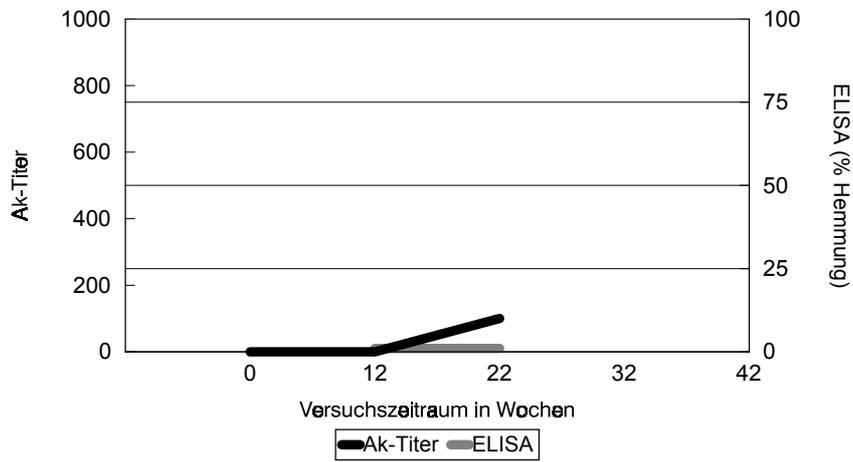
Tier plötzlich verendet, Diagnose: keine FIP, Pleuritis (Nocardiose)

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1399



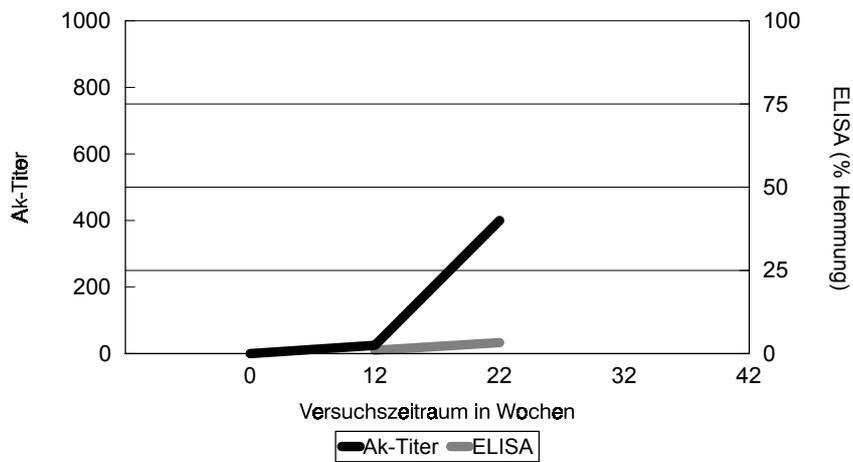
Tier verendet, Diagnose: FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1409



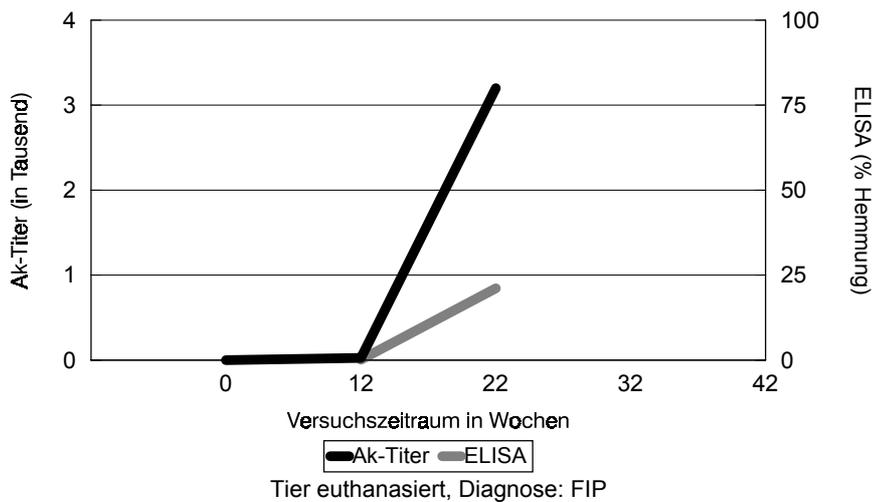
Tier verendet, Diagnose: FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1431

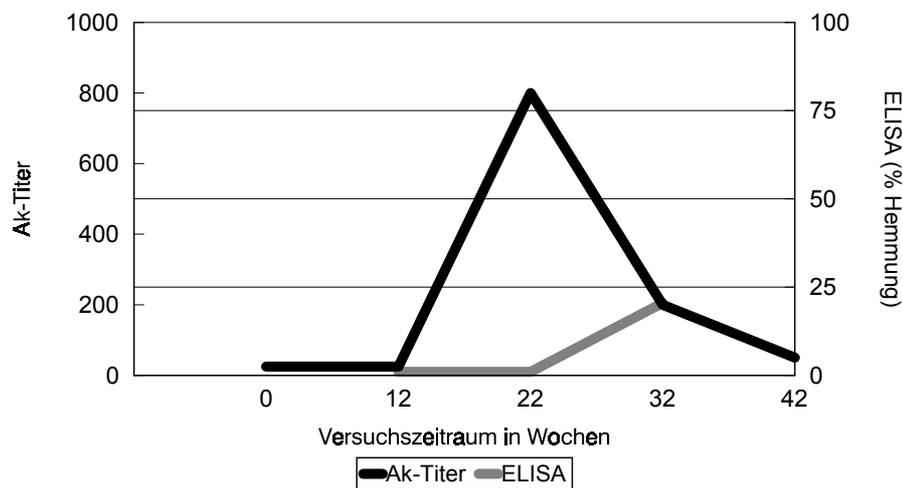


Tier euthanasiert, Diagnose: FIP

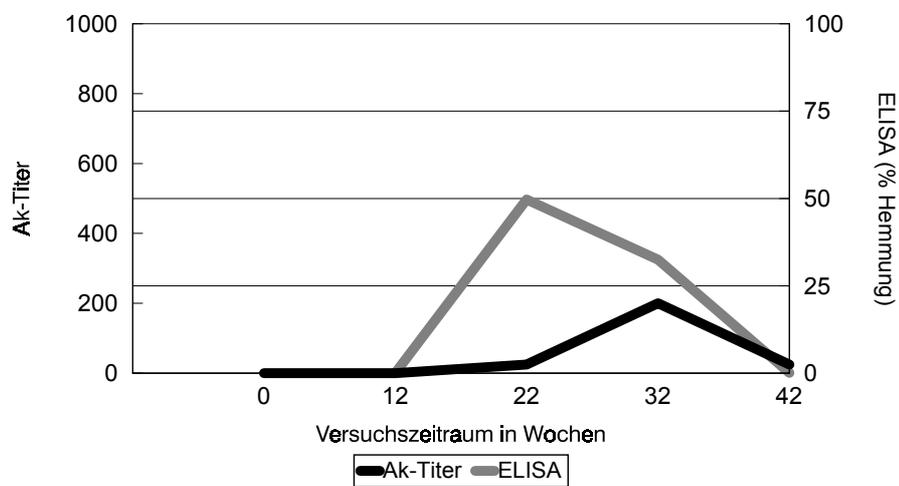
SPF-Kontroll-Katze Nr. 1424



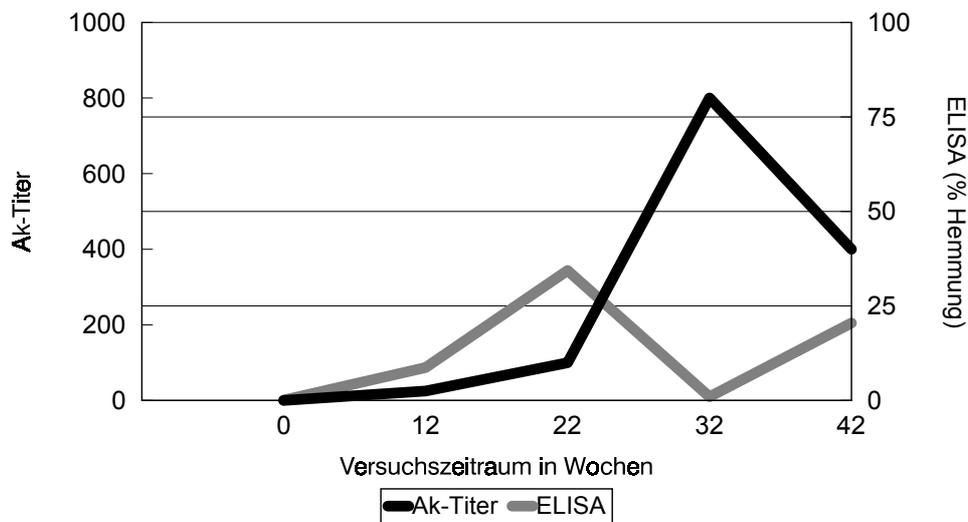
SPF-Kontroll-Katze Nr. 1405



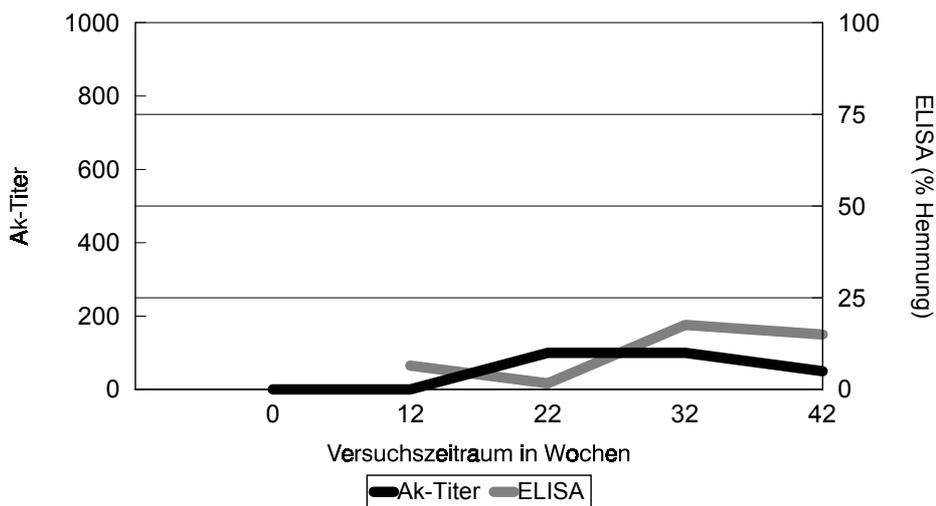
SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1441



SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1448

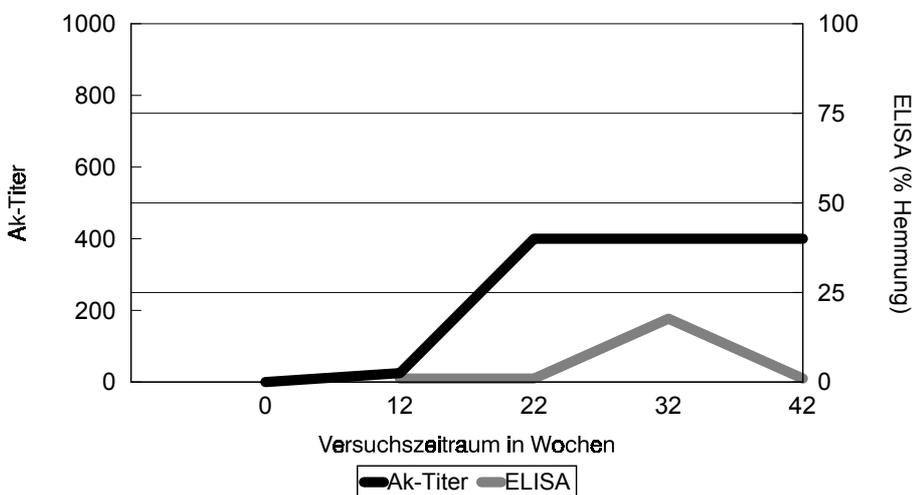


SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1456



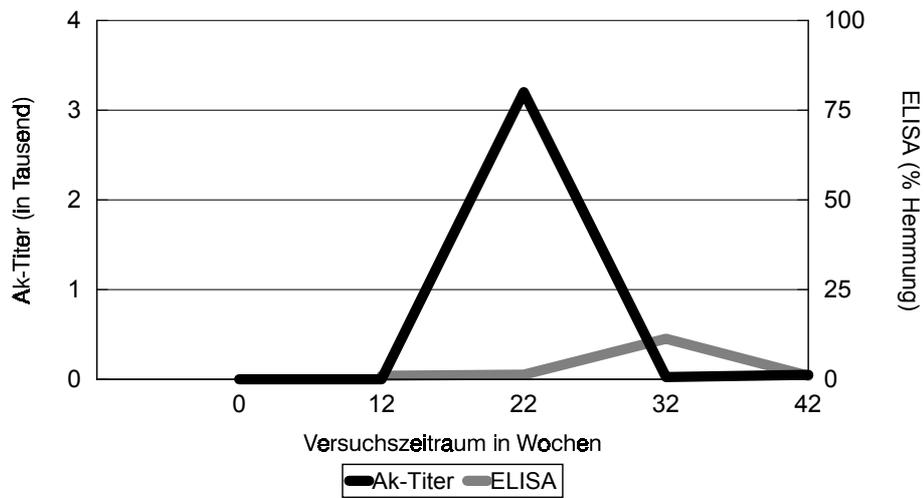
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1432



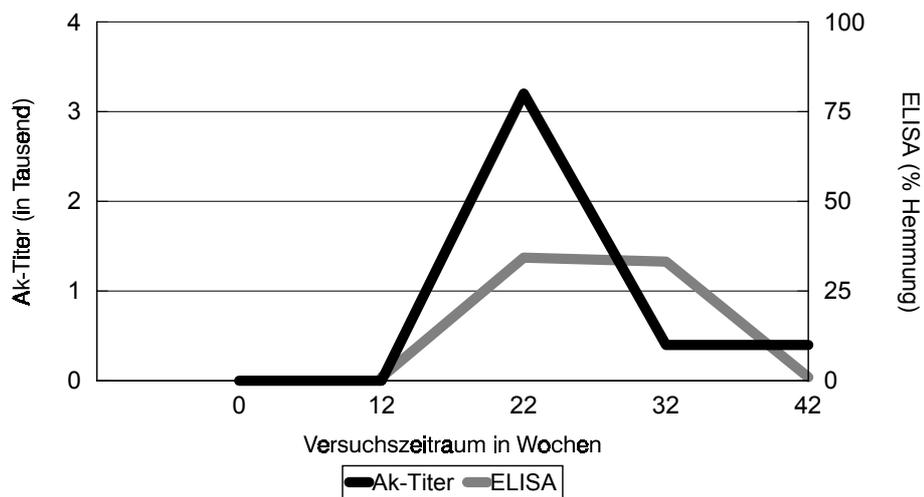
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1425



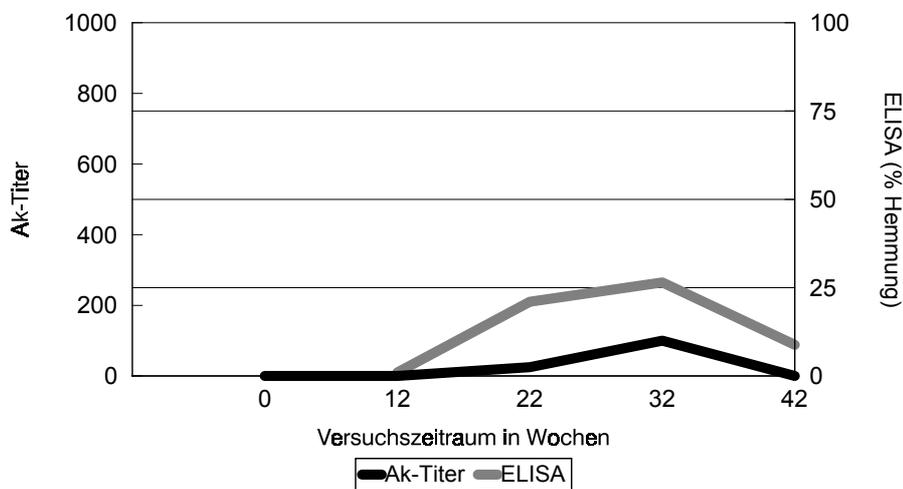
Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1442



Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

SPF-Kontroll-Katze Nr. H6 1455



Tier am Versuchsende euthanasiert, keine FIP

9.3 Lösungen, Puffer und Bezugsquellen

9.3.1 ELISA

Für den ELISA benötigte Lösungen, Seren und Antikörper

CoatingBuffer (für die Verdünnung des FIP-Antigens; pH 9,4)

Natriumtetraborat x 10 H ₂ O	38,12	g
Aqua bidest.	ad 1000,00	ml

Die Lösung ist mehrere Wochen bei Raumtemperatur haltbar.

Präzipitationsreagenz (zur Ausfällung der Immunkomplexe, pH 8,3-8,5)

Polyethylenglykol (PEG; MW 8000)	25,00	g
Borsäure	6,18	g
Natriumtetraborat x 10	9,54	g
NaCl	0,49	g
Aqua bidest.	ad 1000,00	ml

Phosphate-buffered saline (PBS, pH 7,2)

NaCl	7,50	g
KCl	0,20	g
KH ₂ PO ₄	0,20	g
Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O	1,40	g
Aqua bidest.	ad 1000,00	ml

Blockierungslösung (pH 7,1-7,2)

Polyvinyl-Alkohol (PVA; MW 13000-23000)	10,00	g
PBS	1000,00	ml

Zum Lösen des PVA empfiehlt sich eine konstante Erwärmung auf einem beheizbaren Magnetprüher. Die Lösung wird anschließend durch einen 0,45 µm Filter filtriert.

Verdünnungslösung

(Verdünnung von präzipitierten Serum- bzw. Exsudatproben und Antikörperlösungen)

Blockierungslösung	950	ml
Fetales Kälberserum (FKS)	50	ml

Waschlösung (10 x)

NaCl	75,00	g
KCl	2,00	g
KH ₂ PO ₄	2,00	g
Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O	14,40	g
Tween 20	5,00	g
Aqua bidest	ad 1000,00	ml

Verdünnte Waschlösung sollte einen pH-Wert von 7,2 aufweisen.

FIPV-Antigen (FIP-Virus gereinigt von W. Herbst, Gießen)

Verdünnung 1:300

Positiv-Kontrollserum

Die Positiv-Kontrollseren wurden von Katzen gewonnen, die an FIP erkrankt waren (Hemmung > 25 %) und wurde vom Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt.

Negativ-Kontrollserum

Als Negativ-Kontrollserum diente gepooltes Pferdeserum.

Monoklonaler Antikörper (mAk) gerichtet gegen das E1-Protein des FIPV (IgG1)

Der monoklonale Antikörper sollte bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ gelagert werden.

Peroxidase-gekoppeltes Ziege anti Maus-IgG

Das Enzymkonjugat sollte bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ gelagert werden.

ABTS/H₂O₂-Lösung (Peroxidase-Substrat für ELISA)

Zitronensäure	1,15	g
Aqua bidest	ad 38,00	ml
Der pH-Wert wird mittels 40%iger NaOH auf 4,2 eingestellt.		
ABTS (2',2'-Azino-bis-(3-Ethylbenz-Thiazolin-Sulfonsäure))	4,4	mg
Unmittelbar vor Gebrauch 5,6 µl 30%iges H ₂ O ₂ zugeben		

Stop-Lösung

Zitronensäure	1,92	g
NaN ₃	0,01	g
Aqua bidest	100,00	ml
Tween 20	0,10	ml

9.3.2 PCR**50 x TAE**

Tris	242	g
Essigsäure conc. (Eisessig)	57,1	ml
EDTA	37,2	g
ad 1 l Aqua bidest		

Für den Gebrauch 1 : 50 in Aqua bidest verdünnen.

9.3.4 Bezugsquellen**Aldrich GmbH & Co. KG, Steinheim**

Polyethylenglycol (PEG) MW 8000

Polyvinylalkohol (PVA) MW 13000-23000

American National Can™, Greenwich, C.T. 06836, USA

Parafilm, Laboratory film

Binding-site, Heidelberg

Fluoreszein-Isothiocyanat [FITC]-markiertes Anti-Katzen-IgG

Carl Roth KG Chemische Fabrik, KarlsruheRoti-Histol[®]

Citronensäure

Customs Monoclonals International, Sacramento, USA

Maus anti-felines Coronavirus (clone FCV 3-70)

DIANOVA GmbH, Hamburg

Maus Peroxidase anti-Peroxidase

Ratte anti-Maus IgG

Target unmasking fluid

E. Merck, Darmstadt

Borsäure krist., reinst

Fluka Feinchemikalien, Neu Ulm

Haematoxylin

Kaliumdihydrogenphosphat (KH₂PO₄)

NaCl

KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-ElsenrothKabevette[®]**Life Science International, Frankfurt/Main**Coverplates[™]**Menzel Gläser, Braunschweig**

SuperFrost*/Plus-Objektträger

Nunc GmbH, Wiesbaden

Immunoplatte

SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht

Monovette[®], Multivette[®]

Serva Feinbiochemica GmbH & Co. KG, Heidelberg

Tween 20

Sigma-Aldrich Vertriebs GmbH, Deisenhofen

ABTS, kristallin

Vogel GmbH & Co KG, Gießen

Vogel-Histo-Comp[®]

9.5 Abkürzungen

ADE	Antibody-dependent enhancement (Antikörpervermittelte Verstärkung)
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
BCV	Bovines Coronavirus
CCV	Canines Coronavirus
CV	Coronavirus
DIC	disseminierte intravasale Koagulopathie
DNase	Desoxyribonuklease
FECV	Felines enterales Coronavirus
FeLV	Felines Leukämievirus
FIV	Felines Immundefizienzvirus
FIPV	Felines Infektiöses Peritonitisvirus
GCPV	Good Clinical Practice for Conduct of Clinical Trials for Veterinary Medicinal Products
HCV	Humanes Coronavirus
HEV	Hämagglutinierendes Enzephalomyelitisvirus
IBV	Infektiöse Bronchitisvirus
MHV	Mäusehepatitisvirus
RbCV	Kaninchen Coronavirus
RECV	Enterales Kaninchen Coronavirus
SDAV	Sialodakryadenitisvirus
TCV	Turkey Coronavirus
TGEV	Transmissibles Gastroenteritisvirus des Schweines
PFU	plaque forming units

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. M. Reinacher für die Überlassung des Themas, sowie für seine Betreuung. Ohne seine grenzenlose Geduld wäre eine Fertigstellung der Arbeit ganz sicher nicht möglich gewesen.

Der Firma Pfizer danke ich für die Möglichkeit der Bearbeitung des Projektes und die materielle Unterstützung.

Ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir in jeder Phase dieser Zeit Rückhalt und Unterstützung gaben.

Ich danke Frau Dr. Anja Kipar für ihre stetige freundliche Unterstützung, ihre konstruktive Kritik und Diskussionsbereitschaft. Ich danke der ganzen Belegschaft der damaligen Lehr- und Versuchsstation Liebertwolkwitz, dem kleinen und dem großen Labor der Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig, insbesondere Frau Wipplinger. Ich danke aus der Veterinär-Pathologie Jürgen, Kernt, Steffi, Cora, Matthias, Isabell, Falk und all`den anderen nicht namentlich genannten Kollegen und Mitarbeitern.

Ich danke allen meinen Freunden, die mich tatkräftig unterstützt haben, auch wenn sie nicht alle namentlich hier erwähnt sind.

Ich danke meinem langjährigen Freund und derzeitigen Mitstreiter Stephan ganz herzlich.

Ich bedanke mich für die unkomplizierte Zusammenarbeit beim Tierheim Bitterfeld, besonders bei Herrn Dr. Schreier, beim Tierheim Dresden, hier besonders bei Frau Meyer.

Mein herzlichster Dank gilt meiner liebsten Daniela, ihrem Verständnis, das sie jederzeit für mich hatte und für die Zeit, die sie mir immer und immer wieder für diese Arbeit einräumte.