

Aus dem Institut für Virologie  
der Tierärztlichen Hochschule Hannover

---

**Nachweis feliner Coronavirus-RNA im Blut  
von klinisch gesunden sowie an  
Feliner Infektiöser Peritonitis erkrankten Katzen**

**INAUGURAL - DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
**DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE**  
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von  
**KATJA LIESSMANN**  
aus Nienburg

Hannover 2000

Wissenschaftliche Betreuung: : PD Dr. L. Haas

1. Gutachter: PD Dr. Haas

2. Gutachter: Prof. Dr. Leibold

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2000

Die Arbeit wurde im Labor LABOKLIN in Bad Kissingen durchgeführt.

*Meinen Eltern*



<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	9
<b>2.</b>	<b>Literaturübersicht</b>	11
2.1	Feline Infektiöse Peritonitis	11
2.1.1	Ätiologie	11
2.1.1.1	Coronaviren	13
2.1.1.2	Feline Coronaviren	13
2.1.2	Epizootiologie	16
2.1.3	Pathogenese	18
2.1.4	Symptomatik	20
2.1.5	Laborbefunde	22
2.1.5.1	Hämatologie und Klinische Chemie	22
2.1.5.2	Bestimmung des FCoV-Antikörpertiters	23
2.1.5.3	Reverse Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR)	24
2.1.6	Diagnostik	33
2.1.7	Differentialdiagnosen	34
2.1.8	Therapie	35
2.1.9	Prävention und Kontrolle	36
2.1.10	Vakzination	38
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b>	41
3.1	Tiere	41
3.1.1	Patientenklassifizierung	41
3.2	Nachweis von Coronavirus-RNA in Plasma, Aszites oder Vollblut klinisch gesunder oder klinisch kranker Katzen	44
3.2.1	RNA-Isolierung	44
3.2.1.1	RNA-Isolierung aus Plasma und Aszites	44
3.2.1.2	RNA-Isolierung aus Vollblut	45
3.2.2	Reverse Transkription	47
3.2.3	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	48
3.2.4	Nachweis der Amplifikate (Gelelektrophorese)	51
3.3	Zusätzliche Untersuchungen	52
3.3.1	Coronavirusantikörpertest	52
3.3.2	Gesamtproteinbestimmung	53
3.3.3	Eiweißelektrophorese	53
3.3.4	FeLV- und FIV-Test	54
3.3.5	Zusätzliche Blutuntersuchungen	55
3.4	Datenerfassung und Statistische Auswertung	56

<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	59
4.1	Signalement	59
4.2	Anamnese	63
4.3	Symptome	63
4.4	Laboruntersuchungen	66
4.5	PCR-Ergebnisse	76
4.6	Weiteres Schicksal der Katzen	83
4.7	Pathologische Untersuchung	83
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	84
5.1	Patientenklassifizierung	84
5.2	Signalement	84
5.3	Anamnese	86
5.4	Symptome	87
5.5	Laboruntersuchungen	89
5.5.1	Hämatologie und Klinische Chemie	89
5.6	PCR-Ergebnisse	94
5.7	Schicksal der Katzen	97
5.8	Ausblick	97
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	99
<b>7.</b>	<b>Summary</b>	101
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	103
<b>9.</b>	<b>Tabellarischer Anhang</b>	123

## *Abkürzungen*

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BUN	blood urea nitrogen (Harnstoff)
Ca	Calcium
CCV	Canines Coronavirus
CREA	creatinine (Kreatinin)
cDNA	complementary desoxyribonucleic acid (komplementäre Desoxyribonukleinsäure)
d.h.	das heißt
DNA	desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay (enzymgebundener Immuntest)
FCoV	Feline Coronaviren
FECV	Feline enterale Coronaviren
FeLV	Felines Leukosevirus
FIP	Feline Infektiöse Peritonitis
FIV	Felines Immundefizienz Virus
g	Gramm
GLDH	Glutamatdehydrogenase
h	hora (Stunde)
HCV	Humanes Coronavirus
IFA	Immuno-Fluoreszenz-Assay (Immunfluoreszenztest)
IU	international units (Internationale Einheiten)
K	Kalium
kb	Kilobasen
kDa	Kilodalton
l	Liter
M	Mol
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol
µl	Mikroliter
µM	Mikromol
mRNA	messenger ribonucleic acid (Boten-Ribonukleinsäure)
Na	Natrium
ORF	Open Reading Frame (offenes Leseraster)
P	Phosphor
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)

RT	Reverse Transkriptase
sec	Sekunde
Tab.	Tabelle
TGEV	Transmissibles Gastroenteritis Virus
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV-Licht	ultraviolettes Licht
z. B.	zum Beispiel



## ***1. Einleitung***

Fast 40 Jahre nach ihrer Erstbeschreibung ist die feline infektiöse Peritonitis (FIP) noch immer eine Erkrankung, die dem praktizierenden Tierarzt viele Probleme bereitet. Es handelt sich um eine progredient und meist tödlich verlaufende Viruserkrankung der Katze, der eine immunbedingte Pathogenese zugrunde liegt. Eine sichere *intra vitam*-Diagnose, gerade der nicht-effusiven Form, ist schwierig, da es keinen zuverlässigen diagnostischen Test gibt und die Krankheitsanzeichen unspezifisch sein können. Die Therapie ist auf die Symptomatik beschränkt, die Prognose jedoch sehr schlecht und die Wirksamkeit der auf dem Markt vorhandenen Vakzine ist umstritten.

Das auslösende Agens ist ein virulentes felines Coronavirus (FCoV). Feline Coronaviren können eine Enteritis mit fehlenden bis leichten Krankheitssymptomen hervorrufen (felines Enteritis-Virus, FECV), können aber ebenso die fatale FIP (FIPV) auslösen. Diese beiden Viren lassen sich morphologisch und serologisch nicht unterscheiden, was die diagnostischen Möglichkeiten sehr erschwert.

Man ging lange davon aus, dass avirulente FIP-Virusstämme nur auf den Darmtrakt und regionale Lymphknoten beschränkt sind, während sich virulente Coronaviren systemisch verbreiten, und so deren Nachweis in Blut, Plasma und Aszites eine Aussage zulassen würde, ob die Katze an einer FIP erkrankt ist. Es wurde daher eine Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) entwickelt, durch die man FCoV-RNA in kleinsten Mengen direkt in Kot, Geweben und Körperflüssigkeiten von Katzen nachweisen kann (HERREWEGH et al. 1995a). Offenbar sind die Verhältnisse jedoch komplizierter als angenommen worden war (s. Literaturübersicht).

Entsprechende Untersuchungen wurden in Deutschland noch nicht durchgeführt. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde Plasma, Aszites oder Vollblut von klinisch gesunden und klinisch FIP-verdächtigen Katzen mittels einer nested RT-PCR auf die Anwesenheit von Coronaviren untersucht, um folgenden Fragen nachzugehen:

- 1 Bei wieviel Prozent FIP-verdächtiger Katzen wird die Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion einen positiven Nachweis von genomischer Coronavirus-RNA erbringen ?
- 2 Wird die Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion auch bei klinisch gesunden Katzen einen positiven Nachweis von genomischer RNA erbringen, und wenn ja, bei wieviel Prozent ?
- 3 Wieviel Prozent der PCR-positiven kranken Tiere zeigen einen Antikörpertiter von  $\geq 400$  und wieviel Prozent der PCR-negativen gesunden Tiere besitzen auch keine Antikörper?

Abschließend sollte der Nutzen einer RT-PCR als diagnostische Nachweismethode im Sinne eines direkten Erregernachweises diskutiert werden.

## **2    *Literaturübersicht***

### **2.1    *Feline Infektiöse Peritonitis***

#### **2.1.1    *Ätiologie***

Die frühen 60iger Jahre werden häufig als Zeitpunkt der Erstbeschreibung dieser Erkrankung betrachtet (HOLZWORTH 1963, FELDMANN u. JORTNER 1964). JACOB berichtete aber schon 1912/13 das erste Mal von einer Katze mit Bauchhöhlenerguß, Fieber und Augenveränderungen (JACOB 1914).

1966 wurde der infektiöse Charakter der Krankheit durch WOLFE und GRIESEMER bewiesen. Sie inokulierten Bauchhöhlenflüssigkeit von erkrankten Katzen in spezifisch pathogenfreie Katzen, welche daraufhin erkrankten. ZOOK et al. (1968) und WARD et al. (1968) zeigten, dass es sich um ein virales Agens handelte, wobei die Morphologie typisch für ein Coronavirus war.

Seitdem wurde die Erkrankung, ihre Pathogenese und Ätiologie intensiv erforscht (PEDERSEN 1976a, 1983a u. b, 1987a, BARLOUGH u. STODDART 1986, 1990, OLSEN, 1993). Insbesondere ist das Wissen über die molekulare Biologie der FCoV's in den letzten 10 Jahren deutlich gewachsen (DE GROOT u. HORZINEK 1995).

##### **2.1.1.1    *Coronaviren***

Die Familie Coronaviridae bildet mit der Familie Arteriviridae die Ordnung Nidovirales. Zur Familie der Coronaviridae gehören die Gattungen Coronavirus und Torovirus. Nach CAVANAGH et al. (1995) beinhaltet die Familie 13 Virusspezies.

Es handelt sich um behüllte einzelsträngige RNA-Viren, die eine pleomorphe bis sphärische Form haben und im Durchmesser 60-200 nm groß sind.

Das Genom ist positiv-strängig, nicht segmentiert und besteht aus ca. 30.000 Nukleotiden.

Coronaviren besitzen ein ungewöhnlich großes Polymerase-Gen, das ca. 20.000 Nukleotide umfasst. Es sind hier zwei offene Leseraster, genannt Pol 1a und Pol 1b, vorhanden. Das Polymerasegen befindet sich am 5`- Ende und kodiert für ein Nichtstrukturprotein. Zu den Strukturproteinen zählen das Oberflächen-Protein (S), das Nukleokapsidprotein (N) und ein integrales Membranprotein (M). Weiterhin gibt es einige weniger gut charakterisierte Gene.

Auf der Oberfläche besitzen die Coronaviren ca. 20 nm lange Projektionen, auch Peplomere genannt, die ihnen ihr typisches Aussehen verleihen (SIDDELL 1995).

Coronaviren sind empfindlich gegenüber Hitze, Fettlösungsmitteln, nichtionischen Detergentien, Formaldehyd und oxidierenden Agenzien (PEDERSEN 1976b, PEDERSEN 1987a). Sie verursachen verschiedene Erkrankungen bei Säugetieren und Vögeln, wie die Transmissible Gastroenteritis des Schweins, Durchfallerkrankungen beim Rind und die Infektiöse Bronchitis des Huhns.

Coronaviren werden in drei antigene Gruppen eingeteilt:

- I:     Humanes Coronavirus (HCV 229E)  
        Transmissibles Gastroenterisvirus (TGEV)  
        Virus der porcinen epidemischen Diarrhöe (PEDV)  
        Canines Coronavirus (CCV)  
        Feline Coronaviren (FCoV)
  
  - II:    Humanes Coronavirus (HCV OC43)  
        Maus Hepatitis-Virus (MHV)  
        Bovines Coronavirus (BCV)  
        Porcines hämagglutinierendes Enzephalomyelitis-Virus (HEV)  
        Puten-Coronavirus (TCV)
  
  - III:   Infektiöses Bronchitis Virus (IBV)
- (nach SIDDELL 1995)

### 2.1.1.2 Feline Coronaviren (FCoV)

FCoVs besitzen ein 45 kDa Nukleokapsidprotein (N), ein 25-30 kDa Matrixprotein (M) und ein 180-210 kDa Peplomerprotein (S) ( HORZINEK et al. 1982, BOYLE et al. 1984, DE GROOT et al. 1987). Das positiv-strängige RNA-Molekül ist ca. 30 kb lang. Die M- und N Gene sind 3,8 und 2,8 kb lang (DE GROOT et al. 1987), während das S-Gen 9,6 kb lang ist (DE GROOT et al. 1987). Das Genom besitzt mehrere offene Leseraster (open reading frames, ORFs). FCoV und CCV haben zwei zusätzliche ORFs, 7a und 7b (DE GROOT et al. 1988, VENNEMA et al. 1992), wohingegen beim TGEV ORF 7b fehlt (KAPKE u. BRIAN 1986).

REYNOLDS et al. (1977), WITTE et al. (1977), PEDERSEN et al. (1978), HORZINEK et al. (1982) stellten die Verwandtschaft zum Transmissiblen Gastroenteritis-Virus des Schweins (TGEV), zum caninen Coronavirus (CCV) und zum humanen Coronavirus 229 E (HCV 229 E) fest.

Die genomische Organisation ist mit der des caninen Coronavirus Insvac-1 identisch (HORSBURGH et al. 1992). MC ARDLE et al. (1992) gelang es, ähnliche Krankheitssymptome wie bei der FIP durch das CCV Insvac-1 bei Katzen auszulösen.

FCoVs sind schwer zu isolieren, da sie ein schlechtes Wachstum *in vitro* zeigen. OSTERHAUS et al. (1978 a u. b) gelang es, die Viren in Gehirnzellen von saugenden Mäusen, Ratten und Hamstern anzuzüchten. PEDERSEN (1976b) gelang die Anzüchtung in Makrophagenkulturen. Später konnten die Viren dann auch in feline fetalen Zellen vermehrt werden (O'REILLY et al. 1979, BLACK 1980, EVERMANN et al. 1981; PEDERSEN et al. 1981a). Dabei handelte es sich meist um Crandell feline Nierenzellen (CrFK), feline embryonale Lungenzellen (FEL) (O'REILLY et al. 1979) und *felis catus whole fetus* (fcwf)-Zellen (PEDERSEN et al. 1981a).

FCoVs werden aufgrund ihrer Neutralisationsverhaltens *in vitro* in mindestens zwei Serotypen eingeteilt (PEDERSEN et al. 1984). Serotypgruppe I - FCoV's können FCoV's ihrer eigenen Gruppe neutralisieren, aber nicht die der anderen Gruppe und umgekehrt. Die Typ II - FCoV's sind mehr dem TGEV und CCV verwandt. Dieses wurde durch Versuche mit monoklonalen Antikörpern unterlegt (HOHDATSU et al. 1991, 1992). Außerdem

unterscheiden sie sich in ihrem Wachstumsverhalten in Zellkulturen. Typ I wächst schlecht in Zellkulturen, wobei mehr als 90 % der Infektiosität zellassoziiert zu sein scheint (PEDERSEN et al. 1984, PEDERSEN u. FLOYD 1985, HOHDATSU et al. 1991c). FCoV des Typs II sind gut in Zellkulturen zu vermehren und gleichen darin eher den CCVs (PEDERSEN et al., 1984). HERREWEGH et al. (1995) folgerten auch aus ihren Versuchen in Kombination mit genetischen und immunologischen Daten anderer Autoren (HOHDATSU et al. 1991b u. c, MOTOKAWA et al. 1995, PEDERSEN et al. 1984, VENNEMA et al. 1995), dass Typ II - FCoVs aus CCV und Typ I - FCoV durch RNA-Rekombination entstanden sind.

Tab.1: Feline Coronavirus Isolate

Stamm	mutmaßlicher Serotyp	Referenz
FIPV UCD1	I	PEDERSEN et al. (1981a)
FIPV UCD2	I	PEDERSEN u. FLOYD (1985)
FIPV UCD3	I	PEDERSEN u. FLOYD (1985)
FIPV UCD4	I	PEDERSEN u. FLOYD (1985)
FIPV UCD5	?	PEDERSEN
FIPV UCD6	?	PEDERSEN
FIPV UCD8	I	HICKMANN et al. (1995)
FIPV UCD9	I	POLAND et al. (1996)
FIPV UCD10	I	POLAND et al. (1996)
FECV RM	I	HICKMANN et al. (1995)
FECV UCD	I	PEDERSEN et al. (1981b)
FIPV TN-406	I	BLACK (1980)
FIPV Yayoi	I	HAYASHI et al. (1981)
FIPV Dahlberg	?	OSTERHAUS et al. (1978a)
FIPV KU-2	I	HOHDATSU et al. (1991c)
FIPV 79-1146	II	MCKEIRNAN et al. (1981)
FIPV NOR15 (DF2)	II	EVERMANN et al. (1981)

FECV 79-1683	II	MCKEIRNAN et al. (1981)
FIPV Cornell-1	II	SCOTT (1987)
FIPV KU-1	II	HOHDATSU et al. (1991c)
FIPV Wellcome	?	O'REILLY et al. (1979)

---

(modifiziert nach DE GROOT u. HORZINEK 1995)

Coronaviren zeigen eine hohe Mutationsrate, welche in der Größenordnung zwischen  $10^{-4}$  und  $10^{-5}$  Basensubstitutionen pro Basenstelle liegen (BILSEN u. NICHOL 1990, HOLLAND et al. 1992, KINNUNEN et al. 1992, LEE et al. 1992, SANCHEZ et al. 1992, STEINHAUER u. HOLLAND 1986, WARD u. FLANEGAN 1992). Viele RNA-Viren sind nicht homogen, sondern bestehen aus einer Gruppe von Viren mit nahe verwandten Genomen, die sich in einer oder mehreren Basenstellen unterscheiden. EIGEN und SCHUSTER führten dafür den Begriff "Quasispezies" ein (EIGEN u. BIBRICHER 1988, EIGEN et al. 1981, EIGEN u. SCHUSTER 1979). Diese stellen ein Spektrum von Mutanten dar, die durch eine "Mastersequenz" dominiert werden. Diese Quasispezies-Natur wurde für eine Reihe von RNA-Viren nachgewiesen, z.B. das Vesikuläre Stomatitis-Virus (VSV), das Maul- und Klauenseuche Virus (FMDV), das Poliovirus, das Grippevirus und das Humane Immundefizienz-Virus (HIV-1) (GOODENOW et al. 1989, HOLLAND et al. 1992, KINNUNEN et al. 1992, SOBRINO et al. 1986, WARD u. FLANEGAN 1992, WEBSTER et al. 1982).

Es wurde erst angenommen, dass zwei FCoV-Arten existieren. Zum einen das häufig vorkommende FECV, das keine Erkrankung oder höchstens eine leichte Enteritis hervorruft und nur im Darmtrakt und den regionalen Lymphknoten vorkommt. Die Isolierung zweier avirulenter Virusstämme schien diese These zu unterstützen (PEDERSEN et al. 1981b, MCKEIRNAN et al. 1981). Zum anderen das seltenere FIPV, das eine tödliche Krankheit auslöst und sich in Monozyten und Makrophagen gut vermehrt (WEISS u. SCOTT 1981b). Nachdem man erkannt hatte, dass auch FIPV-Stämme in ihrer Virulenz variieren (PEDERSEN u. FLOYD 1985), schlug man vor, alle Stämme unter dem Begriff "Feline Coronaviren (FCoV)" zusammenzufassen (BARLOUGH u. STODDART 1990, ADDIE u.

JARRETT 1992b).

DE GROOT u. HORZINEK (1995) vermuteten, dass FIP eine seltene Manifestation einer inapparenten häufigen Coronavirus-Infektion sei. Viele Versuche wurden gemacht, um FIPV und FECV unterscheiden zu können, mit monoklonalen Antikörpern, cDNA-Sonden, PCR, synthetischen Peptiden oder bakteriellen Fusionsproteinen (FISCUS u. TERAMOTO 1987, GAMBLE et al. 1997, HOHDATSU et al. 1991, MARTINEZ u. WEISS 1993, SUITER et al. 1995), aber ohne Erfolg. HERREWEGH et al. (1995c) zeigten, dass FECV 79-1683 und FECV UCD mehr Nukleotidsequenzen mit FIPV Stämmen gemeinsam haben als miteinander. VENNEMA et al. (1995, 1998) konnten dies bestätigen und wiesen darüber hinaus noch nach, dass regionale Varianten von FECV und FIPV in besonders vielen Nukleotidsequenzen übereinstimmen. POLAND et al. (1996) zeigten, dass in immungeschwächten Katzen avirulente FCoV's zu krankheitsverursachenden Mutanten werden können. VENNEMA et al. (1998) fanden schließlich deutliche Hinweise, dass FIP-Viren direkt aus FECV durch Mutation hervorgehen können. Hierbei scheinen Deletionen im 3c- und/oder 7b-Gen eine wichtige Rolle zu spielen. Das würde bedeuten, dass im Gegensatz zum FECV die FIP-Viren in der Mehrzahl der Fälle nicht übertragen würden, sondern jeweils *de novo* in einer FECV-infizierten Katze entstehen.

### **2.1.2 Epizootiologie**

Feline Coronaviren kommen weltweit vor (HORZINEK u. OSTERHAUS 1979). An FIP können Hauskatzen, aber auch Löwen (COLBY u. LOW 1970), Leoparden (TUCH et al. 1974), Europäische Wildkatzen ( WATT et al. 1993), Karakale und Luchse (POELMA et al. 1971) sowie Geparden (O`BRIEN et al. 1985) erkranken.

Coronaviren sind sehr verbreitet in Katzenpopulationen. 90 % der Katzen in Katzenzuchten weisen einen positiven AK-Titer auf und 10-50 % der Katzen in Einzelkatzenhaushalten (PEDERSEN 1976c, LOEFFLER et al. 1978, SPARKES et al. 1991 u. 1992, ADDIE u. JARRETT 1992a u. b). An FIP erkranken jedoch nur 5-10 % der seropositiven Katzen (PEDERSEN 1976b, ADDIE u. JARRETT 1992a u. b). Männliche und weibliche Tiere sind



in gleicher Frequenz betroffen (FOLEY et al. 1997b). Dies widerspricht früheren Untersuchungen, bei denen mehr männliche Tiere, vor allem unkastrierte, gefunden wurden (ROHRER 1992). Junge Katzen zwischen 6 Monaten und 2 Jahren oder ältere Tiere ab 14 Jahren erkrankten am häufigsten (PEDERSEN 1976c, ADDIE u. JARRETT 1992a).

Die Infektion wird wahrscheinlich auf dem fäkal-oralen Weg übertragen (ADDIE u. JARRETT 1992a). Coronaviren können aber auch durch Personen, z.B. mit der Kleidung, verschleppt werden (PEDERSEN 1987b).

Nach den vorangegangenen Ausführungen über Coronaviren geht man von einem Trägerstatus (*carrier*-Tiere) mancher Katzen aus. Es ist erwiesen, dass Coronaviren persistierende Infektionen verursachen, die nicht, oder erst nach einer gewissen Zeit vom Immunsystem der Katze beherrscht werden können. Man fand in Versuchen heraus, dass infizierte Tiere über lange Zeit keine Symptome zeigten und beispielsweise erst nach einer Infektion mit dem feline Leukosevirus die Krankheit zum Ausbruch kam (PEDERSEN u. FLOYD 1985). Andere Autoren wiesen mit Hilfe einer PCR Virusgenom in Körperflüssigkeiten, Kot und Geweben bei gesunden Katzen nach (HERREWEGH et al. 1995a, EGBERINK et al. 1995, FEHR et al. 1996, GUNN-MOORE et al. 1998). Diese Katzen waren zum Teil auch nach Monaten noch Virusträger und erkrankten nicht.

Ein besonderer Risikofaktor, an einer FIP zu erkranken, ist neben dem Alter auch eine genetisch bedingte Empfänglichkeit. FOLEY und PEDERSEN (1996) wiesen in bestimmten Blutlinien eine Häufung von FIP-Fällen nach.

Außerdem zeigt sich eine saisonale Abhängigkeit, besonders im Herbst und Winter erkranken mehr Katzen (FOLEY et al. 1997b, HICKMANN 1995).

Stressfaktoren wie große Katzenbestände, Verbringen in eine andere Umgebung, tierärztliche Eingriffe (PEDERSEN 1988, FEHR et al. 1997) oder immunsuppressive Erkrankungen wie die feline Leukose oder feline Immundefizienzvirusinfektion können ebenfalls das Risiko einer Erkrankung steigern (PEDERSEN 1987b). Allerdings hatte in der Studie von FOLEY et al. (1997b) keine der an FeLV erkrankten Katzen eine FIP entwickelt. Es war hier auch kein Unterschied in der Anzahl der FIP-Fälle in Bezug auf die unterschiedlichen Haltungsformen festzustellen.

### 2.1.3 Pathogenese

Die Coronavirusinfektion geht mit einer Vermehrung des Virus in Monozyten und Makrophagen einher (WARD 1970, PEDERSEN 1976a). Virulenz scheint mit der Fähigkeit, feline Peritonealmakrophagen *in vitro* infizieren zu können, zu korrelieren (DE GROOT u. HORZINEK 1995). STODDART u. SCOTT (1989) wiesen nach, dass avirulente FCoV's weniger Makrophagen in Zellkulturen als virulentere Stämme infizieren. Außerdem sind die Vermehrungsrate und die Ausbreitung geringer als bei den virulenteren FCoV's (MCKEIRNAN et al. 1987).

FIP tritt in zwei verschiedenen Formen auf. Die effusive ("feuchte") Form geht mit Flüssigkeitsansammlungen in Bauchhöhle, Brusthöhle, Herzbeutel und subkapsulärem Raum der Nieren einher, während bei der nichteffusiven ("trockenen") Form pyogranulomatöse Komplexe an den inneren Organen unter anderem in der Leber, den Nieren, den Augen und im Gehirn entstehen. Ungefähr drei Viertel der Katzen zeigen die effusive Form und ein Viertel die nichteffusive Form (HOSKINS 1993). In einigen Fällen tritt auch eine gemischte Form auf. ROHRER (1992) fand sogar bei 36 % der untersuchten Katzen die gemischte Form. Pathogenetisch bedeutsam ist die Immunreaktion der betroffenen Katze. Die humorale Immunität allein bietet keinen Schutz. Seropositive Tiere erkranken sogar schneller, und ihre Überlebenszeit ist verkürzt (PEDERSEN u. BOYLE 1980, WEISS et al. 1980, WEISS u. SCOTT 1981). PEDERSEN und BOYLE (1980) induzierten durch Gabe von IgG-Antikörpern und darauffolgender experimenteller FIPV-Infektion eine verkürzte Überlebensdauer der infizierten Katzen (*early death syndrome*).

Die Ausprägung der jeweiligen Form ist vermutlich abhängig von der Qualität der Immunantwort der betroffenen Katze. Katzen mit einer sehr schwachen zellulären, aber starken humoralen Immunantwort entwickeln die effusive FIP, während bei einer nur partiell reduzierten zellulären Immunreaktionsfähigkeit eher die pyogranulomatöse Form resultiert. Bei der gemischten Form halten sich zelluläre und humorale Immunantwort die Waage, während Tiere mit einer sehr starken zellulären Abwehr gar nicht erkranken (PEDERSEN 1987b).

Die FIP äußert sich pathohistologisch als eine immunvermittelte Vasculitis. Der

Flüssigkeitsaustritt in die Körperhöhlen wird durch die immunvermittelten vaskulären und perivaskulären Läsionen verursacht, wobei die genaue Pathogenese noch nicht geklärt ist. Einige vaskuläre Zerstörungen sind auf die Lyse von infizierten Zellen zurückzuführen, da infizierte weiße Blutzellen im Lumen, in der Intima und den Wänden von Venen sowie im perivaskulären Raum gefunden wurden (WEISS u. SCOTT 1981b). Außerdem werden Entzündungsmediatoren wie Leukotriene und Prostaglandine durch infizierte Makrophagen freigesetzt. Diese könnten eine Veränderung der vaskulären Permeabilität herbeiführen und eine zusätzliche chemotaktische Stimulation für Neutrophile und Makrophagen darstellen. Hierbei können vermehrt Entzündungsmediatoren und andere zytotoxische Substanzen freigesetzt werden, was zu einer Gewebszerstörung führen würde (WEISS et al. 1988). Andere Beobachtungen machen eher eine Immunkomplex-Pathogenese für die Läsionen der Blutgefäße verantwortlich. Ablagerung von Immunkomplexen und spätere Komplementaktivierung verursachen eine Entzündung, die sich auch auf die Blutgefäßwände erstreckt. Der daraus resultierende Gefäßschaden führt zu einer vermehrten Flüssigkeitsansammlung im Interzellularraum und eventuell zu einer Ansammlung von Exsudat im Abdominal- und Thorakalraum (DE GROOT u. HORZINEK 1995).

In den pyogranulomatösen Komplexen, die bei der trockenen FIP beobachtet werden, lassen sich Virusantigen, Immunglobuline und die Komplementkomponente C3 nachweisen (PEDERSEN u. BOYLE 1980, WEISS u. SCOTT 1981, JACOBSE-GEELS et al. 1980). In Makrophagen werden verschiedene Komplementfaktoren synthetisiert (COLTEN 1976), dadurch kommt es bei einer Makrophageninfektion zu einer vermehrten Freisetzung von Komplement, welches eine Entzündungsreaktion hervorruft, die sich auch auf die Gefäßwände erstreckt.

Zerfallene Makrophagen setzen nicht nur Komplement und Entzündungsmediatoren frei, sondern auch Virusantigen, das wiederum von Antikörpern gebunden werden kann. Immunkomplex-gebundenes Virus wird in größerer Menge von Makrophagen aufgenommen als freies Virus. Die Bindung an die Zielzellen erfolgt mit Hilfe von Fc- oder Komplementrezeptoren (CHANAS et al. 1982, BURSTIN et al. 1983, GOLLINS u. PORTERFIELD 1984, 1985, HALSTEAD u. O'ROURKE 1977, PEIRIS u. PORTERFIELD 1979, PEIRIS et al. 1981). Dieses Phänomen nennt man *antibody-dependent enhancement*

(ADE). STODDART (1989) brachte erste Beweise für das ADE bei FIP durch *in vitro*-Versuche. Dieses wurde in Versuchen von OLSEN et al. (1992), CORAPI et al. (1992), HOHDATSU et al. (1991a, 1994, 1998) mit Antisera von Katzen sowie monoklonalen Antikörpern bestätigt. ADDIE et al. (1995) konnten dieses Phänomen in Feldstudien allerdings nicht nachweisen. Seropositive Katzen, die in andere Haushalte kamen, entwickelten nicht schneller eine Krankheit, sondern schienen eher gegen eine Infektion mit FCoV geschützt zu sein.

HAAGMANS et al. (1996) fanden Zellepletionen in T-Zellen und Hinweise auf programmierten Zelltod (Apoptose) in lymphoiden Organen infizierter Katzen. Die Apoptose war auf in Aszites und Serum vorhandene Immunkomplexe zurückzuführen. Es waren nur aktivierte T-Zellen betroffen, nicht aber unstimulierte. Durch die Unterdrückung der zellulären Immunantwort können sich die Viren verstärkt vermehren. Schon PEDERSEN (1987a) vermutete, dass die erfolgreiche Abwehr der FIP-Infektion auf einer starken zellulären Immunantwort beruht.

Junge Katzen von seropositiven Muttertieren sind während der ersten Lebenswochen durch maternale (kolostrale) Antikörper vor einer Infektion geschützt. Der maternale Schutz schwindet nach 5 bis 6 Wochen (PEDERSEN et al. 1981a). Danach können sich die Katzen bei der Mutter oder anderen Coronavirusausscheidern infizieren. Streßsituationen, wie Verbringen in eine neue Umgebung, Rangkämpfe oder Infektionen mit dem feline Leukose- bzw. Immunschwächevirus führen zu einer Immunsuppression, die dann zu einer Erkrankung führen kann, indem sich die Viren stärker vermehren können, was die Mutationshäufigkeit erhöht.

#### **2.1.4 Symptomatik**

Da die Klinik hinreichend beschrieben wurde (PEDERSEN 1987a, ROHRER 1992), soll hier nur kurz darauf eingegangen werden.

Die ersten Anzeichen der effusiven und nicht-effusiven FIP sind ähnlich und nicht sehr spezifisch. ROHRER (1992) untersuchte in ihrer Dissertation 136 an FIP erkrankte Tiere,

davon waren 53 an der effusiven Form, 34 an der nicht-effusiven Form und 49 an einer Mischform erkrankt. Sie kam damit zu vergleichbaren Ergebnissen wie NEU und PFEIFER (1985).

Zu den Frühsymptomen zählen vor allem therapieresistentes Fieber, Inappetenz, Apathie und Abmagerung. Außerdem kann es in 50 % der Fälle zu Freßwiderwillen, Kaustörungen und Schluckbeschwerden kommen (NEU u. PFEIFER 1985). Manche Katzen entwickeln auch leichte respiratorische Symptome und Durchfall.

ROHRER et al. (1993) fanden bei 63,3 % der Tiere Fieber, in 58,1 % Apathie, in 86,8 % Inappetenz und 55,9 % Abmagerung.

Bei der feuchten Form folgen diesen unspezifischen Symptomen sehr schnell die Ausbildung eines Aszites mit Gewichtsverlust, einer physischen Depression und Anämie. In 20 % der Fälle kommt es zu einem Pleuralerguß, der mit einer Dyspnoe einhergeht. Außerdem treten Ergüsse in den Herzbeutel, den Subkapsularraum der Nieren und den Skrotalbereich auf.

Bei der trockenen FIP sind pyogranulomatöse Läsionen in verschiedenen Organen zu finden, die für Ikterus und Nierenversagen verantwortlich sind. Außerdem kommt es bei der trockenen Form eher zu neurologischen Symptomen und Augenveränderungen (STODDART u. BENNETT 1994). Nach ROHRER et al. (1993) wiesen die Tiere je nach Organmanifestation in 37,5 % der Fälle Anämie, in 26,5 % Ikterus, in 10,3 % neurologische Symptome und in 15,4% Augenveränderungen auf. Zu den Augenveränderungen gehören Iritis, Uveitis, Trübung des Augenkammerwassers, entzündliche Niederschläge auf dem Hornhautepithel und Netzhautblutungen (KELLNER u. LITSCHI 1989).

41,9 % der Katzen waren dehydriert, 36 % hatten eine Bauchumfangsvermehrung und 11,5 % litten unter Dyspnoe. Eine Lymphadenopathie trat bei 8,1 % der untersuchten Tiere auf.

Die Besitzer gaben in ca. 4 % Husten und Schnupfen und in ca. 17 % der Tiere Durchfall und Erbrechen als Symptome an (ROHRER et al. 1993). HARVEY et al. (1996) fanden bei 26 von 156 Katzen mit FIP palpierbare abdominale Massen und als Leitsymptome Durchfall und Erbrechen.

Neurologische Symptome zeigen sich in Charakterveränderungen wie Aggressivität oder Depression. Außerdem kommt es zu Tetraparese, Kopfschiefhaltung, Nystagmus und starkem Tremor (BARONI u. HEINOLD 1995). KLINE et al. (1994) fanden noch vestibuläre und

cerebellare Ataxien und einen Verlust der Tiefensensibilität. Beide Untersuchungen berichten auch von Tieren, die außer den neurologischen keine weiteren Symptome aufwiesen.

## **2.1.5 Laborbefunde**

### **2.1.5.1 Hämatologie und klinische Chemie**

Nach ROHRER et al. (1993) hatten 64% der FIP-verdächtigen Katzen eine milde bis mittelgradige, progressive, normochrome und normozytäre Anämie. In 67% der Fälle wurde eine Lymphopenie festgestellt. 37% wiesen ein erhöhtes Serum-Totalprotein auf und 66% erhöhte Globulinwerte. Bei 78% der Tiere war das Albumin erniedrigt und bei 81 % konnte ein erniedrigter Albumin-Globulin-Quotient nachgewiesen werden.

Eine Erhöhung der Serumproteine kann bei der effusiven und nicht-effusiven Form der FIP auftreten. Diese wird durch die unterschiedliche Erhöhung der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globuline hervorgerufen. Es ist nicht pathognomonisch für FIP, aber es unterstreicht die chronisch entzündliche Natur der Erkrankung (HOSKINS 1997). Durch die vermehrte Antikörperproduktion bei der Erkrankung sind vor allem die  $\gamma$ -Globuline, insbesondere die IgG-Fraktion, erhöht (Hypergammaglobulinämie). Gleichzeitig kommt es zu einer Verminderung der Serumalbumine. Dieses kann durch eine verminderte Produktion durch chronische hepatische Insuffizienz oder durch Malabsorption verursacht werden (KANEKO 1989). Andererseits kommt es bei einer Hypergammaglobulinämie ebenfalls zu einer kompensatorischen verminderten Synthese der Albumine ("down regulation") (ROHRER 1992). Durch die erhöhten Globulin- und erniedrigten Albuminwerte kommt es bei der FIP häufig zu einem erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten.

Eine Hyperbilirubinämie hatten 82% der Tiere, wohingegen BARLOUGH und STODDART (1990) einen Prozentanteil von 40 angaben. 75% wiesen eine erhöhte Aspartat-Aminotransferase (AST)-Aktivität auf.

Wenn es zu einer Verbrauchskoagulopathie kommt, findet man auch erniedrigte Thrombozytenzahlen und erhöhte Mengen von Fibrinabbauprodukten (WEISS et al. 1980).

Das Exsudat bei einer effusiven FIP-Infektion ist geruchlos, viskös und von gelblich bis brauner Farbe. Das spezifische Gewicht ist typischerweise über 1017 g/l und der Proteingehalt liegt meist über 50 g/l. Leukozytenzahlen von über 25.000/ $\mu$ l beruhen auf hohen Anteilen an neutrophilen Granulozyten und Makrophagen. Die Flüssigkeit enthält meist fadenziehende Fibrinflocken und gerinnt schnell an der Luft. Die Proteinelektrophorese weist ein ähnliches Muster auf wie die des Serums, erhöhtes Totalprotein und Globulin und erniedrigte Albuminwerte, sowie einen dadurch erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten (SHELLY et al. 1988).

### *Rivaltaprobe*

Bei der Rivaltaprobe handelt es sich um eine einfache Methode, ein Transsudat von einem Exsudat zu unterscheiden. Ein Transsudat ist eiweißarm oder -frei, während ein Exsudat eiweißreich ist. Das Exsudat ergibt in einer verdünnten Essigsäure-Lösung aufgrund des hohen Eiweißgehaltes eine schleierartige Trübung, während bei einem Transsudat die Lösung klar bleibt (LACHMANN 1991).

Da es sich bei dem Punktat der FIP um eine sehr eiweißreiche Flüssigkeit handelt, fällt hier die Rivaltaprobe fast immer positiv aus. HIRSCHBERGER et al. (1995) untersuchten die Körperhöhlenergüsse von 148 Katzen mittels der Rivaltaprobe. Von den 73 Tieren mit FIP waren 100 % positiv, während bei einer purulenten Serositis nur 50 % der untersuchten Tiere positiv waren. Bei Katzen mit einem Malignom waren 20,6 % der Tiere, bei zwei Katzen mit einer Zwerchfellhernie war ein Tier positiv.

### **2.1.5.2 Bestimmung des FCoV-Antikörpertiters**

Ein FCoV-Antikörpertiter kann mit unterschiedlichen Methoden bestimmt werden. Ein indirekter Immunfluoreszenztest (IFA) wurde erstmals von PEDERSEN (1976c) beschrieben. Die Hoffnung jedoch, dass man endlich einen Test gefunden hätte, mit dem man FIP diagnostizieren konnte, wurde schon ein Jahr später durch denselben Autor wieder in Frage

gestellt (PEDERSEN 1977). Er fand klinisch gesunde Katzen, die seropositiv waren. 1981 wurde das FECV identifiziert (PEDERSEN et al. 1981b) und man stellte fest, dass der Titer nur einen vorangegangenen Kontakt mit FCoV's anzeigt, also nicht FIPV-spezifisch ist.

Andere Testmethoden sind der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) und die abgewandelte Form des Kinetic-based ELISA (KELA). Die ELISA-Methoden sind sensitiver als der IFA, während dieser spezifischer ist (PEDERSEN 1995b).

Da ein positiver Serostatus nicht angibt, ob die Antikörper durch ein avirulentes oder virulentes Coronavirus induziert wurden, und auch die Höhe des Titers keine zuverlässige Prognose zulässt, sind die Ergebnisse der Serologie nur im Zusammenhang mit klinischen Symptomen und den genannten Laboruntersuchungen zu interpretieren. ROHRER et al. (1993) fanden in ihrer Untersuchung heraus, dass über die Hälfte der FIP-Katzen einen Titer von kleiner 100 hatten, 11% waren sogar serologisch negativ.

Mitunter wird die Titerhöhe als diagnostische Information herangezogen, wobei ein Titer von 400 als "Grenztiter" gilt.

Katzenwelpen erhalten durch seropositive Mütter kolostral einen maternalen Schutz, der im Alter von 6-10 Wochen verloren geht (PEDERSEN et al. 1981a). Aus diesem Grunde wird empfohlen, Katzen erst mit 12-16 Wochen das erste Mal zu testen (PEDERSEN 1995b).

ADDIE und JARRETT (1992, 1995) zeigten, dass man seronegative Katzensuchten durch frühes Absetzen der Welpen mit 4-6 Wochen und isolierte Aufzucht aufbauen kann.

### **2.1.5.3 Reverse Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR)**

#### Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Die PCR ist eine *in vitro*-Methode, mit deren Hilfe man durch eine enzymatische Synthese innerhalb kurzer Zeit eine sehr effiziente Vermehrung (Amplifikation) eines bestimmten DNA-Abschnittes *in vitro* herstellen kann. Zwei synthetische Oligonukleotide (Primer), die die Zielregion flankieren, binden an die DNA. Diese kurzen Sequenzen dienen als Startpunkte für eine DNA-Polymerase, die den Abschnitt zwischen den beiden Primern auffüllt



(EHRlich 1996). Die Methode ist 1983 bei Cetus Corporation/USA von Kary Mullis, Henry A. Ehrlich und K.Saiki entwickelt worden. Sie erlaubt eine sichere Analyse und Charakterisierung von bestimmten RNA- und DNA-Sequenzen, auch wenn die Ausgangsmenge sehr klein ist. In der Medizin wird sie neben dem Nachweis von Virus-Nukleinsäure zur Untersuchung von Onkogenen, Tumor-assoziierten Translokationen, Lymphokinen und degenerativen und entzündlichen Krankheiten des Nervensystems genutzt. Außerdem wird sie in der Forensik als Methode zur genetischen Typisierung von Individuen verwendet. Sie überbrückt zwei Hauptprobleme, das Vorhandensein nur kleiner Materialmengen und die Notwendigkeit einer schnellen Diagnostik (ROLFS et al. 1991).

### Prinzip

Die PCR besteht aus einer Abfolge von mehreren Zyklen, wobei jeder Zyklus aus drei Schritten besteht.

Zunächst wird die Ziel-DNA durch Erwärmung denaturiert, d.h., die beiden Einzelstränge weichen auseinander. Danach können zwei Oligonukleotidprimer, die die gewünschte DNA Sequenz flankieren, an die DNA binden (*Annealing*). Primer sind kurze Nukleotidsegmente, die komplementär zu einem bestimmten Abschnitt im einzelnen DNA-Strang sind. Sie verfügen über eine freie 3'-Hydroxylgruppe, an welche Nukleotide während der DNA-Synthese durch eine Polymerase angelagert werden. Die Schmelztemperatur beider Primer sollte ähnlich sein. Im dritten Schritt werden die Primer von der 3'- in die 5'- Richtung mittels DNA-Polymerase durch Anlagern der komplementären Nukleotide verlängert (*Extension*).

Diese drei Schritte, die Denaturierung, das Binden der Primer und die DNA-Synthese, stellen einen sog. Zyklus der PCR dar. Vorausgesetzt, dass der Strang bis zum Primer oder darüber hinaus verlängert wird, kann er als Vorlage für die nächsten Zyklen dienen. Durch ständige Wiederholung dieser Zyklen kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung des Zielfragments. Die Länge des Produktes entspricht dem Abstand zwischen den beiden Primern. Mit der PCR kann man einzel- oder doppelsträngige DNA, aber auch cDNA einer RNA amplifizieren (EHRlich 1996).

## Polymerase

Die Polymerase ist ein natürlich vorkommendes Enzym, ein biologisches Makromolekül, das die Synthese und Reparatur von DNA und RNA katalysiert (KING u. STANSFIELD 1990).

In den ersten PCR-Versuchen wurde das sog. Klenow-Fragment der *E. coli*-DNA-Polymerase benutzt. Sie ist kein thermostabiles Enzym und mußte vor jedem Zyklus neu hinzugefügt werden, da sie bei der Denaturierung durch die hohen Temperaturen inaktiviert wurde. Später wurde eine thermostabile *Taq*-DNA-Polymerase (aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus*) isoliert. Dieses Enzym arbeitet optimal bei 72°C und übersteht Erhitzungen bis 94°C für kurze Zeit. So können alle Zyklen durchlaufen werden, ohne ständig neues Enzym hinzugeben zu müssen. Das hat die Prozedur vereinfacht, die Spezifität und auch den Ertrag der Amplifikation erhöht. Zusätzlich sind das Annealing und die Extension bei höheren Temperaturen möglich, so dass das Risiko einer unspezifischen Amplifizierung verringert wird, und längere PCR Produkte gewonnen werden können. Es wurden noch andere thermophile Polymerasen isoliert. Manche besitzen eine 3'→5' Exonuklease Aktivität. Es wurden auch genetische Varianten der natürlichen Polymerasen entwickelt. Einige der neuen thermostabilen Polymerasen haben sehr nützliche Eigenschaften. So kann z. B. die Polymerase von *Thermus thermophilus* in Anwesenheit von Manganchlorid bei hohen Temperaturen auch revers transkribieren (s.u.). Die DNA-Polymerase kann unter bestimmten Voraussetzungen auch mit Manganchlorid arbeiten, so dass die RT-PCR in einem einzigen Schritt ausgeführt werden kann.

Die erste PCR mit dem Klenow-Fragment als Polymerase war nicht sehr spezifisch. Es wurde 200 000-fach amplifiziert, aber nur ein Prozent ergab die gewünschte DNA-Sequenz. Eine spezifische Hybridisierung war nötig, um die Sequenz zu analysieren. Die *Taq* DNA-Polymerase ist sehr spezifisch. Höhere Annealingtemperaturen und geringere Magnesiumchlorid-Konzentrationen erhöhen noch die Spezifität. Zusätzlich können die Konzentration der Enzyme und Primer, die Annealings- und Extensionszeit, die Anzahl der Zyklen und die Konzentration der spezifischen Sequenz die Spezifität der Reaktion beeinflussen.

### Reverse Transkriptase

Die reverse Transkriptase ist ein Enzym, das zur Umschreibung von RNA in komplementäre oder copy-DNA (cDNA) benötigt wird, die nur dann nachfolgend mittels PCR amplifiziert werden kann.

Sie wird auch Revertase oder Umkehrtranskriptase genannt und ist eine RNA-abhängige DNA-Polymerase. Sie bildet aus einsträngiger RNA, die als Matrize dient, in einem mehrstufigen Prozeß komplementäre DNA. Sie ist natürlicher Bestandteil von Retroviren, die sie zur Umschreibung ihrer genomischen RNA in doppelsträngige DNA während des Replikationszyklus benötigen. Sie kann in Gegenwart eines Primers auch andere RNA, zum Beispiel mRNA von Pro- und Eukaryoten, in cDNA umwandeln (LÜPNITZ 1991).

### Nested PCR

Eine weitere Möglichkeit, die Spezifität zu verbessern, ist, eine zweite PCR anzuschließen. In dieser Reaktion werden zwei zusätzliche Primer (= nested Primer) eingesetzt, die innerhalb der ersten amplifizierten Sequenz liegen. Dies erhöht die Sensitivität und dient gleichzeitig dem Nachweis der Spezifität.

### Probleme

Ein wichtiges Problem ist die Kontamination des PCR-Ansatzes durch amplifizierte DNA aus vorigen PCRs (*carry-over*) oder DNA aus Zellmaterial, zum Beispiel vom Untersucher. Dieses kann man durch sorgfältiges Arbeiten, saubere Arbeitsmaterialien und durch Trennung der Arbeitsbereiche vermeiden. Außerdem sollte zur Kontrolle immer eine Negativprobe, die anstelle der RNA oder DNA nur Wasser enthält, mitgeführt werden.

Ein weiteres Problem besteht, wenn falsche Nukleotide bei der DNA-Synthese eingebaut werden. Die Fehlerrate hängt von den Reaktionsbedingungen ab, wie zum Beispiel die Nukleotidkonzentration, pH-Wert und die Kationenkonzentration. Für die Taq Polymerase

liegt sie bei  $10^{-5}$  Nukleotiden pro Zyklus. Dies ist in der Praxis jedoch nur von Bedeutung, wenn das PCR-Produkt nachfolgend sequenziert werden soll.

### Nachweis der PCR Produkte

Eine weit verbreitete Methode zum Nachweis von PCR-Produkten ist die Agarosegelelektrophorese. Die DNA wird der Grösse nach aufgetrennt und nachfolgend mit Hilfe von Ethidiumbromidanfärbung unter UV-Licht als Bande im Gel sichtbar. Kommerziell erhältliche Längenstandards erleichtern die Beurteilung der erwarteten Länge. Einige der Sequenzvariationen der amplifizierten DNA können durch Gelelektrophoresemethoden wie denaturierende Gelelektrophorese (DGGE) oder die SSCP Methode (*single-strand conformational polymorphism*), welche auf einer unterschiedlichen Lauffähigkeit in Gelen bezogen auf die Sekundärstruktur von einzelsträngigen PCR Produkten basiert, sichtbar gemacht werden. Die Anwesenheit von heterogenen DNA Molekülen sieht man auch in der Gelelektrophorese, weil DNA Fragmente, die ein falsches Basenpaar enthalten, langsamer im Gel laufen als homogene DNA Fragmente. Eine weitere Methode zum Feststellen oder Typisieren von PCR Produkten sind Sequenz-spezifische Oligonukleotid-Hybridisierungssonden (SSO). Das funktioniert aber nur, wenn die Sequenzvarianten bekannt sind.

Einige Methoden basieren auch auf der Spezifität der Primerextension. Fehlerhafte Nukleotidfolgen zwischen dem DNA Strang und dem 3'Ende des Primers führen zu einer schlechten Extension. Dieses wird ausgenutzt bei der Entdeckung spezifischer Mutationen, die nur in wenigen Zellen wie Krebszellen vorhanden sind. Dies nennt man allelspezifische Amplifikation oder sequenzspezifisches Priming.

### Anwendung

Für die Analyse von DNA- oder RNA- Sequenzen bringt die PCR große Vorteile. Das Anlegen von Genbibliotheken entfällt. Sie erleichtert auch Sequenzanalysen, Oligonukleotid-Sondenhybridisation und Restriktionsstellenanalysen. Außerdem können in kurzer Zeit große

Mengen DNA amplifiziert werden, auch wenn die Ausgangsmaterialmenge sehr klein ist.

In der Zellbiologie werden Genexpressionen in spezifischen Zelllinien mit einer quantitativen PCR analysiert. In der Molekularbiologie wird die PCR für genetische Typisierungen genutzt. Außerdem ist sie sehr hilfreich bei der Auffindung von Mutationen bei genetisch bedingten Krankheiten, gerade in der pränatalen Phase. Die PCR dient als Basis für die phylogenetische Analyse, die Rückschlüsse auf die Evolutionsgeschichte vieler Arten erlaubt. Sie bringt auch Vorteile in der Erforschung der Epidemiologie einiger Viruskrankheiten (molekulare Epidemiologie). In der Diagnostik können Genomsegmente krankheitsauslösender Agenzien festgestellt werden, was gerade bei viralen Erkrankungen wichtig ist. Ein weiteres wichtiges Gebiet der Medizin ist die Krebsforschung, die Analyse von Onkogenen und tumorbedingten Translokationen.

Auch in der Gerichtsmedizin spielt die PCR eine große Rolle. Die DNA-Analyse aus zellhaltigen Materialien verdächtiger Personen ist für die Aufklärung von Verbrechen sehr wertvoll.

Die Anwendungsgebiete der PCR haben in den letzten Jahren sehr zugenommen. Durch die Entwicklung neuer Polymerasen, effizienterer Techniken und einer größeren Spezifität kann die PCR konventionelle molekulare Klonierungsstrategien immer mehr ersetzen (EHRlich 1996).

#### *Anwendung der PCR in der Epidemiologie, Pathogenese und Diagnostik feliner Coronaviren*

Seit der Entwicklung einer RT-PCR zur Amplifikation von Coronavirus-RNA sind viele Fortschritte in der Erforschung dieser Viren, ihrer Pathogenese und Epidemiologie gemacht worden. LI und SCOTT (1994) entwickelten eine RT-PCR, mit der man Coronaviren in Zellkulturen, fixierten und frischen Geweben nachweisen konnte. Sie nahmen Gewebeproben von SPF-Katzen, die intranasal mit einem FIP-auslösenden Virus infiziert wurden. Außerdem infizierten sie Zellkulturen mit FIPV und FECV. Sie untersuchten auch unterschiedliche Lagerzeiten und -temperaturen und unterschiedliche Fixierungsmethoden mittels PCR. Die FIPV- und FECV-infizierten Zellkulturen waren positiv in der PCR, so auch die FIPV-infizierten Katzen, während bei den nichtinfizierten Kontrollen kein Coronavirus

nachgewiesen werden konnte. In einem Feldversuch wurden noch 92 Katzen mittels RT-PCR auf Coronaviren untersucht. Von den 8 FIP-verdächtigen Tieren waren 7 positiv, und von den 84 nichtverdächtigen waren 51 in mindestens einer Gewebeprobe positiv. Es bestand kein Unterschied in den Ergebnissen von fixierten und frischen Geweben. Allerdings wurde in einer quantitativen PCR weniger Virusgenom in fixiertem Material als in frischen Geweben gefunden. Bei Lagerungstemperaturen um 4°C wurde noch nach 96 h Virusmaterial gefunden, bei 37°C nur noch bis 48 h. Die Autoren stellten auch fest, dass nicht in jedem Gewebe Virus gleichermaßen vorhanden ist. Sie bezeichneten die Methode als Werkzeug, um Virusträger festzustellen.

Wie bereits erwähnt, entwickelten HERREWEGH et al. (1995a u. b) eine nested RT-PCR, um aus Kot, Geweben und Körperflüssigkeiten von Katzen Coronavirus nachzuweisen. Man ging davon aus, dass avirulente FCoV's nur auf den Darmtrakt beschränkt sind, während virulente FCoV sich auch im Blut vermehren (PEDERSEN et al. 1984). Die RT-nested PCR war noch spezifischer als eine einfache PCR, und auf die 3'-untranslatierte Region des Genoms gerichtet. Mit dieser Methode können die meisten, wenn nicht alle FCoViren entdeckt werden (HERREWEGH et al. 1995a). Schon zwei bis vier Tage nach Inokulation war Virusgenom im Plasma der infizierten Katzen nachzuweisen. Die Methode ist jedoch nicht für die FIP-Diagnostik geeignet, da auch bei gesunden Katzen Virus im Kot, und bei einigen gesunden Katzen sogar im Plasma nachzuweisen war. Das bedeutet, dass auch avirulente FCoViren sich systemisch ausbreiten können.

In experimentellen Infektionen schieden Katzen während der klinischen Erkrankung kein Virus mit dem Kot aus (STODDART et al. 1988b). ADDIE et al. (1996) zeigten mittels einer RT-PCR, dass auch bei klinisch kranken Katzen Virus im Darminhalt nachzuweisen ist. Es wurde vor allem Virus im Dickdarm gefunden, während der Dünndarm nur bei wenigen Tieren positive Ergebnisse ergab.

FEHR et al. (1996) untersuchten Serum von 62 Katzen mit abdominalen Symptomen mittels PCR auf Coronaviren. Fünf der 13 Katzen mit Virämie überlebten längere Zeit. Vier Katzen waren auch 70 Monate nach der Untersuchung noch gesund. Damit wurde noch einmal gezeigt, dass nicht jede Katze, die eine Virämie aufweist, an einer FIP erkranken muß.

Der Nachweis, dass es chronische FCoV-Ausscheider gibt, gelang HERREWEGH et al.

(1997), indem sie bei einer isolierten Katze 124 Tage lang Virus im Kot fanden. Außerdem fanden sie mittels genetischer Analyse in Katzen aus derselben Umgebung Coronaviren, die alle auf denselben "Vorfahren" zurückzuführen waren, sich aber bei jedem Tier in einer oder mehreren Aminosäuren unterschieden, so dass jedes Tier seine eigene Coronavirusvariante hatte. Allerdings konnten sie nicht ausschließen, dass genetisch verwandte Viren in die Umgebung eingeschleppt worden waren. Es schien, dass Katzen, die eine bestehende Coronavirusinfektion hatten, gegen eine Superinfektion mit nahe verwandten Viren geschützt waren.

Es wurden noch andere RT-PCR-Methoden ausprobiert. GAMBLE et al. (1997) nahmen Primer, die an dem Gensegment des Peplomerproteins E2 banden. Sie untersuchten die FIPV-Stämme NOR-15 und UCD-1. FECV 79-1683; ein CCV-Stamm und ein TGEV-Stamm wurden mit dieser Methode nicht entdeckt. Sie untersuchten weiterhin Pleural- und Abdominalflüssigkeit von an feliner infektiöser Peritonitis erkrankten Katzen und von Katzen mit Krankheiten anderer Genese. 11 der 12 an FIP erkrankten Katzen waren positiv, während 10 der 11 nicht an FIP erkrankten Katzen negativ waren.

KENNEDY et al. (1998) benutzten Primer, die an den ORFs 7a/7b banden. Sie nahmen diese Region, weil eine Deletion am ORF 7b eventuell mit einem Verlust der Virulenz einhergehen könnte. Allerdings wurde dieses nur an Laborstämmen nachgewiesen und konnte bei Feldstämmen nicht beobachtet werden (HERREWEGH et al. 1995c). Auch KENNEDY et al. (1998) fanden bei ihrer Untersuchung keine Deletionen in diesem Bereich.

GUNN-MOORE et al. (1998) untersuchten EDTA-Blut von klinisch gesunden FCoV-infizierten Katzen und von FIP-erkrankten Katzen mittels Kultivierung und RT-PCR. 80% der klinisch gesunden Katzen wiesen Coronaviren im Blut auf. Durch eine Co-Kultivierung wurde ein besseres Ergebnis erzielt, da einige der Proben, die in der PCR negativ waren, nach der Kultivierung positiv waren. Die Kultivierung muß aber mindestens 4 Wochen dauern.

Sequenzanalysen des FCoV-Genoms brachten mehr Klarheit in die Evolution der FIP-Viren und der FEC-Viren (HERREWEGH et al. 1995c, 1997, VENNEMA et al. 1995, 1998, POLAND et al. 1996).

VENNEMA et al. (1995) verglichen mittels PCR und Sequenzanalyse das S-Gen von FECVs und FIPVs, außerdem noch das 5'Ende des M-Proteins. Sie kamen zu dem Schluß, dass das

FIPV 79-1146 aus einer Rekombination von CCV und FCoV I entstanden sein könnte. Sie stellten außerdem fest, dass FCoVs der Serotypgruppe I eine homogene Gruppe darstellen, und ihr S-Gen sehr unterschiedlich zu dem der Serotypgruppe II ist. Dies entspricht auch der fehlenden Kreuzreaktivität im Neutralisationstest (FISCUS u. TERAMOTO 1987). Das S-Gen der Serotypgruppe II ist eng verwandt mit dem des CCV. Der Vergleich zweier FECV und ihnen sehr verwandte FIPV-Stämme brachte keinen Aufschluß über den Grund ihrer unterschiedlichen Virulenz. FECV und FIPV, die aus der gleichen Region kommen, sind sich genetisch ähnlicher als FECVs oder FIPVs aus unterschiedlichen Regionen.

HERREWEGH et al. (1995c) untersuchten die ORF 7a/7b. *In vitro* wurde bei avirulenten FCoV-Stämmen, die eine hohe Passagezahl in Zellkulturen hatten, eine Deletion im 7b-Segment festgestellt, die aber bei einer Untersuchung von Feldvirusstämmen nicht bestätigt werden konnte. Im genetischen Vergleich der ORF 7a/7b Region bilden die FCoV-Serotypgruppen I und II eine homogene Gruppe, im Gegensatz zu der Nukleotidsequenz des S-Gens, wo sie sehr unterschiedlich sind. In der 7a/7b Region unterscheiden sie sich mehr von CCV-Stämmen.

Die Frage, ob FCoVs des Serotyps II aus einer Rekombination des Serotyps I und einem CCV hervorgegangen sind, untersuchten HERREWEGH et al. (1997) noch einmal ausführlich. Dazu analysierten sie nicht nur das S-Gen und die ORF 7a/7b, sondern auch die POL-Gene. Es wurden vier Regionen des Gensegments verglichen. In zwei Regionen war die Gensequenz zwischen den beiden FCoV-Stämmen ähnlicher als zu CCV oder TGEV. In der dritten Region war ein Typ II-Stamm mehr verwandt mit CCV und TGEV, während der andere Typ II-Stamm mehr dem Serotyp I glich. In der vierten Region waren beide FCoV Serotyp II-Stämme genetisch mehr mit CCV und TGEV verwandt.

Um die Vermutung, dass FIPV Mutationen von FECV sind, zu beweisen, infizierten POLAND et al. (1996) zwei Gruppen von FCoV-freien Katzen mit dem FECV-RM. Eine der zwei Gruppen war mit dem feline Immundefizienzvirus (FIV) infiziert. Die Virusausscheidung mit dem Kot wurde mit einer PCR untersucht. In beiden Gruppen wurde schon nach drei Tagen Virus ausgeschieden. Die FIV-Gruppe schied im Durchschnitt über einen längeren Zeitraum Virus aus und in einer 10 bis 100-fach größeren Menge als die andere Gruppe. Antikörpertiter wurden in der FIV-Gruppe zu einem späteren Zeitpunkt festgestellt



und waren im Durchschnitt niedriger. Nach 8 und 10 Wochen entwickelten zwei Katzen aus der FIV-Gruppe eine FIP. Die beiden Virusisolate waren das FIPV-UCD9 und das FIPV-UCD10.

VENNEMA et al. (1998) untersuchten sechs FIPV-Isolate aus drei unterschiedlichen Regionen und verglichen sie mit FECV-Isolaten aus den gleichen Regionen. Es wurden 1,2 bis 8,9 kb große Segmente vom 3'-Ende einer Sequenzanalyse unterzogen. Die FECV-Stämme waren mit den FIPV-Stämmen aus der gleichen Region zu 97,3-99,5 % genetisch identisch. Die Unterschiede zwischen den einzelnen FIPV-Stämmen und FECV-Stämmen aus anderen Gegenden war größer, was dafür sprach, dass FIPV Mutanten aus FECV sind. Um zu überprüfen, worin diese Mutation besteht, wurden die verschiedenen Gensegmente analysiert. Dabei wurde festgestellt, dass FIPV Deletionsmutanten sind: Im ORF 3c wurde in 4 von 6 Isolaten eine Deletion gefunden und/oder im ORF 7b in 3 von 6 Isolaten. Um dieses zu belegen, wurden noch einmal sieben weitere FIPV Isolate analysiert. 11 von 13 hatten ebenfalls mutierte 3c-ORFs.

Aus diesen Untersuchungen wird ersichtlich, dass die PCR viel zum Verständnis der Evolution und Epidemiologie feliner Coronaviren beigetragen hat.

### **2.1.6 Diagnostik**

Die Diagnose der effusiven Form bereitet relativ wenig Schwierigkeiten, da die Qualität des Exsudates typisch ist (s. 2.1.5.1).

Eine *intra vitam*-Diagnose der nichteffusiven Form ist schwieriger, da die Krankheitssymptome sehr unspezifisch sind und es noch keinen zuverlässigen virologischen Test gibt.

ROHRER et al. (1993) entwickelten einen Algorithmus zur Diagnose der FIP, der sich bewährt hat (s. Abb. 1). Er beruht auf der Anamnese und der Klinik in Zusammenhang mit den Blutlaborwerten. Der Nachweis antiviraler Antikörper bzw. der Titer werden zwar mit angeführt, sind aber wegen der bereits erwähnten geringen Spezifität eher von untergeordneter Bedeutung. Der Titer war in dieser Untersuchung bei ungefähr der Hälfte der FIP-Katzen

kleiner als 100 und bei 11% sogar negativ.

In Fällen, in denen man anhand der anamnestischen, klinischen und Laborbefunde zu keiner abschließenden Diagnose kommt, wird eine Biopsie angeraten, denn nur die histopathologische und gegebenenfalls immunhistochemische Untersuchung gibt einen definitiven Aufschluß.

HIRSCHBERGER et al. (1995) untersuchten in einer Studie den Bauchhöhlenerguß von 197 Katzen mittels einer Rivalta-Probe. Sie erreichten eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 81 %.

KLINE et al. (1994) und BARONI und HEINOLD (1995) raten in Fällen mit neurologischen Symptomen zu einer Cerebrospinalflüssigkeits-Analyse. Sie zeigt im positiven Fall einen erhöhten Proteingehalt und einen erhöhten Zellgehalt, vor allem neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten und Makrophagen.

### **2.1.7 Differentialdiagnosen**

Bei der effusiven Form müssen alle Krankheiten in Betracht gezogen werden, die mit einer Flüssigkeitsansammlung in Brust- oder Bauchhöhle einhergehen.

Chylothorax, Pyothorax, Tumoren, die eine Effusion verursachen, Herzinsuffizienz, Leberzirrhose und bakterielle Peritonitis müssen durch sorgfältige Untersuchung des Exsudates von der FIP differenziert werden.

Bei Augenveränderungen muß an Toxoplasmose, Lymphosarkom oder Mykosen gedacht werden.

Von der nichteffusiven Form muß vor allem ein Lymphom/ Lymphosarkom abgegrenzt werden, da beide mit abdominalen palpierbaren Massen einhergehen und dieselben Organe betreffen können (PEDERSEN 1987a). Mit beiden Formen kann die Pansteatitis verwechselt werden (SUMMERS et al. 1982).

Je nach Organmanifestation müssen auch Leber-, Nieren-, Pankreas- oder ZNS-Erkrankungen anderer Genese abgeklärt werden.

### 2.1.8 Therapie

Es ist keine wirksame Therapie bekannt. Katzen mit Aszites, Pleuralerguß, oder anderen schwerwiegenden Organveränderungen sterben meist, oder sie müssen aus humanitären Gründen innerhalb von 1 bis 16 Wochen euthanasiert werden (PEDERSEN 1988).

Die Therapie beschränkt sich auf die Symptomatik. Tiere, die sich noch in relativ guter Verfassung befinden und fressen, können mit Glucocorticoiden, Zytostatika, Breitspektrumantibiotika und Elektrolytlösungen noch Monate überleben.

Andere Untersuchungen in der Therapieforschung gehen eher in Richtung Immunmodulation. WEISS und TOIVIO-KINNUCAN (1988) gelang es mit heterologem humanen  $\alpha$ -Interferon und homologen felines  $\beta$ -Interferon, signifikanten antiviralen Effekt gegen FIPV in *in vitro*-Versuchen zu erzielen. *In vivo* ließ sich dagegen noch keine Wirksamkeit nachweisen. In ähnlichen Untersuchungen wurde die Wirksamkeit von Ribavirin und Adenosinarabinosid erforscht (BARLOUGH u. SCOTT 1990). Adenosinarabinosid war nur wirksam bei vorzeitiger oder gleichzeitiger Gabe mit dem Virus, Ribavirin auch nach darauffolgender Gabe. Ribavirin ist in therapeutischen Dosen aber toxisch. Außerdem wurde noch das Polyene-Macrolid-Antibiotikum untersucht, das bei systemischen Mykosen bei Mensch und Tier eingesetzt wird. Seine Nephrotoxizität beschränkt die Einsatzmöglichkeiten.

Die Substanzen AZT und Acyclovir erwiesen sich als unwirksam. In klinischen Versuchen schützte RhuIFN- $\alpha$  allein oder in Kombination mit *Propionibacterium acnes* experimentell infizierte Katzen nicht gegen eine Erkrankung, aber erhöhte die Überlebenszeit (WEISS et al. 1990). Die erfolgversprechendste Variante ist wahrscheinlich die Kombination eines antiviralen Mittels, um die virale Replikation zu hemmen, mit einem immunmodulierenden Mittel, um die protektive Immunantwort des Wirtes zu stimulieren (WEISS u. OOSTROM-RAM 1989). Leider haben weitere Studien mit dieser Therapie keine guten klinischen Resultate in experimentell oder natürlich infizierten Katzen erbracht.

### 2.1.9 Prävention und Kontrolle

Da das FIPV als eine virulente Mutante des FECV anzusehen ist (VENNEMA et al. 1995, 1998), muß die Prävention der FIP Infektion in erster Linie eine Prävention und Kontrolle der FECV-Infektion in Katzenhaltungen sein (PEDERSEN 1995a).

Auch FOLEY et al. (1997a u. b) untersuchten Katzenhaltungen auf das Vorkommen von Coronaviren, indem sie FCoV-RNA mit Hilfe einer RT-PCR im Kot der Katzen nachwiesen. Als größten Risikofaktor betrachteten sie chronische FCoV-Ausscheider. Schwach positive oder negative Kotproben waren mit geringem, während stark positive Proben, die sie mittels quantitativer PCR nachwiesen, mit hohem Infektionsrisiko verbunden. Sie teilten die FCoV ausscheidenden Tiere in zwei Klassen. In der ersten schieden die Tiere nur zeitweise Virus aus, in der zweiten Klasse befanden sich die chronischen Ausscheider. Bei Isolation der Tiere aus der ersten Klasse konnten sich die Tiere nicht reinfizieren und die Ausscheidung unterblieb, während bei Isolation der Tiere aus der zweiten Klasse die Tiere auch weiterhin über lange Zeit Virus ausschieden. Sie forderten deshalb eine Reduzierung der Ausscheidungsrate, indem man chronische Ausscheider eliminiert. Sie stellten keine Korrelation zwischen Coronavirusantikörpertiter und Ausscheidungsrate fest. 11 seropositive Tiere schieden kein Virus aus. Da die Höhe des Titers auch keine Aussage über die Stärke der Virusausscheidung gibt, sollte man die PCR-Methode nutzen, um chronische und stark virusausscheidende Katzen festzustellen.

ADDIE u. JARRETT (1995) erlangten FCoV-freie Welpen durch Isolation der Muttertiere mit ihren Würfen und frühes Absetzen der Welpen mit 5-6 Wochen. Wenn die Jungen bei ihren Müttern belassen wurden, war ein Drittel der Würfe seropositiv. Seronegative Tiere schieden kein Virus aus.

HICKMANN et al. (1995) bauten eine FCoV-freie Katzenzucht aus einer seropositiven Zucht auf. In der Zucht waren seit zwei Jahren Antikörper festgestellt worden. Nachdem einige Katzen an FIP starben, beschloß man, die Coronavirusinfektion zu eliminieren. Die Muttertiere wurden in Gruppen mit bestimmter Titerhöhe eingeteilt, und nur Tiere mit einem Titer von 100 und kleiner wurden für die Zucht genommen. Die Welpen wurden mit 6-10 Wochen abgesetzt.

FOLEY u. PEDERSEN (1996) wiesen in ihrer Untersuchung nach, dass FIP-Fälle gehäuft in bestimmten Katzenlinien auftreten, das heißt, dass wahrscheinlich eine genetisch bedingte Prädisposition vorliegt.

Maßnahmen zur Reduzierung des FIP Risikos in Katzenbeständen sind nach PEDERSEN (1995a):

1. Eliminierung chronischer FCoV-Ausscheider
2. Eindämmung der FCoV-Ausscheidung durch Haltung in kleinen Gruppen, getrennt nach Alter (EVERMANN et al. 1995)
3. Regelmäßiges Reinigen der Katzentoiletten und der Umgebung
4. Futter und Wasser nicht in die Nähe der Katzentoiletten stellen
5. Bei der Zusammenführung von Katzen zur Paarung sollten die Tiere nur kurz zusammenbleiben, kein Futter, Wasser und keine Katzentoilette teilen
6. Nur seronegative oder seropositive Tiere miteinander verpaaren
7. Kleidung und Hände desinfizieren, da Coronaviren auch durch den Züchter oder Tierhalter passiv übertragen werden können (PEDERSEN 1981b)
8. Keine seropositiven Tiere in seronegative Zuchten bringen
9. 3-4 Wochen Quarantäne einer jeden Katze, die in den Bestand gebracht wird; vorher AK-Titer bestimmen oder mittels PCR überprüfen, ob es sich um ein Coronavirus-ausscheidendes Tier handelt
10. Wenn seronegative Tiere in einen seropositiven Bestand gebracht werden, sollten sie vorher geimpft werden (ADDIE et al. 1995).
11. Katzenwelpen früh absetzen (5.-6. Woche)
12. Selektion resistenterer Zuchtlinien (FOLEY u. PEDERSEN 1996)

### 2.1.10 Vakzination

Es wurden in der Vergangenheit viele Versuche durchgeführt, einen wirksamen Impfstoff gegen FIP zu entwickeln, aber ohne grossen Erfolg. Heterologe Impfstoffe mit TGEV und CCV (WOODS u. PEDERSEN 1979, BARLOUGH et al. 1984, STODDART et al. 1988a) führten zwar zur Entwicklung neutralisierender Antikörper, aber nicht zu einem Schutz. Versuche mit homologen Impfstoff sensibilisierten die Katzen sogar hinsichtlich einer Infektion. Subletale Dosen des virulenten FIPV schützten zwar einige Katzen, andere entwickelten aber FIP (PEDERSEN u. BLACK 1983). Es wurde auch versucht, Vacciniavirusrekombinanten einzusetzen, die nur das M-, N- oder S-Gen exprimierten. Das S-Protein sensibilisiert für eine Infektion, während die anderen beiden Proteine zwar nicht sensibilisieren, aber auch nicht schützen (VENNEMA et al. 1990, 1991).

CHRISTIANSON et al. (1989) entwickelten einen temperatursensitiven FIPV-Stamm. Dieser vermehrt sich nur bei 31°C, nicht aber bei 39°C. Er ist aus dem FIPV DF-2 durch 99 Serienpassagen auf einer Katzennieren-Zelllinie und Bestrahlung mit ultraviolettem Licht entstanden. 1991 kam in den USA ein Impfstoff auf den Markt, der diesen Stamm beinhaltet (Primucell FIP<sup>®</sup> von Pfizer). Er ist zur intranasalen Applikation bestimmt und das Virus vermehrt sich nur im oberen Atemtrakt, nicht aber systemisch ( GERBER et al. 1990).

Das Virus war im Pharynx, in den Tonsillen, in der Trachea und in den Turbinaten nachzuweisen. Vom Hersteller durchgeführte Versuche zeigten, dass auf der Schleimhaut eine lokale IgA-Antwort induziert wurde, die eine Streuung des Virus bei einer Infektion verhindern soll. Aus der Milz von geimpften Tieren konnten sensibilisierte Lymphozyten isoliert werden, was auf eine zellvermittelte Immunantwort hindeutet ( GERBER et al., 1990). Die Wirksamkeit wurde in Impfversuchen mit anschließender Belastungsinfektion mit dem Wildtyp des Impfvirus nachgewiesen. 17 der 20 geimpften Tiere überlebten eine orale Infektion und 16 überlebten auch eine weitere Infektion (GERBER et al. 1990).

SCOTT et al. (1992) entdeckten nach einer intranasalen Infektion in höheren Dosen mit dem FIPV 1146 eine gesteigerte Immunantwort in einigen Tieren. Der unterschiedliche Infektionsweg, der heterologe Virusstamm und die größere Infektionsdosis ermöglichen keinen Vergleich der Ergebnisse (EGBERINK u. HORZINEK 1994). POSTORINO-REEVES

et al. (1994) untersuchten 500 gesunde seronegative Tiere, die mit der Vakzine oder einem Plazebo geimpft wurden und dann in einen coronaviruspositiven Bestand gebracht wurden. Zwei der geimpften Katzen zeigten Anzeichen einer FIP, während acht der ungeimpften Tiere betroffen waren. Der Beobachtungszeitraum betrug 16 Monate.

HOSKINS et al. (1994) impften zwanzig 16 Wochen alte SPF-Katzen und infizierten sie 28 Tage nach der Impfung oral mit dem FIPV DF-2. Die Beobachtung erfolgte über 8 Wochen. Die Tiere, die bis dahin nicht wegen klinischer Anzeichen euthanasiert wurden, wurden zu diesem Zeitpunkt eingeschläfert. Danach fand eine histopathologische Untersuchung statt. Eine der 20 Katzen starb an einer Infektion, und in fünf weiteren wurden bei der histologischen Untersuchung Anzeichen einer Infektion gefunden. In der ungeimpften Kontrollgruppe starben fünf Tiere während des Beobachtungszeitraums und 12 Tiere zeigten nach der histopathologischen Untersuchung noch Veränderungen. Der Beobachtungszeitraum war relativ kurz. SPF-Tiere spiegeln nicht die normale Katzenpopulation wider, und der infektiöse Virusstamm entsprach dem Wildtyp des Impfstammes. Aus diesen Gründen ist das Ergebnis schwer zu beurteilen (WOLF 1997).

FEHR et al. (1997) untersuchten in einem placebokontrollierten Doppelblindfeldversuch 138 Zuchtkatzen und 609 Jungkatzen auf die Wirksamkeit der Vakzine. Der Beobachtungszeitraum betrug 12-21 Monate. Die geimpften und ungeimpften Katzen unterschieden sich nicht in Alter, Rasse, Geschlecht, Haltungsbedingungen, und auch die Blutuntersuchungen zeigten einen ähnlichen Status. Von den Zuchtkatzen starben acht Tiere an einer FIP in der Impfgruppe und fünf in der Placebogruppe. Bei den Jungkatzen waren es 13 Tiere in der Impfgruppe und 18 in der Placebogruppe. Eine beschleunigte Form der Erkrankung wurde nicht festgestellt, und auch die Nebenwirkungen waren in Impfgruppe und Placebogruppe ähnlich. Viele Katzen waren zum Zeitpunkt der Impfung serologisch Coronavirus-positiv. Bei den FIP-Fällen wurde im nachhinein noch eine PCR zur Untersuchung auf Coronavirus im Plasma durchgeführt. Einige der Tiere waren zum Zeitpunkt schon PCR-positiv. Die Untersucher schlossen daraus, dass Katzen, die eine bestehende Coronavirusinfektion haben, nicht durch die Vakzine geschützt werden können. Das wurde auch dadurch belegt, dass Tiere mit einem höheren Antikörpertiter ein größeres Risiko hatten, eine FIP zu entwickeln. Bei einem Titer von kleiner als 100 konnte die FIP-

Inzidenz signifikant verringert werden.

Katzen in größeren Katzenbeständen haben ein höheres Risiko, an einer FIP zu erkranken, da dort ein Vorkommen von 80-90% an Coronavirusinfektionen besteht, im Gegensatz zu Einzelkatzenhaushalten mit bis zu 25%. Die Vakzine schützt aber nicht bei einer bestehenden Coronavirusinfektion, deshalb ist in größeren Katzenkolonien mit einer bestehenden Coronavirusinfektion eine Impfung in Frage zu stellen.

Eine Indikation für eine Impfung ist gegeben, wenn seronegative Tiere oder solche mit einem niedrigen Titer in eine Coronavirus-positive Population kommen sollen. Das Risiko und die möglichen Vorteile einer Impfung müssen sorgfältig gegeneinander abgewogen werden (WOLF 1997).



### **3. *Material und Methoden***

#### **3.1 Tiere**

In der Zeit von Februar 1998 bis September 1998 wurden Blut, Plasma oder Aszites von 188 Katzen mittels einer nested RT-PCR auf das Vorhandensein von Coronavirus-RNA untersucht. Das Material war aus diversen Tierarztpraxen an das Labor LABOKLIN in Bad Kissingen geschickt worden. Hier wurden auch die nachfolgenden Untersuchungen durchgeführt.

Material, das zur Bestimmung von Coronavirusantikörpern eingeschickt wurde, wurde für die Untersuchung ausgewählt. Zum Teil wurden noch veränderte Elektrophoresewerte als Auswahlkriterium zur Hilfe genommen. Die Krankengeschichten der Tiere waren zu diesem Zeitpunkt zumeist unbekannt.

##### **3.1.1. Patientenklassifizierung**

Die Gruppeneinteilung der Katzen erfolgte nach telefonischer Erfragung der Anamnese und des weiteren Krankheitsverlaufs bei den einsendenden Tierärzten.

Die Katzen wurden in zwei Gruppen eingeteilt:

Gruppe I      Gesunde Katzen (ohne klinische Symptome)

Zu dieser Gruppe gehörten 95 Tiere.

Gesunde Katzen durften keine klinischen Krankheitssymptome zeigen. Darunter befanden sich Katzen aus Zuchten und Tierheimen, bei denen routinemäßig eine Bestimmung des CV-Antikörpertiters durchgeführt werden sollte. Zum anderen waren es Katzen, die aus Haushalten kamen, wo FIP-Fälle aufgetreten waren, die selbst aber klinisch gesund waren. Einige Tiere stammten aus Einzeltierhaushalten und wurden bei Routinebehandlungen ,wie

z.B. Kastration und Zahnsteinentfernung, mit überprüft.

## Gruppe II FIP verdächtige Katzen

Als Grundlage der Auswahlkriterien für eine Einstufung in diese Gruppe diente der von ROHRER et al. (1993) erstellte Algorithmus (s. Abb. 1):

Zunächst wurde das klinische Gesamtbild in Zusammenhang mit der Anamnese betrachtet. Symptome wie Inappetenz, therapieresistentes Fieber, Abdominal- und/oder Pleuraerguss, Augenveränderungen und ZNS-Symptome sprachen für die klinische Verdachtsdiagnose.

Falls bei Vorliegen eines Abdominal- und/oder Pleuraergusses die Abdomino- bzw. Thorakozenese ein typisches bernsteinfarbenes, fadenziehendes Punktat erbrachte, wurde das Tier in die Kategorie der verdächtigen Katzen eingeordnet.

Verdächtig waren auch Katzen, die Anämie oder Ikterus aufwiesen, und bei denen die Proteinelektrophoreseergebnisse FIP-typisch verändert waren, d.h., der Albuminwert erniedrigt, der Globulingehalt erhöht und/oder der Albumin-Globulin-Quotient verringert waren.

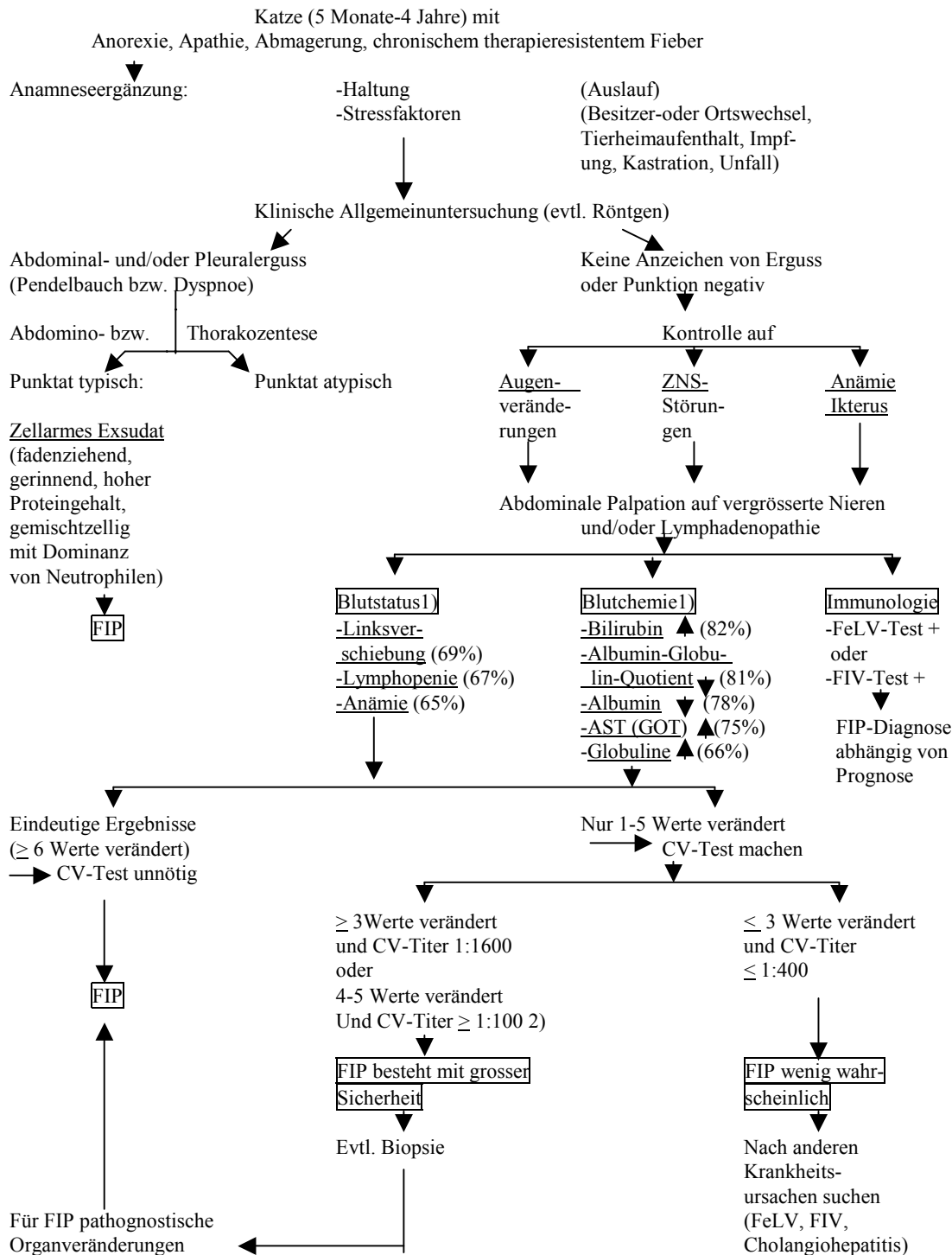
Falls der Bilirubingehalt oder der AST-Wert zur Verfügung standen und diese erhöht waren, wurden sie ebenfalls in die Beurteilung mit einbezogen.

Bei dem Differentialblutbild wurde besonders auf eine Neutrophilie und Kernlinksverschiebung sowie Lymphopenie geachtet.

Bei einigen Tieren wurde ein FeLV- bzw. FIV-Test durchgeführt. Im positiven Falle war die FIP-Diagnose nicht mehr wesentlich.

Wenn ansonsten bis drei der oben genannten Werte verändert waren, wurde der Coronavirus-Antikörpertiter mit in die Beurteilung einbezogen. Hierbei mußte er größer als 1600 sein, um mit hoher Sicherheit die Diagnose FIP stellen zu können. Wenn vier bis fünf Werte verändert waren, reichte ein Titer von größer oder gleich 100 für die gleiche diagnostische Sicherheit aus.

Die Gruppe II bestand aus 93 Tieren.



- 1) % = Prozentsatz der in der Sektion bestätigten FIP-Katzen, bei denen die genannten Parameter außerhalb unserer Referenzwerte lagen.
- 2) Wenn 4-5 Werte verändert sind und der CV-Titer < 1:100 ist oder wenn ≤ 3 Werte verändert sind und der CV-Titer 1:1600 ist, dann kann FIP weder bestätigt noch ausgeschlossen werden.

Evtl. Laborunter-suchungen wieder-holen

Abb. 1: Algorithmus zur FIP-Diagnostik modifiziert nach ROHRER (1992)

## **3.2 Nachweis von Coronavirus-RNA in Plasma, Aszites oder Vollblut klinisch gesunder oder klinisch kranker Katzen**

### **3.2.1 RNA-Isolierung**

Plasma und Aszites wurden bis zur Untersuchung bei - 20 °C eingefroren. Das EDTA-Vollblut wurde gleich nach Erhalt aufbereitet.

#### **3.2.1.1 RNA - Isolierung aus Plasma und Aszites**

RNA aus Plasma oder Ascites wurde mit dem "QIAmp Viral RNA Kit" (QIAGEN, Deutschland) nach Angaben des Herstellers isoliert. Das Prinzip beruhte auf einer Bindung der Nukleinsäure an eine Silica-Gel-geladenen Membran. Zuerst wird die Probe lysiert und RNAsen dabei denaturiert. Dann bindet die Nukleinsäure an der Membran, während Kontaminanten wie Proteine und Nukleasen herausgewaschen werden. Schließlich erfolgt die Elution der gebundenen Nukleinsäure. Da dieser Kit nicht DNA von RNA separieren kann, mußte eine Kontamination durch DNA vermieden werden. Dazu wurden die Proben 10 Minuten bei 1500 x g mit einer Tischzentrifuge (Biofuge fresco, Heraeus instruments) zentrifugiert, um einen zellfreie Flüssigkeit zu erhalten. Von dem zellfreien Überstand wurden dann 140 µl benötigt.

Ausser den Reagenzien, die im Kit enthalten sind, wurden Ethanol (96-100 %ig) (Roth, Deutschland), Eppendorf-Caps (1,5ml), sterile, RNase-freie Pipettenspitzen und Handschuhe benötigt. Zur Vorbereitung mußte der AVL-Puffer (Viruslysepuffer) aus dem Kit mit der beigefügten Träger-RNA vermischt werden. Der AVL-Puffer ist zur Lysis der Viren und Denaturierung von RNAsen nötig. Der im Kit enthaltene AW-Puffer (Waschpuffer) wurde mit dem 96-100 %-igen Ethanol versetzt. Mit ihm wurde die an die Membran gebundene RNA gewaschen und von Kontaminanten gereinigt.

140µl der auf Raumtemperatur gebrachten Probe wurden in ein 1,5 ml Eppendorf-Cap

gegeben. 560µl des mit der Träger-RNA präparierten AVL-Puffers wurden hinzugefügt und gemischt (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, USA), um eine homogene Lösung zu erhalten. Für eine vollständige Lysis der Viruskapsel und, um einen möglichst hohen Ertrag an RNA zu erhalten, wurde diese Mixtur 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. 560µl 96-100 %-igen Ethanol wurden in die Probe gegeben und vermischt. Dadurch werden die Bindungseigenschaften verbessert und der RNA Ertrag erhöht. Die QIAmp spin- Säule wurde in ein 2 ml Sammelröhrchen gestellt, und 630µl der vorher beschriebenen inkubierten Mixtur wurden dort hineinpipettiert. Danach wurde für 1 Minute bei 6000 x g mit der Tischzentrifuge Biofuge fresco (Heraeus instruments) zentrifugiert, damit die RNA an der Membran gebunden werden kann. Die QIAmp spin-Säule mit der gebundenen RNA wurde in ein neues 2 ml Sammelröhrchen gestellt und das alte mit dem Durchfluß verworfen. Der Rest der vorher beschriebenen inkubierten Mixtur wurden auf die QIAmp spin-Säule pipettiert und noch einmal bei 6000 x g zentrifugiert. Es wurden immer neue Sammelröhrchen benutzt, um mögliche Kontaminationen zu vermeiden. Der Filter wurde wieder in ein neues 2 ml Sammelröhrchen gestellt und 500µl des AW-Puffers aus dem Kit hinzugegeben. Es folgte wieder eine Zentrifugation für 1 Minute bei 20000 x g. Durch diese Zentrifugation bei höchster Geschwindigkeit sollten alle Spuren des AW-Puffers vor der Elution entfernt werden. Durchfluß und Sammelröhrchen wurden verworfen und der Filter in ein 1,5 ml Eppendorf-Cap gestellt. Die anschließende Elution der RNA erfolgte mit 50µl RNase-freiem Wasser, das auf 80°C erhitzt wurde, um eine bessere Elution zu ermöglichen und den RNA Ertrag zu erhöhen. Abschließend wurde 1 Minute bei 6000 x g zentrifugiert. Die so gewonnene RNA konnte direkt in der Reversen-Transkriptase-Reaktion eingesetzt werden.

### **3.2.1.2 RNA-Isolierung aus Vollblut**

Die RNA-Isolierung aus EDTA-Vollblut fand mit Hilfe des "QIAmp Blood Kit" von QIAGEN, Deutschland, nach Angaben des Herstellers statt.

Außer den im Kit enthaltenen Reagenzien wurden noch 96-100 %-iges Ethanol (Roth, Deutschland), 70 %-iges Ethanol (96-100 %-iges Ethanol mit RNase-freiem Wasser versetzt),

14,5 M  $\beta$ -Mercaptoethanol (SIGMA, Deutschland), 1,5-15 ml Röhrchen zur Erythrozytenlyse, sterile, RNase-freie Pipettenspitzen und Handschuhe benötigt.

Vor dem Beginn wurde der RPE-Puffer aus dem Kit mit 4 Volumeneinheiten 96-100 %igem Ethanol vermischt. RPE-Puffer ist zur Reinigung der an die membrangebundenen RNA von Kontaminanten. Der im Kit vorhandene RLT-Puffer wurde, wenn Präzipitate vorhanden waren, erst erwärmt, um diese zu lösen. RLT-Puffer ist zur Zerstörung der Leukozytenzellen notwendig. Außerdem mußte vor Gebrauch  $\beta$ -Mercaptoethanol hinzugefügt werden (10  $\mu$ l auf 1 ml Puffer).  $\beta$ -Mercaptoethanol verhindert die Bildung von Disulfidbrücken zwischen Thiolgruppen, die durch Denaturierung von Proteinketten (Leukozytenlyse) zugänglich geworden sind. RLT-Puffer war nach Zugabe des  $\beta$ -Mercaptoethanols einen Monat haltbar. Nach der Erythrozytenlyse durch den im Kit vorhandenen EL-Puffer wurden alle Schritte bei Raumtemperatur durchgeführt. Leukozytenpellets (s.u.) oder Zellysat in RLT-Puffer konnten bei  $-70^{\circ}$  C aufbewahrt werden. Zur weiteren Verarbeitung mußte das Zellysat bei  $37^{\circ}$  C für 10 Minuten inkubiert werden, um sicher zu gehen, dass alle Salze aufgelöst waren.

Für die RNA Isolierung wurden 1 ml EDTA-Vollblut benötigt. Das Vollblut wurde mit 5 ml EL-Puffer aus dem Kit versetzt. Diese Mischung wurde 10-15 Minuten auf Eis inkubiert. Durch die Zugabe dieses speziellen hypotonischen Puffers wurden die Erythrozyten selektiv lysiert. Die Leukozyten wurden bei diesem Verfahren nicht geschädigt und wurden durch 10-minütige Zentrifugation (Medifuge, Heraeus Sepatech) bei 400 x g pelletiert. Der Überstand wurde vollständig verworfen. Um restliche Spuren noch vorhandener Erythrozyten zu beseitigen, die dem Pellet einen rötlichen Farbton gaben, wurde folgender Waschschrift angeschlossen: Es wurden nochmals 2 ml EL-Puffer hinzugegeben und gut mit dem Pellet vermischt und bei 400 x g 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde wieder vollständig verworfen. Zu dem daraus entstandenen Leukozytenpellet wurden 600  $\mu$ l des mit  $\beta$ -Mercaptoethanol versetzten RLT-Puffers hinzugegeben und durch Auf- und Abpipettieren vermischt. Dadurch wurden die Leukozyten lysiert und RNasen inaktiviert. Das Leukozytenlysat wurde auf einen QIAshredder aus dem Kit pipettiert, der in einem 2 ml Sammelröhrchen saß. Dieses wurde 2 min bei 20000 x g mit der Tischzentrifuge zentrifugiert, wobei das Leukozytenlysat homogenisiert wurde. 600  $\mu$ l 70%iges Ethanol wurde hinzugegeben, um die Bindungseigenschaften zu unterstützen: die vorhandenen

Nukleinsäuren binden an eine Silica-Gel-Membran in einer Rneasy mini spin-Säule aus dem Kit. Die Probe wurde auf diese Membran pipettiert und bei 15 sec bei  $\geq 8000 \times g$  zentrifugiert. Nach Entfernung von Kontaminanten wie Proteinen und Nukleasen durch Zugabe von 700  $\mu\text{l}$  RW1-Puffer aus dem Kit und Zentrifugation für 15 sec bei  $\leq 8000 \times g$  wurde die Membran in ein neues 2 ml Sammelröhrchen gestellt. Dann wurden 500  $\mu\text{l}$  RPE-Puffer aus dem Kit hinzupipettiert und für 15 sec bei  $\leq 8000 \times g$  zentrifugiert. Dies ist ein weiterer Waschvorgang um Kontaminanten zu entfernen. Der Durchfluß wurde verworfen und nochmal 500  $\mu\text{l}$  RPE-Puffer hinzugefügt. Dann wurde 2 Minuten bei  $\geq 8000 \times g$  zentrifugiert. Diese Zentrifugation ist notwendig, um alle Spuren von Ethanol zu entfernen. Die RNA wurde nach Zugabe von 30  $\mu\text{l}$  RNase-freiem Wasser und 1 min Zentrifugation bei  $\geq 8000 \times g$  eluiert. Das Eluat wurde nochmals auf die Membran gegeben und zentrifugiert. Um einen möglichst hohen RNA Ertrag zu erhalten, wurde diese zweite Elution vorgenommen. Die gewonnene RNA konnte dann direkt in der RT-Reaktion verwendet werden. Die kleinen Mengen vorhandener DNA stören in den folgenden Reaktionen nicht, weil diese spezifisch die RNA transkribieren und amplifizieren.

### **3.2.2 Reverse Transkription**

10  $\mu\text{l}$  des RNA-Eluats (aus 3.2.1) wurden in den Deckel eines 2 ml Schraubdeckelröhrchens gegeben, in dem sich schon 5  $\mu\text{l}$  des V1-Premixes befanden: der V1-Premix bestand aus dem Reverse Transkriptase (RT)-Puffer (3  $\mu\text{l}$ ; Gibco BRL, Deutschland) und aus dem Negativprimer p211 5  $\mu\text{M}$  (2  $\mu\text{l}$ ; Roth, Deutschland). Er dient als Startmolekül für die Reverse Transkription. Nach kurzem Zentrifugieren wurde 5 Minuten bei 95 °C inkubiert, um die RNA zu denaturieren. Zur schnellen Unterbrechung der Reaktion und, damit die RNA in diesem Zustand blieb, wurde die Probe auf Eis abgekühlt. In dieses Gemisch wurden 6  $\mu\text{l}$  des V2-Premix gegeben, der aus 1  $\mu\text{l}$  RT-Puffer, 2  $\mu\text{l}$  0,1 M Dithiothreitol (DTT)(Gibco BRL, Deutschland), 1  $\mu\text{l}$  Nukleotidgemisch (dNTP, je 10mM; Pharmacia, Deutschland), 1  $\mu\text{l}$  RNA-Guard (Pharmacia, Deutschland), welcher einen Rnase-Inhibitor enthält, und 1  $\mu\text{l}$  Moloney-Mäuseleukämievirus-Reverse Transkriptase (M-MuLV-RT, 200 IU/ $\mu\text{l}$ )(Gibco BRL,

Deutschland) bestand. Diese Mischung wurde gut gemischt und kurz bei 20000 x g mit der Tischzentrifuge (Biofuge fresco, Heraeus instruments) zentrifugiert, damit die Substanzen optimal miteinander reagieren können. Dann wurde 1 Stunde bei 37 °C inkubiert. Die entstandene cDNA wurde in der PCR eingesetzt.

### **3.2.3. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)**

#### **Erste PCR**

Die PCR wurde nach den von HERREWEGH et al. (1995a) publizierten Bedingungen durchgeführt. Die PCR ist auf die hochkonservierte 3'-untranslatierte Region des FCoV gerichtet, und erkennt die meisten, wenn nicht alle FCoV-Stämme. Die PCR-Produkte haben eine Länge von 223 und 177 Basenpaaren. In der ersten PCR entsteht ein Segment von 223 Basenpaaren. In der darauffolgenden nestedPCR werden Primer verwendet, die innerhalb dieses Fragments binden, so dass ein kürzeres DNA-Fragment von 177 Basenpaaren entsteht.



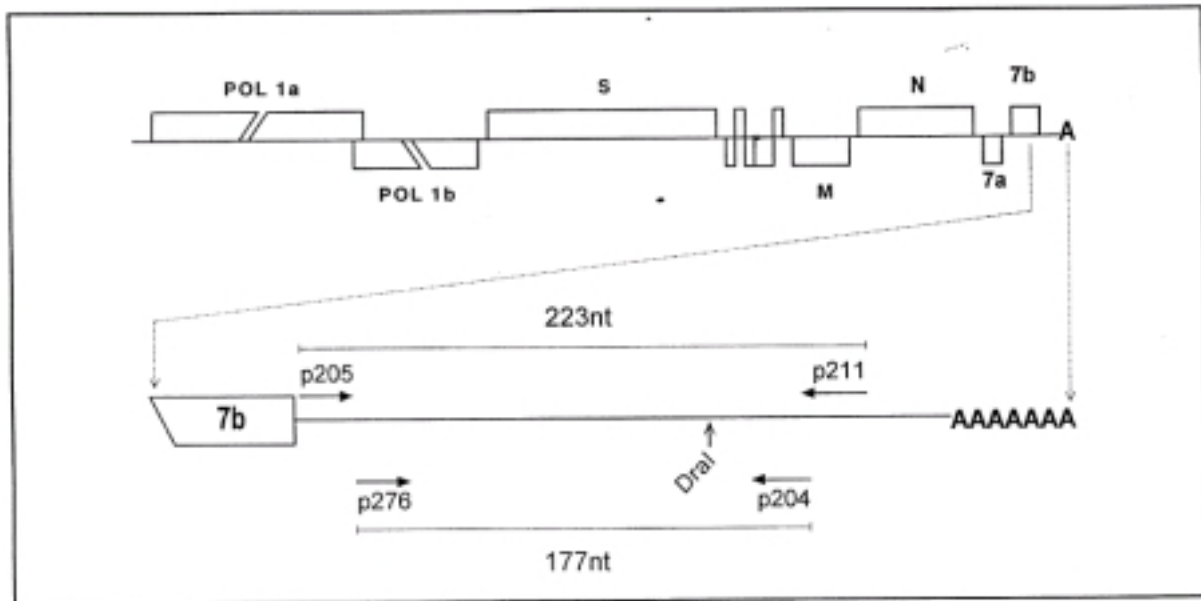


Abb. 2: Die Abbildung zeigt die genomische Organisation eines FCoV-Genoms. Die FCoV Gene werden durch die Rechtecke dargestellt: die Gene für die Polymerase (POL1a, POL 1b), das Spikeprotein (S), das Membranprotein (M), das Nukleokapsidprotein (N), und die nichtstrukturellen Proteine 7a und 7b. Im unteren Teil der Abbildung werden die Positionen der Oligonukleotide (Primer p204, p205, p211, p276) in der 3'-untranslatierten Region gezeigt. Pfeile geben die 3'→5'-Richtung an. Ebenso werden die Produkte der PCR (223 nt) und der nested PCR (177 nt) angezeigt. Die *DraI* Enzymrestriktionsstelle ist an Position 170 lokalisiert, gemessen vom Endkodon der ORF7b. Jedes FCoV-Genom enthält diese Stelle.

10  $\mu$ l der aus der Reversen Transkription entstandenen cDNA wurden in der PCR eingesetzt. Sie wurden in 90  $\mu$ l des vorher gemischten Mastermixes gegeben [Endkonzentration]: dieser bestand aus 10  $\mu$ l 10xPuffer2 (Perkin Elmer, USA) [1x 10mM Tris-HCl, pH 8,3; 50mM KCl], 8  $\mu$ l Magnesiumchlorid (25mM, Perkin Elmer, USA) [2mM], 10  $\mu$ l dNTP (10 mM, Pharmacia, Deutschland) [150 $\mu$ M], 3  $\mu$ l Primer 211 (5 $\mu$ M) [0,15M], 4  $\mu$ l Primer 205 (5 $\mu$ M) [0,2M] (beide Roth, Deutschland) und 0,5  $\mu$ l AS Taq Polymerase (5 IU/ $\mu$ l, Perkin Elmer, USA) [2,5 IU absolute Menge/Ansatz].

Es wurde RNase-freies Wasser hinzugegeben, damit ein Volumen von 90  $\mu$ l entstand.

Die PCR wurde im Gene Amp PCR-System 2400 (Perkin Elmer, USA) gestartet. Das PCR Protokoll begann mit einer Inkubation von 5 Minuten bei 90°C zur Vorerhitzung, um die

DNA vollständig zu denaturieren. Dann wurden 40 Zyklen von je 50 Sekunden bei 90 °C zur Denaturierung der DNA, 1 Minute bei 55 °C zum Anlagern der Primer und 1 Minute bei 72°C zum Verlängern gefahren. Zum Schluß wurde das PCR-Produkt auf 4°C heruntergekühlt.

### **Nested PCR**

Es werden 10 µl des PCR-Produkts aus der ersten PCR eingesetzt, die zu 90 µl eines Mastermixes II gegeben wurden. Dieser Mastermix enthielt jedoch anstatt der vorherigen Primer je 4 µl der Primer p204(5µM)[0,2µM] und p276 (5M)[0,2µM] (beide Roth, Deutschland) und 6 µl Magnesiumchlorid (25 mM)[1,5µM]. Die anderen Reagenzien wurden wie in der ersten PCR beschrieben hinzugefügt. Die dNTPs waren in diesem Ansatz in der Enkonzentration 200µM. Das PCR Protokoll war wie das oben beschriebene.

Tab. 2 Verwendete Oligonukleotid Primer in der RT-nPCR

Primer	Sequenz ( 5' nach 3' )	Position	Orientierung
P204	GCTCTTCCATTGTTGGCTCGTC	205-184	Antisense
P205	GGCAACCCGATGTTTAAACTGG	1-23	Sense
P211	CACTAGATCCAGACGTTAGCTC	223-202	Antisense
P276	CCGAGGAATTACTGGTCATCGCG	29-51	Sense

Die numerische Position bezieht sich auf das Genom des FIPV Stammes 79-1146 bestimmt vom Endcodon der ORF7b nach DE GROOT et al. (1988)

### 3.2.4 Nachweis der Amplifikate (Gelelektrophorese)

Das PCR-Produkt wurde auf einem Visigel (Stratagene, USA) nach Ethidiumbromidfärbung (1%ige Stammlösung, Roth) unter UV-Licht sichtbar gemacht. Positive Proben wurden als fluoreszierende Banden sichtbar.

Für ein Gel wurden 50 ml TAE-Puffer 10x (Trisacetat EDTA) benötigt (BioWhittaker, USA; Katalog Nr. 16-011Y) und 3 ml Visigel Separation Matrix (Stratagene, USA). Dieses wurde zusammen aufgeköcht, bis die Matrix gelöst war. Danach wurde es in einem 65°C heißen Wasserbad inkubiert, bis die Substanz ganz klar war, und 5 µl Ethidiumbromid zugegeben. Dieses Gel wurde in eine horizontale Gelkammer gegossen, wobei es beim Abkühlen polymerisierte. Ein Kamm diente zur Erzeugung von Geltaschen. Das Gel war 10 cm x 6 cm groß und hatte eine Schichtdicke von 3 mm. Es wurden 15 Geltaschen erzeugt, die eine Breite von 1,5 mm hatten.

In die Taschen wurden eine Mischung von 7,5 µl des Produktes aus der nested PCR und 2,5 µl 6x Blaupuffer gegeben. Der Blaupuffer bestand aus 0,25 % Bromphenolblau (Roth, Deutschland), 0,25 % Xylencyanol (Merck, Deutschland) und 30 % Glycerin (Roth, Deutschland). Es handelte sich um einen Gelladepuffer, der die Dichte der Probe erhöhte (Glycerol), damit die DNA sicher in ihren Napf gelangte. Zum anderen enthielt er Farbstoffe (Xylencyanol, Bromphenolblau), die im elektrischen Feld in voraussagbarer Weise zur Anode wandern.

Die Elektrophorese lief ca. 20 Minuten bei 80 Volt.

Als Negativkontrolle wurde eine Wasserkontrolle mitgeführt. Die Positivkontrolle wurde als fluoreszierende Bande des 177 Basenpaarfragments sichtbar und stammte von einer an FIP erkrankten Katze. Als Marker wurde eine 100 bp-Leiter (New England Biolabs, Deutschland) verwendet. Der Marker wurde auf die erste und die 15. Bahn aufgetragen.

### **3.3. Zusätzliche Untersuchungen**

Die Laboruntersuchungen auf Coronavirusantikörpertiter, Proteinelektrophorese und Bestimmung des Gesamtproteingehaltes wurden von dem Labor LABOKLIN in Bad Kissingen durchgeführt.

#### **3.3.1 Coronavirusantikörpertest**

Der Coronavirusantikörpertiter wurde mit einem indirekten Immunfluoreszenztest (IFAT) nachgewiesen (PEDERSEN 1976c). Für diesen Test wurden Glasplatten verwendet, auf denen sich eine Schicht einer Zellkultur aus Schweinenthyroidzellen befand. Diese Zellen wurden mit TGEV infiziert. Danach wurde die Platte gewaschen getrocknet und die Zellen fixiert. Die infizierten Zellkulturen wurden mit verschiedenen Verdünnungsstufen des Katzenserums beschichtet. Als Verdünnungsstufen wurde jeweils die zweifache Verdünnung gewählt. Die kleinste Stufe war 1:25, dann 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200 usw. Nach Inkubation und Waschen der Glasplatten wurden sie mit Kaninchen antifelinem Antikörperglobulin überschichtet, daß an einen fluoreszierenden Farbstoff chemisch gekoppelt ist. Wegen der genetischen Ähnlichkeit der Coronaviren (s.2.1.1.1) binden die felines Antikörper an das TGEV. In gleicher Weise binden die antifelinen Antikörperglobuline an die felines Antikörper. Unter UV-Licht wurden durch die Kopplung an den fluoreszierenden Farbstoff diese Bindungsstellen sichtbar. Die höchste Verdünnungsstufe, in der noch Antigen-Antikörperreaktionen deutlich sichtbar waren, gab den Titer für das getestete Tier an. Es wurde immer eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt.

Der Titer wurde bei 187 Katzen bestimmt.

### 3.3.2 Gesamtproteinbestimmung

Die Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes im Plasma bei den gesunden Katzen und in Plasma oder Aszites (falls vorhanden) bei den kranken Katzen, wurde mit dem Gerät HITACHI 717 von La Roche durchgeführt. Dieser Bestimmung lag die Biuret-Methode zugrunde. Als Referenzprotein für dieses Gerät wurde ein Humanprotein verwendet.

Die Menge wurde in g/l bestimmt, wobei Werte über 78g/l als erhöht gewertet wurden.

Gesamtprotein wurde bei 182 Katzen bestimmt.

### 3.3.3 Proteinelektrophorese

Für diese Untersuchung wurde das Gerät Elphoscan-Mini von Hirschmann und Beilner verwendet. Es handelt sich um eine automatische Serum-Eiweiß-Elektrophorese auf Cellulose-Acetatfolie. Die Proteine wandern aufgrund ihrer Eigenschaften im elektrischen Feld zur Anode oder zur Kathode. Auf Cellulose-Acetat mit einem Elektrophoresepuffer, pH 8,6, wandern sie zur Anode. Albumin hat die stärkste Negativität und wandert am schnellsten. Die Globuline haben eine schwächere Negativität und wandern somit langsamer, während das  $\gamma$ -Globulin gar nicht wandert oder sogar zur Kathode geht. Gemessen wird mittels Densitometrie mit einer Wolfram-Halogenlampe. Die Probenmenge betrug 40  $\mu$ l. Es wurden Albumin,  $\alpha$ -Globulin,  $\beta$ -Globulin und  $\gamma$ -Globulin bestimmt. Der Normalbereich von Albumin lag zwischen 32,0 und 49,0 g/l, von  $\alpha$ -Globulin zwischen 7,0 und 15,0 g/l, von  $\beta$ -Globulin zwischen 6,0 und 19,0 g/l und von  $\gamma$ -Globulin zwischen 5,0 und 15 g/l und Zudem wurde noch der Albumin-Globulin-Quotient bestimmt (A/G), welcher zwischen 0,60 und 1,51 liegen sollte.

Diese Untersuchung wurde für 182 Katzen durchgeführt.

### 3.3.4 FeLV- und FIV-Test

Ein FeLV-Test wurde mit dem ViraCHEK/FeLV Antigen Test Kit (Synbiotics, USA) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Für die Durchführung des Tests wurden 50 µl Vollblut, Serum oder Plasma benötigt. Die Teströhrchen enthielten Antikörper gegen das gruppenspezifische Antigen p27 des FeLV. Ein monoklonaler Antikörper gegen p27 war mit einer Meerrettich Peroxidase markiert. Dieser wurde in das beschichtete Röhrchen gegeben und danach das Probenmaterial hinzugefügt. Die Probe (Plasma, Vollblut oder Serum) wurde gleichzeitig mit der festen Phase und den enzymgebundenen Antikörpern für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Virus und freie gruppenspezifische Antigene wurden zur gleichen Zeit an das Röhrchen und die enzymgebundenen Antikörper angelagert. Die freien enzymgebundenen Antikörper wurden mit einer Waschlösung herausgewaschen. Dann wurde ein chromiertes Substrat hinzugefügt, das nach 5 Minuten durch blaue Verfärbung ein positives Testergebnis anzeigte. Zur Kontrolle wurden immer eine Positiv- und Negativprobe mitgeführt.

Ein FeLV-Test wurde bei 43 Katzen durchgeführt.

Der FIV-Test wurde mit dem ViraCHEK/FIV (Synbiotics, USA), welcher Antikörper gegen ein enzymgebundenes hochspezifisches Peptid des FIV nachweist, nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Zur Durchführung wurden 0,1 µl Vollblut, Serum oder Plasma benötigt. Die im Test enthaltenen Plastikröhrchen waren mit Protein A beschichtet, das Antikörper gegen FIV bindet. Ein hochspezifisches mit Meerrettichperoxidase gekennzeichnetes Peptid des FIV wurde in die beschichteten Röhrchen gegeben. Danach wurde das Probenmaterial hinzugegeben. Dann wurde das Röhrchen mit den enthaltenen Materialien für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Antikörper banden an das beschichtete Röhrchen und an das enzymgebundene FIV-Peptid zur selben Zeit. Nachdem das freie enzymgebundene Peptid mit einer Waschlösung fortgewaschen war, wurde ein chromiertes Substrat hinzugegeben. Nach 5 Minuten zeigte eine blaue Verfärbung ein positives Testergebnis an.

Auf FIV wurden 28 Tiere untersucht.

### 3.3.5 Zusätzliche Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden vom Labor LABOKLIN in Bad Kissingen durchgeführt.

Zusätzliche Blutwerte wurden nur bei wenigen Katzen bestimmt. Die Gesamtbilirubinbestimmung, die Bestimmung der Enzyme und die Bestimmung von Natrium, Kalium, Kalzium und Phosphor wurden mit dem Gerät Hitachi 717 von Boehringer (Mannheim) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Indirektes Bilirubin wurde durch ein Detergenz freigesetzt, und dann wurde das Gesamtbilirubin mit einer Diazoniumverbindung zu dem entsprechenden Azobilirubin gekoppelt. Die Enzymbestimmung wurde durch eine entsprechende Enzym-Substratumwandlung nachgewiesen. Das Enzym bindet an ein Substrat, dieses wird in einer Reaktionskette mit einem Reaktionspartner durch das Enzym in ein Folgesubstrat umgewandelt. Das Enzym wirkt als Katalysator und beschleunigt die Reaktion. Die Enzymaktivität wird entweder durch das Verschwinden des Substrates oder durch die Bildung des Folgesubstrates in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt.

Natrium- und Kaliumionen wurden mit selektiven Elektroden im Vergleich zu einer Referenzelektrode bestimmt. Phosphor wurde über einen Ammonium-Phosphomolybdat-Komplex nachgewiesen, der aus anorganischem Phosphat entsteht.

Das weiße und das rote Blutbild wurden mit dem Gerät Cell-Dyn 3500 von Abbott bestimmt. Es findet eine optische Zählung der weißen Blutkörperchen statt und zur Differenzierung eine Widerstandsmessung. Es handelt sich hierbei um ein Flow-Zytometrie Verfahren auf Laserbasis. Die in einer Trägerflüssigkeit suspendierten Zellen passieren in dem Flüssigkeitsstrom, einen Meßpunkt. Der Detektor an diesem Meßpunkt reagiert auf Änderungen des Streulichts, des absorbierten Lichts oder des von der Zelle emittierten Lichts (Fluoreszenz) oder des elektrischen Widerstands, die beim Passieren des Meßpunktes durch die Zelle hervorgerufen werden. Ein zweiter Widerstandsmeßkanal ist für die roten Blutkörperchen und Thrombozyten zuständig. Hämoglobin wird photometrisch bestimmt.

### **3.4 Datenerfassung und Statistische Auswertung**

Die Datenerfassung erfolgte nach dem in Abbildung 4 dargestelltem Schema.

Die Anamnese und der Krankheitsverlauf wurde von den einsendenden Tierärzten telefonisch erfragt.(s. S. 57)



**laufende Nummer:** \_\_\_\_\_

## Untersuchungsergebnisse

**Labornummer:** \_\_\_\_\_

### *Ergebnis der Elektrophorese*

Probeneingang: \_\_\_\_\_

Gesamteiweiß:

Albumin:

Probenentnahme: \_\_\_\_\_

$\alpha$ -Globulin:

$\beta$ -Globulin

tierärztliche Praxis

Patientenbesitzer:

$\gamma$ -Globulin

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### *Blutbild*

**Patient:** \_\_\_\_\_

Leukozyten:

Klinisch krank:

klinisch gesund

Neutrophile:

Rasse: \_\_\_\_\_ Geschlecht: \_\_\_\_\_ Alter: \_\_\_\_\_

Lymphozyten:

Einzelhaltung: ja                      nein

Monozyten:

### **Anamnese**

Eosinophile:

*Beginn der klinischen Anzeichen ( Zeitpunkt ):*

Basophile:

*Art der klinischen Anzeichen*

ja                      nein

Erythrozyten:

Hämoglobin:

Fieber:

Hämatokrit:

Inappetenz:

Plt:

Kachexie:

*Coronavirus-AK-Titer:*

Anämie:

*PCR zum Nachweis genomischer RNA:*

Aszites:

*PCR zum Nachweis von mRNA:*

Ikterus:

sonstige:

*vorhergegangene Untersuchungen und Ergebnisse*

Blutwerte:

Röntgen:

Ultraschall:

Abb. 4: Schema für die Datenerfassung

Zur statistischen Auswertung wurde das Statistical Analysis System (SAS) des Instituts für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover verwendet.

Um die beiden Untersuchungsgruppen statistisch vergleichen zu können, mußten für die vorhandenen Parameter unterschiedliche statistische Verfahren angewandt werden.

Das Alter der gesunden und kranken Katzen wurde mit dem Wilcoxon-Test für unabhängige, nicht normal verteilte Stichproben verglichen. Der Eiweißgehalt für gesunde und kranke Katzen wurde mit dem Students T-Test für unabhängige normalverteilte Stichproben verglichen. Das Geschlechterverhältnis der beiden Gruppen wurde mit dem Chi-Quadrat-Homogenitätstest verglichen, ebenso die Ergebnisse des Coronavirusnachweises in den unterschiedlichen Materialien, die Coronavirus-Antikörperbestimmung und die Blutwerte der Proteinelektrophorese. Der Chi-Quadrat-Test wurde gewählt, wenn zwei Gruppen vorhanden waren (z.B. krank/gesund), und ein Wert, der oberhalb oder unterhalb einer Grenze lag (z. B. positiv/negativ). Die PCR-Ergebnisse wurden mit den Coronavirus-Antikörpertitern mittels des von Mc Nemar modifizierten Vorzeichentestes verglichen. Er wurde angewandt, um die beiden Untersuchungsmethoden (CV- AK-Test und PCR) in einer Untersuchungsgruppe miteinander zu vergleichen. Um die Leistungsfähigkeit der PCR als diagnostischen Test zu überprüfen, wurden die Sensitivität und die Spezifität (s.4.5) berechnet (KREIENBROCK und SCHACH 1997) .

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Signalement

#### Alter

Insgesamt war das Alter bei 160 Tieren bekannt. Im Durchschnitt betrug es 3,5 Jahre und lag zwischen 2 Monaten und 17 Jahren. 50% der Katzen waren bis zu 2 Jahre alt und 75 % bis zu 5 Jahre.

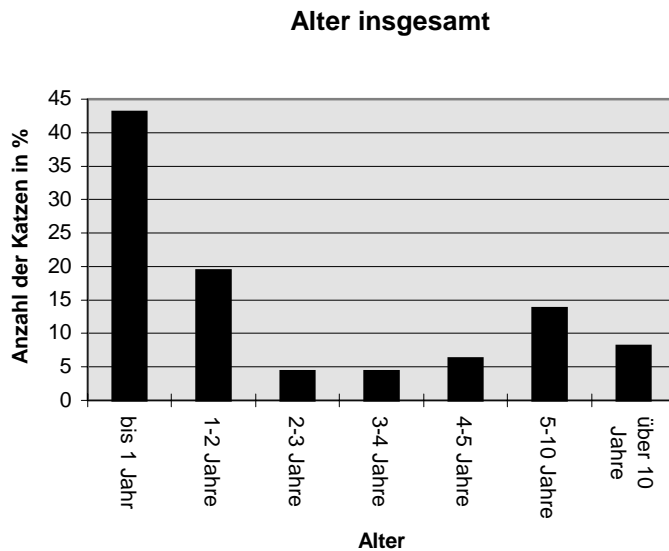


Abb. 5: Altersverteilung in der FIP-verdächtigen und gesunden Gruppe zusammen

#### *Gesunde Katzen*

Das Durchschnittsalter der Katzen betrug 3,5 Jahre. Das Alter lag zwischen 3 Monaten und 15 Jahren, wobei bei 20 Katzen das Alter nicht ermittelt werden konnte. 40 % der gesunden Katzen waren bis zu einem Jahr alt. Weitere 12,3 % waren bis zwei Jahre alt. 73,3 % der gesunden Katzen waren bis fünf Jahre alt.

### FIP verdächtige Katzen

Das Durchschnittsalter der FIP-verdächtigen Katzen betrug 3,5 Jahre. Es lag zwischen 2 Monaten und 17 Jahren. Bei 8 Katzen konnte das Alter nicht bestimmt werden.

Tab. 3: Altersverteilung in der FIP-verdächtigen Gruppe

Alter in Jahren	Anzahl in Prozent
≤ 1	45,9
>1 bis 3	21,1
>3 bis 5	8,3
>5 bis 10	15,3
>10 bis 14	7
> 14	2,4

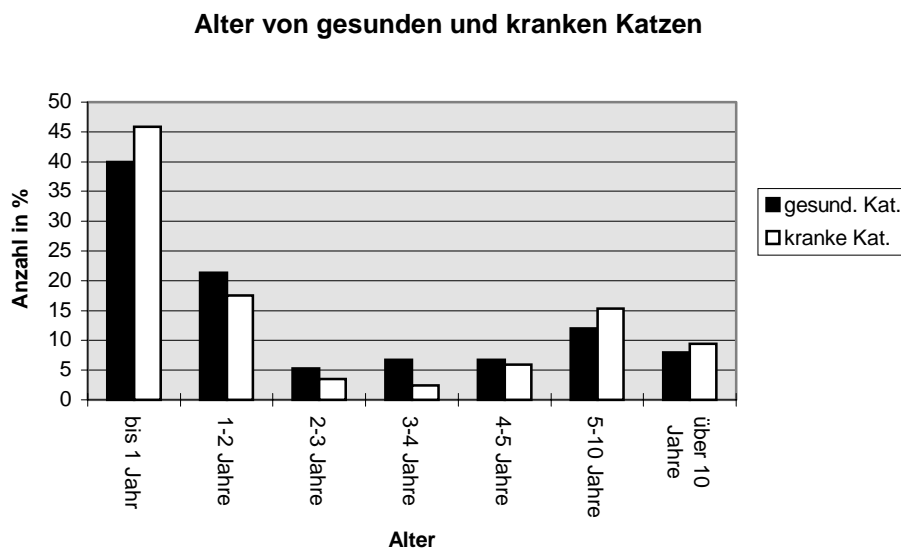


Abb. 6: Altersverteilung in der FIP-verdächtigen und in der gesunden Gruppe im Vergleich

Bei den jungen Katzen (< 1 Jahr) sowie bei älteren Tieren (> 5 Jahre) zeigte sich eine leichte Tendenz eines höheren Anteils FIP-verdächtiger Katzen, der statistisch jedoch nicht signifikant war (p-Wert = 0,6857).

### Geschlecht

Die Geschlechtsverteilung sah folgendermaßen aus.

Tab. 4: Geschlechtsverteilung

	<b>insgesamt</b>	<b>FIP-verdächtig</b>		<b>gesund</b>	
<i>männlich</i>	93	50	55,6%	43	47,8%
<i>weiblich</i>	87	40	44,4%	47	52,2%
<i>nicht bestimmt</i>	8	3		5	

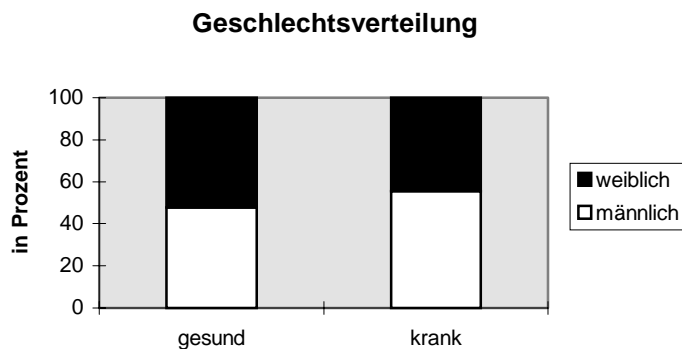


Abb. 7: Geschlechtsverteilung in der FIP-verdächtigen und der gesunden Gruppe

Der p-Wert zum Chi-Quadrat-Homogenitätstest betrug 0,296. Die Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen war somit nicht signifikant unterschiedlich.

Rasse

Die Rasseverteilung sah folgendermaßen aus:

Tab. 5: Rasseverteilung \*)

	<b>insgesamt</b>	<b>gesund</b>	<b>FIP- verdächtig</b>
<i>Europäisch Kurzhaar</i>	124	59	65
<i>Perser</i>	26	17	9
<i>Norwegische Waldk.</i>	5	4	1
<i>Heilige Birma</i>	6	4	2
<i>Britisch Kurzhaar</i>	8	4	4
<i>Colour Katze</i>	1	-	1
<i>Kartäuser</i>	4	1	3
<i>Maine-Coon</i>	6	3	3
<i>Rhagdoll</i>	1	1	-
<i>Siam</i>	1	-	1
<i>Sibirische Waldk.</i>	1	1	-
<i>Somali</i>	1	-	1
<i>Mix</i>	3	1	2

\*) bei einer FIP-verdächtigen Katze war die Rasse nicht bekannt.

## 4.2 Anamnese

### Haltung

Die Haltungsformen wurden unterteilt in Einzeltierhaushalt, Mehrkatzenhaushalt, Katzen, die aus Zuchten stammten, und Tierheimkatzen.

Tab. 6: Haltungsformen

	insgesamt		gesund		FIP-verdächtig	
	Anzahl	in %	Anzahl	in %	Anzahl	in %
<i>Einzeltier</i>	67	35,7%	32	33,7%	35	37,6%
<i>Mehrkatzenhaushalt</i>	73	38,6%	36	37,9%	37	39,8%
<i>Tierheim</i>	16	8,9%	10	10,5%	6	6,5%
<i>Zucht</i>	32	16,8%	17	17,9%	15	16,1%

Der p-Wert zum Chi-Quadrat-Homogenitätstest betrug 0,855. Somit ergab sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung der Haltungsformen zwischen der FIP-verdächtigen und der gesunden Tiergruppe.

## 4.3. Symptome

Aufgrund der telefonischen Befragung bei den einsendenden Tierärzten ergab sich folgende Verteilung der in Tabelle 7 aufgelisteten Symptome.

Tab. 7: Symptome bei den FIP verdächtigen Katzen

Symptome	Anzahl der Katzen in %
Inappetenz	92,5
Kachexie	86,0
Fieber	65,6
Aszites/Pleuralerguß	54,8/4,3
Ikterus	45,2
Anämie	40,9
Apathie	30,1
Augenveränderungen	5,4
ZNS-Symptome	3,2

Symptomverteilung

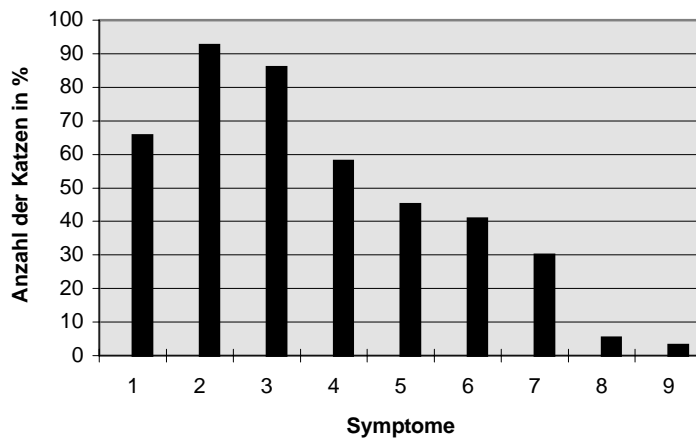


Abb. 8: Symptomverteilung bei den FIP-verdächtigen Katzen

1=Fieber, 2=Inappetenz, 3=Kachexie, 4=Aszites/Pleuralerguß, 5=Ikterus, 6=Anämie, 7=Apathie, 8=Augenveränderungen, 9= ZNS-Symptome



weitere Symptome

Die oben aufgeführten Krankheitszeichen zählen zu den Hauptsymptomen bei einer FIP-Erkrankung. Nach diesen Symptomen wurden die Tiere in die Gruppe der FIP-verdächtigen Katzen eingeordnet. Aufgrund der Komplexizität der Erkrankung können aber noch weitere Symptome auftreten, die in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet sind.

Tab.8: Weitere Symptome bei den FIP-verdächtigen Tieren

<b>Symptome</b>	<b>Anzahl</b>	<b>in %</b>
Dyspnoe	9	9,7
Diarrhoe	9	9,7
Untertemperatur	6	6,5
Rhinitis	4	4,3
Erbrechen	3	3,2
Exsikkose	2	2,2
Stomatitis/Gingivitis	2	2,2
Lymphadenopathie	2	2,2
Koprostase	1	1,1
"Kümmern"	1	1,1
Polydipsie	1	1,1
Polyurie	1	1,1

#### 4.4 Laboruntersuchungen

##### Gesamteiweißgehalt

Ein Eiweißgehalt über 78 g/l galt als erhöht, ein Wert unter 55 g/l als erniedrigt (PEDERSEN 1987a).

Tab. 9: Tiere (in Prozent), die einen erhöhten oder erniedrigten Gesamtproteingehalt in Plasma oder Aszites (FIP-verdächtige Katzen) beziehungsweise Gesamtproteingehalt im Plasma (gesunde Katzen) aufwiesen. Diese Untersuchung wurde bei 91 von den 93 FIP-verdächtigen Tieren und 91 von den 95 gesunden Tieren durchgeführt.

	<b>gesunde Tiere in % (n=91)</b>	<b>verdächtige Tiere in % (n=91)</b>
<i>Gesamtproteingehalt in Plasma erniedrigt</i>	3,3	12,1
<i>Gesamtproteingehalt in Plasma oder Aszites erhöht</i>	36,3	57,1

Bei den gesunden Tieren konnte der Eiweißgehalt nur aus dem Plasma bestimmt werden. Der mittlere Eiweißgehalt im Plasma lag bei 75,26 g/l. Der niedrigste Wert betrug 36 g/l und der höchste 152 g/l. 25 % der Tiere hatten einen Wert bis 66 g/l und 50 % bis 71,6 g/l. Bei 36,3 % der Tiere war der Gesamteiweißgehalt erhöht.(s. Abb. 9)

Bei den FIP-verdächtigen Katzen wurde dieser Wert im Plasma und, wo möglich, aus dem Aszites bestimmt Der mittlere Eiweißgehalt lag bei 81,0 g/l. Der niedrigste Wert betrug 29 g/l und der höchste 130 g/l, wobei 25 % der Tiere Werte bis 70 g/l aufwiesen und 50 % bis 81 g/l (s. Abb. 9). Bei den FIP-verdächtigen Tieren war der Gesamtweiweißgehalt - statistisch signifikant - bei 57,1 % der Tiere erhöht. Ein erniedrigter Eiweißgehalt kam bei 3,3 % der

gesunden und 12,1 % der FIP-verdächtigen Katzen vor. Die Hypoproteinämie zeigte sich bei den gesunden Katzen ohne relative Veränderung der einzelnen Eiweißfraktionen.

Der p-Wert (Students-T-Test) betrug 0,0167. Der Vergleich der Mittelwerte ergab einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Der Chi-Quadrat-Homogenitätstest ergab einen p-Wert von 0,005. Das heißt, in der Gruppe der FIP-verdächtigen Tiere hatten signifikant mehr Tiere einen erhöhten Proteingehalt in Plasma oder Aszites.

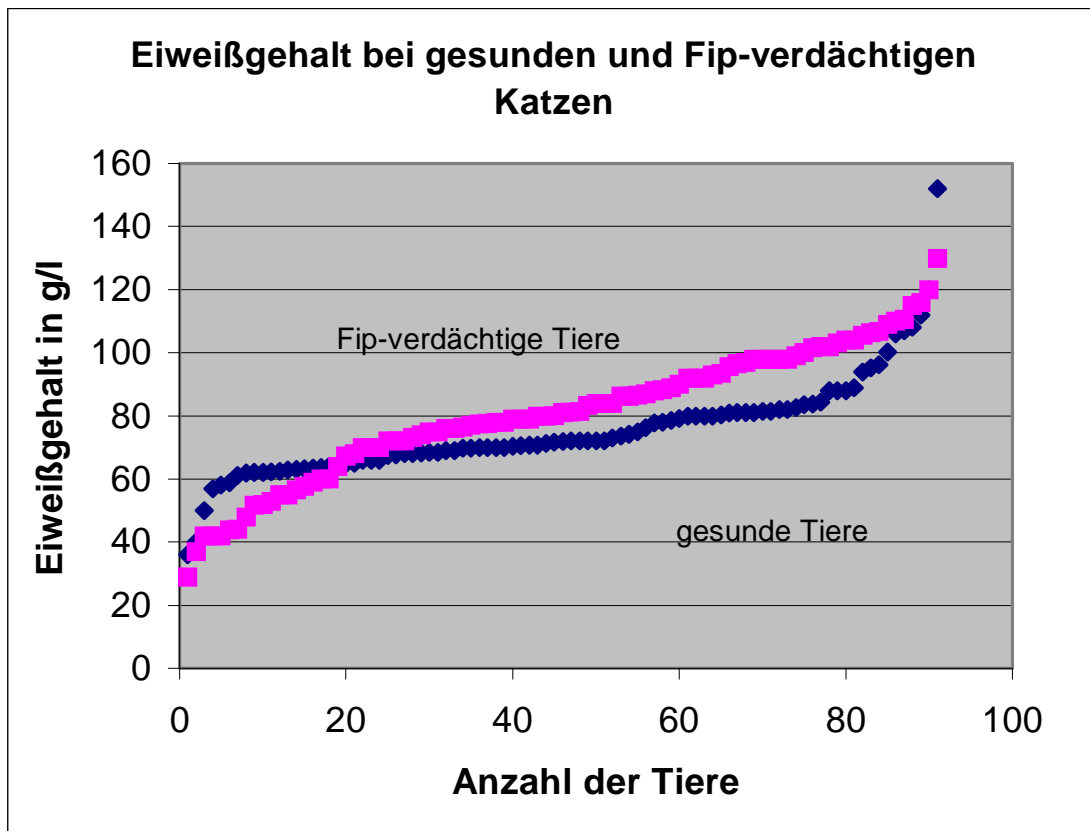


Abb. 9: Eiweißgehalt bei gesunden und Fip-verdächtigen Katzen

Proteinelektrophorese

Die Proteinelektrophorese wurde mit dem Plasma von 91 gesunden Tieren und mit Plasma oder Aszites von 91 verdächtigen Tieren durchgeführt.

Ein Albumin-Globulin-Quotient von kleiner als 0,6 galt als erniedrigt (HIRSCHBERGER et al. 1995). Der Albumingehalt war erniedrigt, wenn er unter 32 g/l lag. Der Globulingehalt galt als erhöht, wenn er über 43 g/l lag (ROHRER 1992). Der  $\gamma$ -Globulingehalt galt als erhöht, wenn er mehr als 15 g/l betrug (BARLOUGH et al. 1981).

Tab. 10: Anzahl der Tiere in Prozent, die einen erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten, einen erniedrigten Albumingehalt, einen erhöhten Globulin- und  $\gamma$ -Globulingehalt aufwiesen

	<b>gesunde Tiere in % (n=91)</b>	<b>verdächtige Tiere in % (n=91)</b>
<i>Albumin-Globulin-Quotient erniedrigt(&lt;0,6)</i>	16,5	87,9
<i>Albumin erniedrigt(&lt;32g/l)</i>	53,8	87,9
<i>Globulin erhöht(&gt;43g/l)</i>	41,8	81,3
<i><math>\gamma</math>-Globulin erhöht(&gt;15g/l)</i>	48,35	89,0

Eine Hyperproteinämie ohne absolute Veränderung der Globulinfraktionen zeigten zwei gesunde Katzen. Bei den gesunden Katzen mit Hyperproteinämie und Veränderungen der Eiweißfraktionen hatten 15 Katzen einen erniedrigten Albumin-Globulinquotienten, sechs einen erhöhten  $\beta$ -Globulingehalt, 25 einen erhöhten  $\gamma$ -Globulingehalt und 18 einen erniedrigten Albumingehalt. Bei den gesunden Katzen mit einem Eiweißgehalt im Normbereich wiesen 28 Katzen einen erniedrigten Albumingehalt, neun einen erhöhten  $\beta$ -Globulingehalt und 15 einen erhöhten  $\gamma$ -Globulingehalt auf.

Der Chi-Quadrat-Homogenitätstest wurde hier verwendet, um zu untersuchen, ob die Gruppe

der FIP-verdächtigen Tiere in den vorher beschriebenen Eiweißfraktionen signifikant mehr Tiere mit Veränderungen hat, als die Gruppe der gesunden Katzen. Ein p-Wert von  $< 0,05$  galt als signifikant.

Der p-Wert des Chi-Quadrat-Homogenitätstests ergab für Albumin, Globulin und  $\gamma$ -Globulin und den Albumin-Globulin-Quotienten jeweils einen Wert von 0,001. Das bedeutet, dass in der verdächtigen Gruppe signifikant mehr Katzen erniedrigte Albuminwerte, erhöhte Globulin- und erhöhte  $\gamma$ -Globulinwerte und einen erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten aufwiesen.

Da der Albumin-Globulinquotient sich aus Albumin und Globulin zusammensetzt, kann er erniedrigt sein, wenn Albumin erniedrigt ist, Globulin erhöht ist, oder beides der Fall ist.

Der A/G-Wert wurde so niedrig gewählt, dass möglichst beide Werte verändert sein sollten.

Tab. 11: Wieviel Katzen mit einem erniedrigten A/G auch erniedrigte Albumin- und/oder erhöhte Globulinwerte aufwiesen.

<b>Gruppe der Tiere</b>	<b>A/G &lt; 0,6 (n=91)</b>	<b>Albumin &lt;32g/l</b>	<b>Globulin&gt;43g/l</b>	<b><math>\gamma</math>-Glob.&gt;15g/l</b>
<b>gesund</b>	15	14	15	13
<b>FIP-verdächtig</b>	80	78	72	77

$\gamma$ -Glob.=  $\gamma$ -Globulingehalt, von den 15 gesunden Tieren, die einen erniedrigten A/G hatten hatten 14 Tiere einen erniedrigten Albuminwert, 15 einen erhöhten Gobulingehalt und 13 einen erhöhten  $\gamma$ -Globulingehalt. Von den 80 FIP-verdächtigen Tieren mit erniedrigtem A/G, hatten 78 Tiere einen erniedrigten Albumingehalt, 72 einen erhöhten Globulingehalt und 77 einen erhöhten  $\gamma$ -Globulingehalt.

Die 3 Tiere, die einen Albumingehalt im Normbereich hatten, hatten in beiden Gruppen erhöhte Globulin- als auch  $\gamma$ -Globulinwerte .

Von den 8 Tieren aus der kranken Gruppe mit Globulingehalt im Normbereich hatten 2 auch einen  $\gamma$ -Globulinwert im Normbereich. Bei den anderen 6 war der  $\gamma$ -Globulinwert erhöht.

Rivaltaprobe

In vier Fällen wurde eine Rivaltaprobe mit dem Aszites durchgeführt, die bei allen vier Tieren ein positives Ergebnis brachte.

zusätzliche Blutuntersuchungen

Bei 51 verdächtigen Katzen wurden zusätzliche Blutuntersuchungen durchgeführt.

Tab. 12: Zusätzliche Blutuntersuchungen

<b>Blutparameter</b>	<b>Tiere (Anzahl)</b>	<b>Wert im Normbereich</b>	<b>Wert erhöht</b>	<b>Wert erniedrigt</b>
<b>Gesamtbilirubin</b> (-0,2mg/100ml)	21	8	13	-
<b>AST</b> (-40 U/l)	7	1	6	-
<b>ALT</b> (-50 u/l)	21	13	8	-
<b>BUN</b> (20-70 mg/100ml)	17	8	9	-
<b>CREA</b> (-1,6 mg/100ml)	14	10	3	1
<b>GLDH</b> (-6 U/l)	4	3	1	-
<b>AP</b> (-70 U/l)	5	4	1	-
<b>α-Amylase</b> (970-1790 U/l)	1	-	1	-
<b>Glucose</b> (55-130 mg/100ml)	3	1	2	-
<b>Lipase</b> (0-150 U/l)	2	2	-	-
<b>Neutrophile Granulozyten</b> (50-70 %)	23	1	18	4
<b>Lymphozyten</b> (20-40 %)	13	3	3	7
<b>Erythrozyten</b> (5-10 Mio/μl)	4	-	-	4
<b>Hämoglobin</b> (8-17 g/100ml)	8	4	-	4
<b>Hämatokrit</b> (25-45 %)	15	7	-	8
<b>Natrium</b> (145-165 mmol/l)	3	3	-	-
<b>Kalium</b> (3-5 mmol/l)	3	1	2	-
<b>Calcium</b> (4-6 mmol/l)	3	1	2	-
<b>Phosphor</b> (2,5-5 mmol/l)	3	1	2	-

Eine Hyperbilirubinämie war bei 13 der 21 untersuchten Katzen vorhanden.

Enzymwerte wurden nur für eine geringe Anzahl der verdächtigen Katzen bestimmt. AST war hierbei bei sechs von sieben getesteten Katzen, ALT bei 8 von 21 Katzen erhöht.

In unserer Studie hatten von 17 getesteten Tieren 52,9 % einen erhöhten Harnstoffwert und von 14 getesteten Tieren 21,4 % einen erhöhten Kreatininwert.

Eine Leukozytose wiesen 78,3 % der 23 untersuchten Katzen auf, während bei 22,2 % eine Leukopenie vorhanden war. Ein Lymphozytenwert war bei 14 Tieren verfügbar; 53,8 % hatten eine Lymphopenie und 23,1 % eine Lymphozytose.

Die Erythrozytenzahl war bei den vier Tieren, bei denen dieser Wert bestimmt wurde, erniedrigt. Hämoglobin war bei vier von 8 Tieren und der Hämatokrit bei 8 von 15 überprüften Tieren erniedrigt.

Der Kalium-, Kalzium- und Phosphorblutspiegel war jeweils bei zwei von drei Tieren erhöht. Thrombozyten wurden nicht bestimmt.

### *FeLV- und FIV-Test*

#### *Gesunde Katzen*

Es wurden 18 Tiere auf feline Leukose getestet und 12 auf FIV. Alle getesteten Katzen wiesen ein negatives Resultat auf.

#### *FIP-verdächtige Katzen*

Von den 25 auf feline Leukose getesteten Katzen waren 2 Tiere positiv. Von den 16 auf FIV getesteten Tieren war 1 Tier positiv. Diese Tiere waren nicht identisch.

Die Signifikanzberechnung konnte aufgrund der geringen Anzahl der getesteten Tiere nicht erfolgen.



CV-Antikörpertiter

Es wurde bei 94 gesunden Katzen und bei 93 FIP-verdächtigen Katzen der Coronavirus-Antikörpertiter im Plasma oder Aszites bestimmt (s. 3.3.1).

75,5 % der gesunden Tiere und 98,9 % der FIP-verdächtigen Tiere hatten einen Titer  $\geq 25$ .

Tab. 13: Verteilung der CV-Antikörpertiter in beiden Gruppen

<b>CV-AK-Titer (s. 3.3.1)</b>	<b>gesunde Tiere in % (n=94)</b>	<b>FIP-verdächtige Tiere in % (n=93)</b>
< 25	24,5	1,1
25	17,0	4,3
100	12,8	12,9
400	38,3	37,6
800	5,3	21,5
1600	2,1	21,5
3200	--	1,1

18,3 % der FIP-verdächtigen Katzen hatten einen Titer von  $\leq 100$ . 58,5 % der gesunden Tiere hatte einen Titer von  $\geq 100$  (s. 5.5.1 CV-Antikörpertiter). Dieses Ergebnis zeigt, dass sowohl erkrankte Tiere einen niedrigen Antikörpertiter haben können, als auch gesunde Tiere einen hohen Titer. Aus diesem Grund ist eine Diagnose aufgrund der Serologie nicht zulässig.

### CV-Antikörpertiter (s.3.3.1)

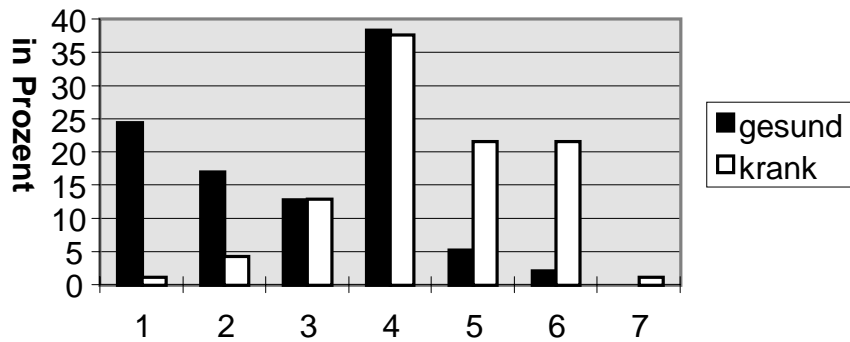


Abb. 10: CV-Antikörpertiterverteilung bei gesunden und FIP-verdächtigen Katzen

1 = <25; 2 = 25; 3 = 100; 4 = 400; 5 = 800; 6 = 1600; 7 = 3200

Tab. 14: CV-Antikörpertiter < 400 und  $\geq$  400 bei gesunden und FIP-verdächtigen Katzen

	<b>Titer &lt; 400</b> Anzahl in %	<b>Titer <math>\geq</math> 400</b> Anzahl in %
<b>gesund</b>	54,3	45,7
<b>FIP-verdächtig</b>	18,3	81,7

Der p-Wert zum Chi-Quadrat-Homogenitätstest betrug 0,001, d.h., in der Gruppe der FIP-verdächtigen Tiere hatten signifikant mehr Tiere einen Titer  $\geq$  400.

Bei fünf gesunden Katzen wurde nach mehreren Wochen nochmals eine CV-Antikörpertiterbestimmung durchgeführt (s. Tab. 14).

Tab.15: gesunde Tiere, bei denen nochmals eine Titerbestimmung vorgenommen wurde

<b>Tier</b>	<b>1. Titer</b>	<b>2. Titer</b>
<b>1</b>	400	25
<b>2</b>	400	25
<b>3</b>	400	100
<b>4</b>	400	400
<b>5</b>	1600	100

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Coronavirusantikörpertiter bei gesunden Katzen nach überstandener Infektion mit Coronaviren wieder sinken kann (s. 5.5.1 CV- Antikörpertiter).

#### 4.5 PCR Ergebnisse

Eine der vorhandenen Proben (Plasma, Aszites oder Vollblut) mußte mindestens positiv sein, um das Tier als FCoV-positiv zu bewerten.

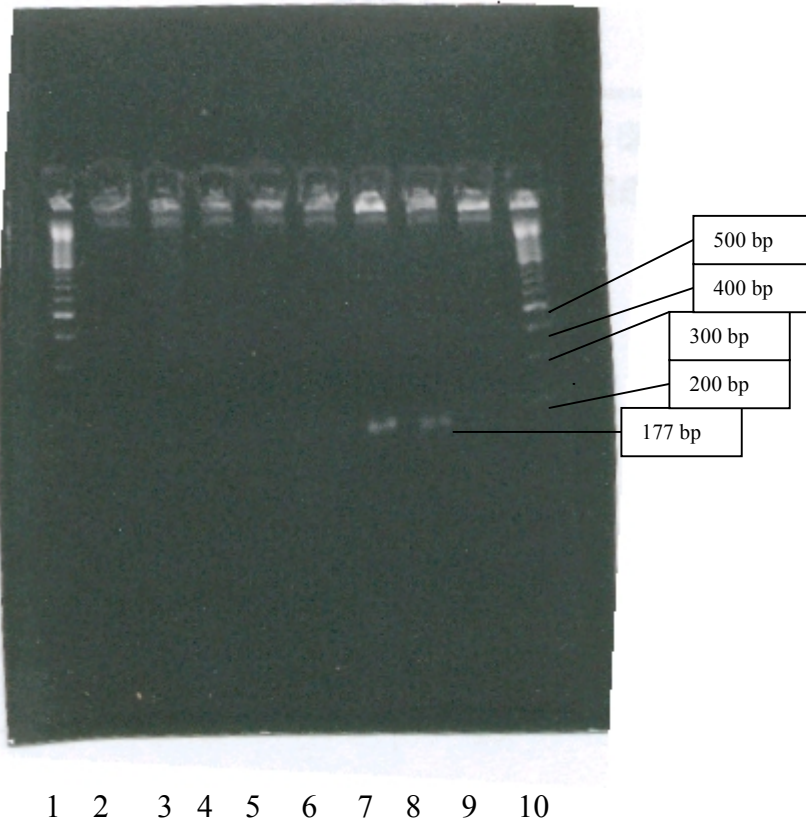


Abb. 11: Darstellung der DNA-Banden durch die Gelelektrophorese unter UV-Licht

1-5 erste PCR, 6-10 nested PCR

1=Marker, 2=Negativprobe, 3=Positivprobe, 4=Positivkontrolle, 5=Negativkontrolle;

6=Negativprobe, 7=Positivprobe, 8=Positivkontrolle, 9=Negativkontrolle, 10=Marker

In der Abbildung sieht man, dass in der ersten PCR generell noch keine Banden nachweisbar waren. Aus diesem Grund wurde eine nested PCR angeschlossen, um auch kleinste Mengen von Virus-RNA nachzuweisen.

Tab. 16: PCR-Ergebnisse aus Plasma, Aszites oder Vollblut bei gesunden und bei FIP-verdächtigen Tieren

	<b>Gesamt</b>	<b>positiv</b>		<b>negativ</b>	
<b>gesund</b>	95	25	26,3 %	70	73,7 %
<b>FIP-verdächtig</b>	93	48	51,6 %	45	48,4 %

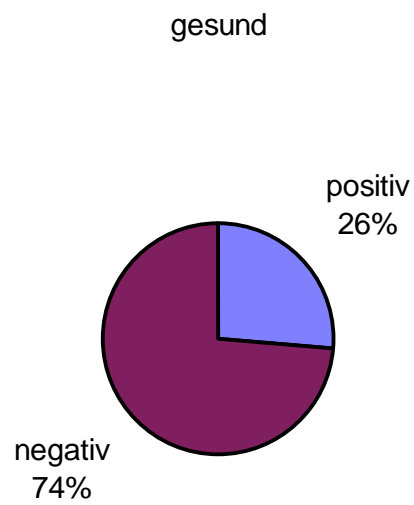


Abb. 12: PCR-Ergebnisse bei gesunden Katzen aus Plasma oder Vollblut  
(PCR s.3.2, Auswertung s. 5.6)

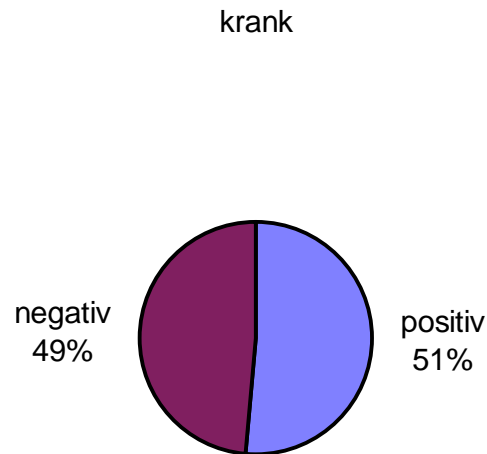


Abb. 13: PCR-Ergebnisse bei FIP-verdächtigen Katzen aus Plasma, Aszites oder Vollblut  
(PCR s. 3.2; Ergebnisauswertung s. 5.6)

Die Ergebnisse bei gesunden und FIP-verdächtigen Tieren wurden mit dem  $\chi^2$ -Test verglichen. Hierbei betrug der p-Wert = 0,001, d. h., in der Gruppe der FIP-verdächtigen Katzen waren signifikant mehr Tiere Coronavirus-RNA-positiv im Plasma, Aszites oder Vollblut als in der gesunden Gruppe.

Die diagnostische Sensitivität und Spezifität wurden berechnet, um die Leistungsfähigkeit der PCR als diagnostisches Kriterium zu ermitteln (KREIENBROCK u. SCHACH 1997).

$$\text{Sensitivität (\%)} = \frac{\text{Anzahl richtig positiver Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig positiver + falsch negativer Ergebnisse}} \times 100$$

Die Sensitivität ist die Fähigkeit eines Testes, positive Ergebnisse zu erbringen, wenn das Tier infiziert ist.

$$\text{Spezifität (\%)} = \frac{\text{Anzahl richtig negativer Ergebnisse}}{\text{Anzahl richtig negativer + falsch positiver Ergebnisse}} \times 100$$

Die Spezifität ist die Fähigkeit eines Testes, ein negatives Ergebnis zu erbringen, wenn das betreffende Tier nicht infiziert ist.

Als „richtig positiv“ galten Tiere, die erkrankt waren und ein positives PCR- Ergebnis hatten (a).

Als „richtig negativ“ galten gesunde Tiere, die ein negatives PCR-Ergebnis hatten (d).

Als „falsch positiv“ galten gesunde Tiere mit positivem PCR-Ergebnis (b) und als „falsch negativ“ kranke Tiere mit negativem PCR-Ergebnis (c).

N = Gesamtzahl der untersuchten Tiere.

Tab. 17: Sensitivität und Spezifität der PCR-Ergebnisse

	Gesundheitszustand		
	erkrankt	nicht erkrankt	Summe
positiv	48	25	73
negativ	45	70	115
Summe	93	95	188

$$\text{Sensitivität} = 48 / (48 + 45) = 0,516 = 52 \%$$

$$\text{Spezifität} = 70 / (70+25) = 0,736 = 74\%$$

$$\text{Prävalenz} = (a + c) / N$$

$$\text{Prävalenz} = (48 + 45) / 188 = 0,49 = 49 \%$$

⇒ Die Prävalenz ist der Anteil der kranken Tiere in einer Population. Da kranke und gesunde Tiere nicht direkt als solche erkennbar sind, sondern mit Hilfe eines nicht ganz fehlerfreien Diagnoseverfahrens identifiziert werden sollen, ist die wahre Prävalenz nicht bekannt. Bekannt ist die Anzahl der test-positiven Tiere. Ihr Anteil an der Gesamtzahl getesteter Tiere ist die scheinbare Prävalenz:

$$\text{scheinbare Prävalenz} = (a + b) / N$$

$$\text{scheinbare Prävalenz} = (48 + 25) / 188 = 0,388 = 39 \%$$

$$\text{Voraussagewert einer positiven Diagnose} = a / (a + b)$$

$$\text{Voraussagewert einer positiven Diagnose} = 48 / (48 + 25) = 0,658 = 65,8 \%$$

⇒ Dieser wird auch als Validität des Tests bezeichnet und gibt den Anteil der tatsächlich kranken Tiere mit positivem Testergebnis an.

$$\text{Voraussagewert einer negativen Diagnose} = d / (c + d)$$

$$\text{Voraussagewert einer negativen Diagnose} = 70 / (45 + 70) = 0,609 = 60,9 \%$$

⇒ Dieser Wert gibt den Anteil der tatsächlich gesunden Tiere mit negativem Testergebnis an.

### Vergleich zwischen Plasma, Aszites und Vollblut als Probenmaterial

Für 81 verdächtige und 93 gesunde Tiere stand Plasma zur Untersuchung zur Verfügung. Bei 13 verdächtigen Tieren wurde Aszites untersucht, und für 15 verdächtige und 18 gesunde Katzen war Vollblut vorhanden.



Tab. 18: PCR Ergebnisse mit Plasma, Aszites und Vollblut

Material	Anzahl gesunder Tiere				Anzahl verdächtiger Tiere			
	positives PCR-Ergebnis		negatives PCR-Ergebnis		positives PCR-Ergebnis		Negatives PCR-Ergebnis	
<i>Plasma</i>	23	24,7%	70	75,3%	32	39,5%	49	60,5%
<i>Aszites</i>	--	--	--	--	12	92,3%	1	7,7%
<i>Vollblut</i>	2	11,1%	16	88,9%	8	53,3%	7	46,7%

- Bei den gesunden Katzen waren prozentual weniger Katzen im Vollblut negativ als im Plasma, während es bei den FIP-verdächtigen Tieren umgekehrt war (s. 5.6).
- Bei den FIP-verdächtigen Tieren herrschte in sechs Fällen keine Übereinstimmung. Einmal war Plasma negativ, während Vollblut und Aszites positiv waren. In drei Fällen ergab das Plasma ein negatives Ergebnis, während das Vollblut positiv war. Und in zwei Fällen war das Plasma Coronavirus-positiv, während das Vollblut negative Ergebnisse brachte.
- Bei den gesunden Katzen war in 8 Fällen keine Übereinstimmung zu beobachten. In 7 Fällen war das Plasma Coronavirus-positiv, während das Vollblut negativ war, und in einem Fall war das Plasma negativ, während das Vollblut positiv war.
- Der Vergleich der PCR-Ergebnisse aus Vollblut ergab mit dem Chi-Quadrat-Homogenitätstest einen p-Wert von 0,009, was einen signifikanten Unterschied in der Gruppe der gesunden und in der Gruppe der FIP-verdächtigen Tiere ergeben würde. Im Fisher's Exact Test lag der p-Wert bei 0,012. Das bedeutet, dass in der Gruppe der gesunden Tiere signifikant mehr Tiere Coronavirus-negativ waren.
- Der Vergleich der PCR-Ergebnisse aus Plasma ergab im Chi-Quadrat-Homogenitätstest einen p-Wert von 0,037. Das bedeutet, dass in der Gruppe der erkrankten Tiere signifikant mehr Tiere ein positives Ergebnis hatten.
- Da Aszites nur in der Gruppe der FIP-verdächtigen Tiere vorhanden war, war ein Vergleich nicht möglich. Allerdings waren 92,3 % der Tiere in diesem Material positiv.

Vergleich von PCR-Ergebnissen und FCoV-Antikörpertitern

*Klinisch gesunde Katzen*

Bei den klinisch gesunden Tieren war ein Tier serologisch negativ, wobei auch die PCR ein negatives Ergebnis brachte.

Tab. 19: FCoV-Antikörpertiter und PCR-Ergebnisse bei gesunden Katzen im Vergleich (n=94)

Titerhöhe	PCR-positiv		PCR-negativ	
	Anzahl	in %	Anzahl	in %
< 400	14	14,9	37	39,4
≥ 400	11	11,7	32	34,0

*FIP-verdächtige Katzen*

Tab. 20: FCoV-Antikörpertiter und PCR-Ergebnisse bei den FIP-verdächtigen Katzen im Vergleich (n=93)

Titer	PCR-negativ		PCR-positiv	
	Anzahl	in %	Anzahl	in %
< 400	5	5,4	12	12,9
≥ 400	40	43,0	36	38,7

Die CV-Antikörpertiter und die PCR-Ergebnisse wurden mittels des Mc Nemar-Tests verglichen.

Ein Titer von  $\geq 400$  wurde hierbei als positiv (für diese Fragestellung) bewertet.

In der gesunden Gruppe lag der Chi-Quadrat-Wert bei 6,894 und in der FIP-verdächtigen Gruppe bei 14,792. Ein Wert von größer als 3,84 bedeutet, dass die Ergebnisse der beiden

Testmethoden signifikant unterschiedlich sind. Somit haben in beiden Gruppen signifikant mehr Tiere einen Titer, der  $\geq 400$  ist, als ein positives Ergebnis in der PCR.

#### **4.6. Weiteres Schicksal der Katzen**

##### *Gesunde Gruppe*

Bei 41 Katzen aus der gesunden Gruppe, die aus 95 Tieren bestand, ist das weitere Schicksal bekannt. Diese Tiere zeigten auch ein halbes Jahr nach der Untersuchung keine klinischen Symptome, die auf eine FIP hindeuten könnten. Darunter waren 17 Tiere, die Coronavirus-RNA im Blut aufwiesen.

##### *FIP verdächtige Gruppe*

Von den 93 FIP-verdächtigen Katzen wurden 84 Tiere aufgrund ihres schlechten Allgemeinzustands euthanasiert. Vier Katzen starben. Bei fünf Katzen ist das weitere Schicksal unbekannt.

#### **4.7 Pathologische Untersuchung**

Bei fünf Katzen aus der Gruppe der FIP-verdächtigen Tiere wurde eine FIP Diagnose durch eine pathologische Untersuchung bestätigt. Vier Katzen waren Coronavirus-positiv in der PCR, und eine Katze mit einem Titer von 1600 war negativ. Eine der PCR-positiven Katzen hatte einen Titer von 100, zwei von 400 und die andere einen Titer von 1600.

## 5. *Diskussion*

Die feline infektiöse Peritonitis ist eine *intra vitam* schwierig zu diagnostizierende Erkrankung. Auf der Ebene des labordiagnostischen Erregernachweises steht bisher die Serologie im Vordergrund. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu überprüfen, ob ein direkter Coronavirusnachweis, nämlich der Nachweis viraler Nukleinsäure mittels Polymerase-Kettenreaktion, eine Verbesserung für die Diagnosestellung dieser Erkrankung bringt.

Blut, Plasma und Aszitesflüssigkeit von 188 Katzen wurden mittels Polymerase-Kettenreaktion auf das Vorkommen von Coronavirus RNA überprüft. Die Krankengeschichte der Tiere wurde (retrospektiv) bei den Tierärzten erfragt, die das Material zur Untersuchung eingeschickt hatten.

### 5.1. **Patientenklassifizierung**

Die Patientenklassifizierung in „gesund“ und „FIP-verdächtig“ war aus mehreren Gründen erschwert:

- Die angewandten Untersuchungsmethoden waren nicht einheitlich.
- Die Krankheitssymptome wurden subjektiv und von mehreren Personen beurteilt.
- Es wurde nur in fünf Fällen (retrospektiv) eine Bestätigung der Diagnose "FIP" aufgrund einer pathologischen Untersuchung gestellt.
- Es mußten Kriterien festgelegt werden, wann eine Katze als FIP-verdächtig galt (wird weiter unten diskutiert)

### 5.2 **Signalement**

#### Alter

Katzen jeden Alters können an einer FIP erkranken. Es besteht aber eine Häufung in

bestimmten Altersgruppen. Das Alter war in dieser Studie bei 160 Katzen bekannt, davon waren 85 Katzen aus der verdächtigen Gruppe und 75 aus der gesunden. Die verdächtigen Katzen in dieser Studie waren zu 45,9 % bis zu einem Jahr alt und zu 76,5 % bis 5 Jahre alt. Dies entspricht der Studie von HIRSCHBERGER et al. (1995), bei der 50 % der Tiere jünger oder gleich 1,6 Jahre alt waren. In einer anderen Studie waren 54 % jünger als 12 Monate und 71 % jünger als vier Jahre (ROHRER 1992). Unsere Ergebnisse entsprechen den Beobachtungen, dass FIP vermehrt bei jungen Katzen, vor allem im Alter von 6 Monaten bis zu zwei Jahren, vorkommt, und dass im Alter die Inzidenz stetig abnimmt (PEDERSEN 1987a). Das könnte mit der mangelnden Reife des jugendlichen Immunsystems zusammenhängen. Nur 2 % der Katzen waren 14 Jahre und älter.

Die verdächtigen Katzen unterschieden sich in unserer Studie im Alter nicht signifikant von den gesunden Tieren. Die gesunden Katzen waren Tiere, die bei Routineuntersuchungen und Behandlungen mit getestet wurden. Kastrationen finden meist bei jungen Katzen statt. Auch bei Zucht- und Tierheimkatzen wird frühzeitig auf das Vorkommen von Coronavirus-Infektionen getestet.

### Geschlecht

Das Geschlecht war bei 90 verdächtigen Katzen und 90 gesunden Katzen bekannt.

In der verdächtigen Gruppe waren 55,6 % der Tiere männlich und 44,4 % der Tiere weiblich.

In der gesunden Gruppe waren 47,8 % männlich und 52,2 % weiblich. In der Geschlechtsverteilung bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

FIP kommt bei weiblichen und männlichen Tieren in gleicher Häufigkeit vor (PEDERSEN 1987a). Eine andere Untersuchungen zeigte jedoch ein vermehrtes Aufkommen der FIP bei männlichen, vor allem unkastrierten Tieren. (ROHRER 1992).

### Rasse

Bezüglich einer Rasseprädisposition können in dieser Arbeit keine Aussagen gemacht werden, weil die Anzahl der untersuchten Rassekatzen zu gering war. Den größten Anteil unter den

verdächtigen Tieren nahmen die Europäisch Kurzhaarkatzen mit 70,7 % ein. Der Anteil gesunder Europäischer Kurzhaarkatzen betrug 62,1 %. Als zweitgrößte Gruppe waren die Perserkatzen mit 9,8 % unter den kranken Katzen vertreten und 17,9 % unter den gesunden.

In anderen Studien wird erwähnt, dass Rassekatzen eher an FIP erkranken (ROBISON et al. 1971). VENNEMA et al.(1991) fanden bei Abbessinier-Katzen eine längere Überlebenszeit, wenn sie mit einem virulenten FIP-Virusstamm infiziert wurden als bei anderen Rassen. In einer anderen Studie wurde postuliert, dass Katzen, die aus einer bestimmten Blutlinie stammten, häufiger von einer Erkrankung betroffen waren. Andererseits schienen ingezüchtete Linien nicht häufiger betroffen zu sein (FOLEY u. PEDERSEN 1996).

### **5.3 Anamnese**

#### Haltung

Die Aufteilung der Haltungform in Einzeltierhaushalt, Mehrkatzenhaushalt, Tierheimkatzen und Zuchtkatzen wurde in der vorliegenden Arbeit gewählt, um herauszufinden, ob in Abhängigkeit von der Gruppengröße Unterschiede in der FIP-Erkrankungsrate auftreten. Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Allerdings stammten 61,3% der Tiere aus Haltungen mit mehreren Katzen, während Einzeltiere nur mit 37,6 % vertreten waren. Das entspricht anderen Untersuchungen, in denen Tiere, die vermehrt Kontakt zu anderen Katzen hatten, eher betroffen waren, weil sie dadurch in engerem Kontakt zu Coronavirusausscheidern leben (FEHR 1997). Allerdings fanden FOLEY et al (1997b) keinen Unterschied in dem Vorkommen der FIP-Fälle in Bezug auf die unterschiedlichen Haltungsformen.

Es zeigte sich in vorliegender Studie auch, dass einzeln gehaltene Tiere erkranken können. Dies könnte damit zusammenhängen, dass sie zum Teil Freigänger waren und so Kontakt zu anderen Katzen hatten. Es könnte sich aber auch um Virusträger gehandelt haben, bei denen es aufgrund einer Stresssituation, wie das Verbringen in eine neue Umgebung, zum Ausbruch der Krankheit gekommen ist. Coronaviren können, wenngleich nicht sehr effizient, auch durch

indirekte Übertragung verbreitet werden, wie z. B. den Besitzer. Eventuell spielen auch andere Haustiere bei der Übertragung eine Rolle. Canine Coronaviren können eine FIP-ähnliche Erkrankung hervorrufen, aber ihre Bedeutung unter Feldbedingungen ist noch nicht geklärt (MC ARDLE et al. 1992).

#### 5.4 Symptome

Ein therapieresistentes Fieber wurde bei 65,6 % der verdächtigen Katzen festgestellt. Ein Wert unterhalb der normalen Körpertemperatur wurde bei 6,5 % der Katzen gemessen. In der Studie von ROHRER (1992) hatten 63,3 % der Katzen eine erhöhte Körpertemperatur und 14,1 % eine Verminderung. Therapieresistentes Fieber ist eines der Hauptsymptome dieser Erkrankung und wird wahrscheinlich durch die Interleukin 1-Synthese aus aktivierten Makrophagen erzeugt, das einen stark pyrogenen Effekt hat (LUTZ 1993).

Zu den unspezifischen Hauptsymptomen gehören ebenfalls Inappetenz und Kachexie. In unserer Studie waren 92,5 % der verdächtigen Katzen inappetent und 86 % kachektisch. ROHRER (1992) fand in ihrer Studie 59,1 % kachektische Tiere. NEU und PFEIFER (1985) beschrieben in ihrer Untersuchung gestörte Futteraufnahme, Störungen beim Kauen und Abschlucken, sowie Freßwiderwillen bei ca. 50 % der Katzen.

Apathie wurde bei uns in 30,1 % der Fälle angegeben, während es bei ROHRER (1992) 58,1 % waren.

Bei der effusiven Form der FIP ist gelblicher, fadenziehender Aszites als ein Leitsymptom anzusehen. Dies war bei 54,8 % der verdächtigen Katzen der Fall, und weitere 4,3 % wiesen einen Thoraxerguß auf. ROHRER (1992) fand in ihrer Arbeit 39 % der erkrankten Katzen mit der effusiven Form, 25 % mit der nichteffusiven Form und 36 % mit der gemischten Form.

Anämie wurde bei 40,9 % der verdächtigen Tiere festgestellt. Dies entspricht den Werten

(37,5 %) bei ROHRER (1992). Die Anämie wurde in dieser Studie aufgrund blasser Schleimhäute von den Tierärzten diagnostiziert. Nur in wenigen Fällen wurde dieses durch eine Blutuntersuchung bestätigt. Die Anämie bei der FIP ist typischerweise eine leichte bis mittelgradige progressive normochrome-normozytäre Anämie, die durch eine hämatopoetische Suppression in Verbindung mit einer chronischen Erkrankung verursacht werden könnte (PEDERSEN 1987a).

Beim Ikterus galt eine Gelbfärbung der Schleimhäute als klinisches Kriterium. Dieser Ikterus tritt erst bei einem Bilirubingehalt von ca. 17-34 µmol/l ein. Da nur bei wenigen Tieren eine Bestimmung des Bilirubingehaltes durchgeführt wurde, ist eine höhere Zahl mit Hyperbilirubinämie zu erwarten. 45,2 % der Katzen hatten klinisch einen Ikterus. In der oben erwähnten Studie von ROHRER 1992 waren es 26,5 %. FIP ist eine der häufigsten Ursachen für Ikterus bei Katzen bis zu zwei Jahren (WEISS 1991).

Augenveränderungen wurden in unserem Fall bei 5,4 % der Tiere festgestellt. Zu den für FIP typischen Veränderungen zählen Iritis, Uveitis, Trübung des Augenkammerwassers, entzündliche Niederschläge auf dem Hornhautendothel und Netzhautblutungen (KELLNER u. LITSCHI 1989). Augenveränderungen werden bei der effusiven Form mit 10 % in der Literatur angegeben und in der nichteffusiven Form ein noch höherer Prozentsatz (STODDART u. BENNETT 1994). Dass in unserer Studie so wenig Augenveränderungen beobachtet wurden, kann darauf zurückzuführen sein, dass eine Augenuntersuchung nicht routinemäßig durchgeführt wurde.

ZNS-Symptome wurden bei 3,2 % der erkrankten Katzen festgestellt. Dies ist erheblich weniger, als in der Literatur angegeben wird. Auch hier sind es bei der effusiven FIP ca. 10 % und in der nichteffusiven Form etwas mehr. Die beobachteten neurologischen Störungen waren Paresen und in einem Fall Persönlichkeitsveränderungen. Die ZNS-Läsionen sind in der Regel multifokale bis diffuse Pyogranulome, die um kleine Blutgefäße angeordnet sind. Sie betreffen vor allem den Chorioidplexus, die Meningen und das Ependym (HOSKINS 1997).



Als weitere Symptome wurden noch Schnupfen, Diarrhoe, Koprostase, Kümmern, Erbrechen, Polydipsie und Polyurie und Exsikkose angegeben. 9,7 % der Tiere hatten Dyspnoe. PEDERSEN (1987a) fand bei einem Drittel der Katzen mit effusiver FIP Dyspnoe.

Eine Lymphadenopathie wurde nur bei zwei Tieren festgestellt, während ROHRER et al. (1993) bei 8,1 % der erkrankten Tiere eine Lymphadenopathie fanden..

## **5.5 Laboruntersuchungen**

### **5.5.1 Hämatologie und klinische Chemie**

#### *Eiweißgehalt im Plasma oder Aszites und Proteinelektrophorese*

Bei den gesunden Tieren wurde der Eiweißgehalt aus dem Plasma bestimmt. Er war bei 36,3 % der Tiere erhöht. Bei den verdächtigen Katzen wurde er im Plasma und Aszites bestimmt. Bei den kranken Tieren war er - statistisch signifikant - bei 57,1 % der Tiere erhöht. Ein erniedrigter Eiweißgehalt kam bei 3,3 % der gesunden und 12,1 % der verdächtigen Katzen vor. Die Hypoproteinämie zeigte sich bei den gesunden Katzen ohne relative Veränderung der einzelnen Eiweißfraktionen. Eine einfache Hypoproteinämie kann durch vermehrte Flüssigkeitsaufnahme oder durch externen bzw. internen Plasmaverlust, z. B. durch Parasitenbefall, verursacht werden (KANEKO 1989).

Physiologische Veränderungen des Eiweißgehaltes treten mit dem Alter auf. Bei älteren Katzen steigt der Gesamteiweißgehalt, der Albumingehalt sinkt und der Globulingehalt steigt (DIMOPOULLOS 1961, FORSTNER 1968, TUMBLESON et al. 1972), um im hohen Alter wieder abzufallen. Sexualhormone haben ebenfalls einen Einfluß auf den Eiweißgehalt, Testosteron und Östrogene haben einen anabolen Effekt bei allen Tierarten. Wachstumshormone haben einen ähnlichen Effekt und führen zu erhöhtem Serumtotalprotein, erniedrigtem Albumingehalt und erhöhtem Globulingehalt (KANEKO 1989). Thyroxin erniedrigt andererseits den Gesamteiweißgehalt wegen seines katabolen Effekts (STURKIE

1951). Im allgemeinen sinken die Albumine während der Schwangerschaft und die Globuline steigen an (KANEKO 1989). Auch Ernährungseinflüsse sind zu berücksichtigen. Eine proteinarme Diät führt zu einer Hypoproteinämie und Hypoalbuminämie bei Ratten (WEIMER 1961), Hühnern (LEVEILLE u. SAUBERLICH 1961) und Hunden (ALLISON 1957). Temperaturstreß, Fieber oder Erkältung sind ebenfalls mit einem Nitrogenverlust, erhöhter Adrenalinaktivität und einem erhöhten Proteinumsatz verbunden, der sich in einem Abfall des Gesamteiweißgehaltes, einem sinkenden Albumingehalt und oft einem erhöhten  $\alpha$ -2-Globulingehalt bemerkbar macht (KANEKO 1989). Ein Albuminverlust tritt auch bei gastrointestinalen Störungen und Endoparasitenbefall auf, während eine verminderte Albuminsynthese bei Unterernährung und chronischen Entzündungskrankheiten vorkommt. Ein erhöhter  $\beta$ -Globulingehalt wird mit eiternden Dermatopathien und akuten Hepatitiden in Verbindung gebracht. Bei chronischen Entzündungen, Infektionskrankheiten, chronischen Hepatitiden, eiternden Dermatopathien und immunvermittelten Krankheiten, z. B. Allergien, können die  $\gamma$ -Globuline erhöht sein.

ROHRER (1992) fand eine Erhöhung des Totalproteins bei 37 % der untersuchten Katzen, während in einer anderen Studie 50 % der erkrankten Katzen einen erhöhten Serumeiweißgehalt aufwiesen (KLINE et al. 1994).

Der Gesamtproteingehalt ist aber für die FIP-Diagnose nicht so ausschlaggebend wie eine Erhöhung des Gesamtglobulins, vor allem des  $\gamma$ -Globulins. In unserer Untersuchung war bei 81,3 % der verdächtigen Tiere das Gesamtglobulin erhöht, während es bei den gesunden Katzen 41,8 % der Tiere waren. Allerdings war hier das  $\gamma$ -Globulin nur in 48,35 % der Fälle erhöht, während es bei den kranken Tieren 89,0 % waren. In der Studie von BARONI und HEINOLD (1995) hatten 64,7 % der Tiere einen erhöhten  $\gamma$ -Globulingehalt. Der Anstieg der Globulinfraktionen hängt vermutlich mit der chronischen Entzündungsreaktion während der Krankheit zusammen. Die  $\gamma$ -Globuline sind wegen der starken Antikörperproduktion (Hypergammaglobulinämie) erhöht (PEDERSEN 1987a).

Ein weiterer wichtiger Wert ist das Albumin, das bei FIP-Katzen oft erniedrigt ist. In unserer Untersuchung war es bei 87,9 % der verdächtigen Katzen erniedrigt, im Gegensatz zu 53,8 % der gesunden Katzen. In diesem Zusammenhang wird der Albumin-Globulin-Quotient mit herangezogen. Bei den verdächtigen Tieren war er bei 87,9 % erniedrigt, bei den gesunden

Katzen in 16,5 % der Tiere. Diese Werte waren bei verdächtigen Katzen signifikant verändert. Weil man hierbei berücksichtigen muß, dass der A/G erniedrigt sein kann, wenn entweder Albumin erniedrigt ist, oder Globulin erhöht oder beides gleichzeitig vorhanden ist, wurde das in dieser Untersuchung bei den Tieren mit erniedrigtem Quotienten noch einmal aufgeschlüsselt. Die meisten Tiere in beiden Gruppen hatten gleichzeitig einen erniedrigten Albuminwert und einen erhöhten Globulinwert, so dass dieses statistisch nicht berücksichtigt werden konnte. Vor allem in einem erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten und einem erhöhten  $\gamma$ -Globulinwert tritt der Unterschied zwischen kranken und gesunden Katzen am deutlichsten hervor. HIRSCHBERGER et al (1995) fanden bei ihren Untersuchungen, dass 96,9 % der an FIP erkrankten Katzen einen erniedrigten Albumin-Globulin-Quotienten aufwiesen. In einer anderen Studie wurden verschiedene Laborparameter, wie Eiweißgehalt, Proteinelektrophoresewerte, Bilirubingehalt im Serum, Anämie, das Differentialblutbild und der CV-Antikörpertiter als diagnostische Parameter zur Erkennung einer FIP-Infektion miteinander verglichen und in Kombination zueinander gestellt. Keine dieser Kombinationen ergab eine hohe Spezifität oder Sensitivität, aber einige ermöglichten einen hohen Voraussagewert einer negativen Diagnose. Hypergammaglobulinämie und Lymphopenie hatten einen sehr hohen Voraussagewert einer negativen Diagnose. Allerdings hatte keiner der Parameter einen hohen Voraussagewert einer positiven Diagnose, obwohl die Kombination von Hypergammaglobulinämie und niedrigem Albumin-Globulin-Quotient einen signifikant höheren Voraussagewert erbrachte als die anderen Parameter und Kombinationen (SPARKES et a. 1994) (s. 4.5).

### Rivaltaprobe

Ein Rivalta-Test wurde mit dem Aszites von vier Katzen durchgeführt. In allen vier Fällen war das Ergebnis positiv. HIRSCHBERGER et al. (1995) wiesen eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von 69 % bei FIP Katzen mit Aszites nach.

### Zusätzliche Blutuntersuchungen

Zusätzliche Untersuchungen wurden nur für eine geringe Anzahl der verdächtigen Katzen bestimmt. Die Laborparameter sind je nach betroffenen Organen verändert. Bei entzündlichen Infiltraten in der Leber kann es zu einer Hyperbilirubinämie kommen. Ebenso können der AST- oder ALT-Wert im Plasma erhöht sein. ROHRER (1992) fand bei 82 % der an FIP erkrankten Katzen erhöhte Bilirubinwerte und bei 75 % erhöhte AST-Werte, während ALT nur bei 5,4 % der Katzen erhöht war. In unserer Studie hatten 61,9 % der untersuchten Katzen eine Hyperbilirubinämie, 85,7 % einen erhöhten AST-Gehalt und 38,1 % einen erhöhten ALT-Gehalt im Plasma.

Wenn die Nieren entzündliche Läsionen aufweisen, können auch die nierenpflichtigen Substanzen wie Harnstoff oder Kreatinin im Blut erhöht sein. Von den untersuchten erkrankten Katzen hatten 52,9 % einen erhöhten Harnstoffgehalt und 21,4 % einen erhöhten Kreatiningehalt im Plasma.

Eine Leukozytose wiesen 78,3 % der 23 untersuchten Katzen auf, während bei 22,2 % eine Leukopenie vorhanden war. Die Leukozytose tritt oft mit einer absoluten Neutrophilie auf. Eine Leukopenie kann vor allem in sehr kritischen und Endstadien der Erkrankung auftreten (HOSKINS 1997). Ein Lymphozytenwert war bei 14 Tieren verfügbar; 53,8 % hatten eine Lymphopenie und 23,1 % eine Lymphozytose. SPARKES et al. (1994) fanden in ihrer Studie bei 82,1 % der an FIP erkrankten Katzen eine Lymphopenie. Dieser Parameter gab für sich allein einen hohen Voraussagewert einer negativen Diagnose (96,8%).

Bei einer auftretenden Anämie können entweder die Erythrozyten, der Hämoglobingehalt und/oder der Hämatokrit erniedrigt sein. In unserer Studie hatten 100 % der untersuchten erkrankten Katzen einen erniedrigten Erythrozytengehalt, 50 % einen erniedrigten Hämoglobingehalt und 53,3 % einen erniedrigten Hämatokrit im Plasma.

Der Kalium-, Kalzium- und Phosphorblutspiegel war jeweils bei zwei von drei untersuchten Katzen erhöht. ROHRER (1992) fand in ihrer Untersuchung bei 24 % der FIP erkrankten Tiere eine Hypokaliämie, während 5 % eine Hyperkaliämie hatten. Ein erhöhter Phosphorspiegel könnte auf eine Miterkrankung der Nieren hindeuten.

### FeLV- und FIV-Tests

Die 18 auf Leukose getesteten gesunden Tiere waren ebenso negativ wie die 12 auf FIV getesteten gesunden Katzen. Von den verdächtigen Tieren wurden 25 auf Leukose getestet und zwei dieser Tiere wiesen ein positives Ergebnis auf. Von den 16 Katzen, die auf FIV getestet wurden, war ein Tier positiv. Aufgrund der geringen Anzahl der getesteten Tiere kann keine Aussage über ein verstärktes Vorkommen von FeLV- oder FIV-Infektionen bei erkrankten Katzen gemacht werden. Leukose war eine Krankheit, die häufig im Zusammenhang mit FIP-Infektionen beobachtet wurde. Sie wurde bei 30-50 % der an FIP erkrankten Katzen gefunden, aber durch die weitgehende Elimination des Leukosevirus aus Katzenhaltungen und-zuchten ist das gleichzeitige Auftreten beider Krankheiten auf weniger als fünf Prozent gesunken (PEDERSEN 1995). Obwohl die Leukose in Katzenbeständen mit FIP-Risiko abgenommen hat, ist die Inzidenz der FIP nicht proportional gesunken (HOSKINS 1997). Genaue Zahlen hinsichtlich des gleichzeitigen Vorkommens von FIP und FIV in Katzenhaltungen sind nicht verfügbar, es wird jedoch für gering erachtet. Das könnte vielleicht daran liegen, dass FIP hauptsächlich bei Katzen bis zu zwei Jahren vorkommt, während FIV üblicherweise Katzen zwischen fünf und 10 Jahren betrifft. (HOSKINS 1997).

### CV-Antikörpertiter

Der CV-Antikörpertiter wurde bei 94 gesunden und 93 verdächtigen Katzen bestimmt. Die vorliegende Studie bestätigt, dass eine Diagnosestellung allein aufgrund eines CV-Antikörpertiters nicht sinnvoll ist. 18,3 % der verdächtigen Katzen hatten einen Titer von  $\leq 100$ . 45,7 % der gesunden Tiere hatten einen Titer von  $\geq 400$ . 5,4 % der verdächtigen Tiere hatten einen Titer von  $\leq 25$ , während 2 % der gesunden Tiere einen Titer von 1600 aufwiesen. In der verdächtigen Tiergruppe hatten jedoch signifikant mehr Katzen einen Titer von  $\geq 400$ . Es wird somit noch einmal klar, dass der Titer nur im Zusammenhang mit den klinischen Symptomen und anderen Blutwerten zur Diagnose herangezogen werden darf. Auch als prognostisches Mittel ist der Titer ungeeignet, da 41 der gesunden Katzen, unabhängig vom Titer, auch ein halbes Jahr später keine Symptome einer Erkrankung zeigten. Von den

gesunden Katzen wurden fünf Tiere noch einmal nachgetestet (und außer in einem Fall sank der Titer).

## 5.6 PCR Ergebnisse

Von den 95 gesunden, mittels RT-PCR getesteten Tieren waren 26,3 % Tiere im Plasma und/oder Vollblut positiv. Von den 93 verdächtigen getesteten Tieren wiesen 51,6 % im Plasma und/oder Vollblut und/oder Aszites Coronavirus RNA auf. Bei den verdächtigen Tieren waren signifikant mehr Tiere positiv.

Die Annahme, dass FCoV's auf den Magen-Darm-Trakt beschränkt sind und FIPV sich systemisch ausbreiten, wurde durch die Entwicklung der PCR widerlegt. HERREWEGH et al. (1995b) fanden bei zwei asymptomatischen seropositiven Katzen FCoV's im Plasma und Serum. In einer weiteren Studie fanden sich bei fünf von 13 Katzen FCoV's im Blut, und diese Tiere lebten auch fünf Jahre später noch (FEHR et al. 1996). In einer anderen Untersuchung wurden Primer benutzt, die gegen die S-Region des Virusgenoms gerichtet war. In dieser Studie waren sogar 80-90 % der gesunden Katzen virämisch (GUNN-MOORE et al. 1998).

Die Validität eines Testes besteht aus zwei Komponenten - der Sensitivität und der Spezifität. Die Sensitivität wird durch den Anteil der kranken Tiere mit positivem Testergebnis an der Gesamtheit der getesteten kranken Tiere gemessen. Die Spezifität wird durch den Anteil der nicht erkrankten Tiere mit negativem Testergebnis an der Gesamtheit der getesteten nicht erkrankten Tiere gemessen. Ungenügende Sensitivität führt zu falsch-negativen, ungenügende Spezifität zu falsch-positiven Testergebnissen. In der Regel stehen Sensitivität und Spezifität in einem umgekehrten Verhältnis zueinander, das heißt, wenn versucht wird, die eine Seite zu erhöhen, so geht das meist mit einer Abnahme der anderen Seite einher.

Das PCR-Ergebnis unserer Studie für die Sensitivität betrug nur 52 %. Das bedeutet, dass bei 48 % der Katzen ein falsch negatives Resultat vorlag. Dies ist für einen diagnostischen Test als alleiniges diagnostisches Kriterium nicht hinnehmbar. Auch die Spezifität lag nur bei 73 %.

Die wahre Prävalenz ist der Anteil der kranken Tiere in einer Gesamtpopulation. Diese betrug in unserem Fall 49 %. Da kranke und gesunde Tiere aber nicht direkt als solche erkennbar sind, sondern mit Hilfe eines auf bestimmten Annahmen beruhenden Diagnoseverfahrens identifiziert wurden, ist die wahre Prävalenz der kranken Tiere nicht genau bekannt. Als Anhaltspunkt wird die Anzahl der im Test positiven Tiere genommen. Ihr Anteil an der Gesamtzahl getesteter Tiere ist die scheinbare Prävalenz. Diese beträgt in unserer Studie 38,8 %. Die wahre Prävalenz wird in diesem Fall unterschätzt. PEDERSEN (1987a) gibt die FIP-Inzidenz mit 0-5 %, im Höchstfall mit 10 % in Katzenhaltungen an. Das zeigt, dass es sich bei der PCR - eben auch - nur um einen Coronavirusnachweis handelt. Hier wird die Inzidenz mit 10 bis 50 % in der Katzenpopulation angegeben und sogar mit 80-90 % in Katzenhaltungen und-zuchten (PEDERSEN et al. 1981b).

Der Voraussagewert einer positiven Diagnose wird definiert als die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tier tatsächlich erkrankt ist, wenn es ein positives Testergebnis aufweist. Dieser Wert betrug in unserer Studie 66 %. Der Voraussagewert der negativen Diagnose wird definiert als die Wahrscheinlichkeit, die Erkrankung bei einem Tier mit negativem Testergebnis nicht zu finden, und entspricht in unserer Studie 61 %.

Der Vergleich zwischen den verschiedenen Probematerialien Plasma, Aszites und Vollblut, die zur Verfügung standen, ergab beim Plasma und beim Vollblut, dass signifikant mehr Tiere aus der verdächtigen Gruppe ein positives Testergebnis hatten. Aus der Gruppe der gesunden Tiere hatten mehr positive Ergebnisse im Plasma als im Vollblut, während das bei den kranken Katzen umgekehrt war. Das Handling des Vollbluts war problematisch, da es sofort aufbereitet werden mußte. Bei zu langer Lagerung können Fehlerquellen auftreten.

Die FCoV's bei asymptomatischen Tieren sind weniger virulent als bei den FIP erkrankten Katzen. STODDART u. SCOTT (1989) wiesen nach, dass avirulente FCoV's weniger Macrophagen in Zellkulturen als virulentere Stämme infizieren. Zusätzlich ist die Vermehrungsrate und die Ausbreitung geringer als bei den virulenteren FCoV's (MCKEIRNAN et al. 1987). Deshalb ist anzunehmen, dass bei den erkrankten Tieren mehr Leukozyten infiziert sind, und somit mehr Virusmaterial im Vollblut vorhanden ist als bei den gesunden. Aszites war nur in der verdächtigen Gruppe vorhanden. Hier zeigte sich, dass 92,3 % der Tiere mit Aszites positiv waren, was darauf hindeutet, dass Aszites als

Untersuchungsmaterial am besten geeignet ist. Im Plasma betrug die Werte hingegen nur 39,5 %, und im Vollblut 53,3 %. Ein Vergleich mittels des Mc-Nemartests war nicht möglich, da nur in wenigen Fällen gleichzeitig alle Materialien vorhanden waren. Auch in anderen Studien wurde Aszites als das am besten geeignete Material beschrieben, gefolgt von Plasma und Serum (HERREWEGH et al. 1995b; GUNN-MOORE et al. 1998)

Diese Ergebnisse bestätigen, dass die PCR-Methode eine Möglichkeit ist, Coronavirus RNA in Plasma, Aszites und Vollblut von Katzen nachzuweisen. Auch diese Methode ist jedoch nicht geeignet, als alleiniger diagnostischer Test zu fungieren, sondern muss immer im Zusammenhang mit der Symptomatik und anderen diagnostischen Ergebnissen bewertet werden.

#### Vergleich von PCR-Ergebnissen und CV-Antikörpertitern

In diese Untersuchung wurden 94 gesunde Tiere und 93 verdächtige Tiere einbezogen. Ein Titer von  $\geq 400$  wurde bei diesem Vergleich als "positiv" gewählt, weil in früheren Arbeiten postuliert wurde, dass das Vorliegen eines Titers in dieser Höhe ein erhöhtes Risiko darstellt, an FIP zu erkranken (SCOTT 1979). Von der gesunden Gruppe waren 39,4 % in Titer und PCR negativ, während 11,7 % in Titer und PCR positiv waren. In der verdächtigen Gruppe waren 38,7 % der Tiere in Titer und PCR positiv, während 5,4 % der Tiere in beidem negativ war. Im Vergleich dieser beiden Methoden waren signifikant mehr verdächtige Tiere im Titer positiv.

32,5 % der seronegativen 40 Katzen mit einem Titer  $\leq 25$  waren positiv in der PCR. Ebenso waren vier von fünf seronegativen verdächtigen Katzen positiv in der PCR. Bei den gesunden Katzen könnte eine FCoV-Infektion gerade erst stattgefunden haben, also noch keine Serokonversion erfolgt sein (FEHR et al. 1996). Die verdächtigen Katzen könnten sich im terminalen Stadium der FIP-Erkrankung befunden haben, so dass keine freien Antikörper mehr nachweisbar waren (BARLOUGH 1985).



## 5.7 Schicksal der Katzen

Insgesamt war bei 41 gesunden Katzen, von denen 17 Tiere ein positives PCR-Ergebnis aufwiesen, das Schicksal bekannt. Diese Tiere waren auch ein halbes Jahr nach der Untersuchung noch gesund. Bei den anderen Katzen war das Schicksal nicht bekannt, weil es sich um Tierheimkatzen handelte, oder sie nicht mehr bei dem betreffenden Tierarzt vorstellig wurden.

Das zeigt, dass weder das PCR-Ergebnis noch die Titerhöhe als als zuverlässige prognostische Möglichkeit genutzt werden können.

Aus der Gruppe der verdächtigen Katzen wurden 84 Tiere euthanasiert und vier Katzen verstarben. Von fünf Katzen blieb das weitere Schicksal unbekannt. FIP-erkrankte Katzen haben eine schlechte Prognose. KRAFT berichtete(1991), dass von mehreren hundert Katzen aus seinem Patientengut nur sechs Katzen symptomfrei wurden.

## 5.8 Ausblick

Die vorliegende Arbeit hat - anhand von Probenmaterial aus der Routinediagnostik -bestätigt, dass die PCR als alleinige diagnostische Methode für die Diagnose einer FIP-Erkrankung nicht ausreichend ist. Hier, wie auch beim Antikörpernachweis, wird nicht sicher zwischen avirulenten und virulenten Coronaviren unterschieden. Die PCR-Ergebnisse müssen daher wie serologische Befunde im Zusammenhang mit anderen Untersuchungsergebnissen betrachtet und gewertet werden.

Als Leitfaden für die Diagnose steht der von ROHRER et al. (1993) entwickelte diagnostische Algorithmus zur Verfügung. Dieser Algorithmus berücksichtigt die Anamnese, Klinik und Blutstatus und -chemie. Erst dann wird der Coronavirusantikörpertiter mit einbezogen. An dieser Stelle könnte man auch die PCR-Ergebnisse als weiteres Hilfskriterium mit einbauen. Serologie und Polymerasekettenreaktion können mit unterschiedlicher Empfindlichkeit Coronavirus-infizierte Katzen aufzeigen, deshalb sind sie für das Beherrschen der Infektion in Katzenhaltungen und -zuchten unerlässlich (HORZINEK 1998).

Auf der anderen Seite sind einige Vorteile der PCR-Methode ersichtlich. Sie kann, weit besser als die Coronavirusantikörpertiter-Bestimmung, dazu genutzt werden, (asymptomatische) Coronavirusträger auffindig zu machen. Da dies in der Vergangenheit sehr schwierig war, dürfte diese Technik neue und wichtige Erkenntnisse zur Epidemiologie der feline Coronavirusinfektionen bringen. Eine praktische Anwendung kann diese Methode im Rahmen von Sanierungs-, also Eliminationsmaßnahmen der Viren, beispielsweise in Katzenzuchten und-haltungen, erfahren. Weiterhin ist sie geeignet, durch Testen neu eingestellter Tiere eine mögliche Neueinschleppung zu verhindern. Um Coronavirus-freie Katzenbestände aufzubauen, wurde von ADDIE und JARRETT (1992) ein Programm entwickelt, das durch Quarantänemaßnahmen, frühes Absetzen und Handaufzucht der Welpen gute Erfolgchancen verspricht (auch wenn dies einen hohen Arbeitsaufwand erfordert). Zur Überwachung dieser Quarantäne- und Frühabsatzprogramme wäre die PCR hervorragend geeignet. Letzten Endes könnten damit spezifisch-pathogenfreie (SPF) Coronavirus-freie Bestände etabliert werden. Durch gezielten Einsatz der verfügbaren Vakzine könnten diese Katzenhaltungen dann Coronavirus-frei gehalten werden (HORZINEK 1998).

## 6. *Zusammenfassung*

Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe der Reversen Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) genomische RNA von felineen Coronaviren in Plasma, Aszites und Vollblut von klinisch gesunden sowie klinisch FIP-verdächtigen Katzen nachzuweisen und zu überprüfen, ob dieser Nachweis eine Verbesserung bei der Diagnosefindung dieser Erkrankung darstellt.

In die Untersuchung wurden 95 klinisch gesunde und 93 FIP-verdächtige Katzen einbezogen. Plasma, Aszites und Vollblut wurden mittels RT-PCR auf das Vorhandensein von Coronavirus-RNA untersucht. Außerdem wurden noch der Antikörpertiter gegen Coronaviren, das Gesamtprotein und die einzelnen Eiweißfraktionen mittels Proteinelektrophorese bestimmt. Aufgrund der Anamnese, die im nachhinein bei den einsendenden Tierärzten erfragt wurde, und der bestimmten Laborwerte wurden die Katzen mit Hilfe des Algorithmus nach ROHRER (1992) in die Gruppe der FIP-verdächtigen Katzen eingeteilt. Klinisch gesunde Katzen durften keine Krankheitssymptome aufweisen.

Es zeigte sich, dass signifikant mehr Tiere (53%) in der FIP-verdächtigen Gruppe Coronavirus-RNA in Vollblut, Plasma oder Aszites aufwiesen als Tiere aus der gesunden Gruppe. Es war jedoch auch bei 26% der gesunden Katzen Coronavirus-RNA in Plasma oder Vollblut nachzuweisen. Der Gesamteiweißgehalt war bei den verdächtigen Tieren signifikant erhöht. Ein erniedrigter Albumingehalt und ein erhöhter Globulingehalt, insbesondere ein erhöhter  $\gamma$ -Globulingehalt, und somit ein erniedrigter Albumin-Globulin-Quotient, traten signifikant häufiger bei den FIP-verdächtigen Katzen auf. In dieser Gruppe hatten zudem auch signifikant mehr Katzen einen Titer von  $\geq 400$ , jedoch wiesen einige gesunde Katzen ebenfalls Titer bis 1600 auf.

In der vorliegenden Arbeit wurde somit gezeigt, dass die Diagnose einer FIP-Erkrankung nicht allein durch **einen** diagnostischen Test zu erzielen ist, sei es durch das PCR-Verfahren oder durch eine Antikörpertiterbestimmung gegen Coronaviren. Beide Verfahren können nicht zwischen avirulenten und virulenten felineen Coronaviren unterscheiden. Ebenso wenig ist eine

Prognose anhand dieser Testergebnisse möglich.

Die Diagnose muß aufgrund der klinischen Parameter unter Zuhilfenahme der Hämatologie und der klinischen Chemie erfolgen. Die Ergebnisse des direkten Coronavirusnachweises und der Serologie können hierbei nur als zusätzliche Hilfen bei der Diagnosefindung dienen.

Da jedoch chronische Ausscheider ausfindig gemacht werden können, dürfte sich die RT-PCR als nützlich bei der Prävention und Elimination von Coronaviren in Katzensuchten und -haltungen erweisen.

## 7. Summary

*Katja Ließmann*

*Detection of feline coronavirus RNA in the blood of clinically healthy cats and cats with feline infectious peritonitis*

The objective of this study was to determine whether the detection of feline coronavirus RNA in specimens of healthy cats and cats with feline infectious peritonitis (FIP) would improve the diagnosis of this disease. Therefore, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) was applied.

Samples of 95 clinically healthy cats and 93 cats suspicious of feline infectious peritonitis were examined. Plasma, ascites and whole blood were sent from veterinarians to the laboratory. There, these specimens were examined for the presence of feline coronavirus-RNA. Additionally, antibody titer against coronavirus, the total protein and albumin values as well as globulin fractions were determined. The records of disease were inquired from the veterinarians. Based on the history and the determined laboratory parameters the cats were classified into either the group of cats suspected of FIP or the group of healthy cats using an algorithm proposed by ROHRER (1992).

The results showed that 53% of the animals in the FIP suspicious group had coronavirus RNA in their whole blood, plasma and ascites, respectively. But it was also evident that a significant portion of healthy cats (26%) were RT-PCR positive as well. The total protein level was significantly elevated in the group of the ill cats. FIP suspicious cats moreover had a lower albumin, a higher globulin level and a decreased albumin-to-globulin ratio. In this group also significantly more cats had an antibody titer against coronavirus of  $\geq 400$  but also some healthy cats possessed titers up to 1600.

This study shows that the diagnosis of FIP must not be based on one diagnostic test only, neither the RT-PCR nor the determination of the antibody titer against coronavirus. Both tests cannot differentiate between virulent and avirulent coronaviruses. Similarly, a reliable prognosis is not possible using merely these tests.

Thus, diagnosis must rely on a combination of clinical parameters, haematology and clinical chemistry. The use of direct coronavirus detection and serology can support a diagnosis. RT-PCR, however, will be an useful tool for the prevention and elimination of coronavirus infection in cat breedings and households since it allows to detect coronavirus carriers.

## 8. *Literaturverzeichnis*

ADDIE, D.D. u. O. JARRETT (1992a):

A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens.

Vet. Rec. 130, 133-137

ADDIE, D.D. u. O. JARRETT (1992b):

Feline coronavirus antibodies in cats.

Vet. Rec. 131, 202-203

ADDIE, D.D. u. 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., S. TOTH, A.A.P.M. HERREWEGH u. O. JARRETT (1996):

Feline coronavirus in the intestinal contents of cats with feline infectious peritonitis.

Vet. Rec. 139, 522-523

ADDIE, D.D., S. TOTH, G.D. MURRAY u. O. JARRETT (1995):

Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline coronavirus.

Am. J. Vet. Res. 56, 429-434

ALLISON, J.B. (1957):

Nitrogen balance and the nutritive value of proteins.

J. Am. Med. Assoc. 164, 283-289

BARLOUGH, J.E. (1985):

Cats, coronaviruses and coronavirus antibody tests.

J. Small. Anim. Pract. 26, 353-362

BARLOUGH, J.E., R.H. JACOBSON u. F.W. SCOTT (1981):

The immunoglobulins of the cat.

Cornell Vet. 71, 397-407

BARLOUGH, J.E. u. F.W. SCOTT (1990):

Effectiveness of three antiviral agents against FIP virus in vitro.

Vet. Rec. 126, 556-558

BARLOUGH, J.E. u. C.A. STODDART (1986):

Feline infectious peritonitis. In: F.W. Scott (Hrsg.): Contemporary issues in small animal practice 3.

Churchill Livingstone, New York, S. 93-108

BARLOUGH, J.E. u. C.A. STODDART (1990):

Feline coronaviral infections. In: C.E. Greene (Hrsg.): Infectious diseases of the dog and the cat.

2. Aufl., W.B. Saunders Co., Philadelphia, S. 300-311

BARLOUGH, J.E., C.A. STODDART, G.P. SORRESSO, R.H. JACOBSON u. F.W. SCOTT (1984):

Experimental inoculation of cats with canine coronavirus and subsequent challenge with feline infectious peritonitis virus.

Lab. Anim. Sci. 34, 592-597

BARONI, M. u. Y. HEINOLD (1995):

A review of the clinical diagnosis of FIP viral meningoencephalitis.

Prog. Vet. Neurol. 6, 88-94

BILSEL, P.A. u. S.T. NICHOL (1990):

Polymerase errors accumulating during natural evolution of the glycoprotein gene of vesicular stomatitis virus Indiana serotype isolates.

J. Virol. 64, 4873-4883

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

BOYLE, J.F., N.C. PEDERSEN, J.F. EVERMANN, A.J. MCKEIRNAN, R.L. OTT u. J.W. BLACK (1984):

Plaque assay, polypeptide composition and immunochemistry of feline infectious peritonitis virus and feline enteric coronavirus isolates.

Adv. Exp. Med. Biol. 173, 365-380

BURSTIN, S.J., M.W. BRANDRISS u. J.J. SCHLESSINGER (1983):

Infection of a macrophage-like cell line P388D1 with reovirus; effects of immune ascitic fluids and monoclonal antibodies on neutralization and on enhancement of viral growth.

J. Immunol. 130, 2915-2919

CAVANAGH, D., D.A. BRIAN, M.A. BRINTON, L. ENJUANES, K.V. HOLMES, M.C. HORZINEK, M.M.C. LAI, H. LAUDE, H. PLAGEMANN, S.G. SIDDELL, W.J.M. SPAAN, F. TAGUCHI u. P.J. TALBOT (1995):

Coronaviridae

in: D.H.L. Bishop (Hrsg.): Virus taxonomy, the classification and nomenclature of viruses.

Sixth Report of the ICTV, Springer-Verlag, Wien, New York



- CHANAS, A.C., E.A. GOULD, J.C.S. CLEGG u. M.G.R. VARMA (1982):  
Monoclonal antibodies to Sindbis virus glycoprotein E1 can neutralize, enhance infectivity, and independently inhibit haemagglutination or haemolysis.  
*J. Gen. Virol.* 58, 37-46
- CHRISTIANSON, K.K., J.D. INGERSOLL, R.M. LANDON, N.E. PFEIFFER u. J.D. GERBER (1989):  
Characterization of a temperature-sensitive feline infectious peritonitis coronavirus.  
*Arch. Virol.* 109, 185-196
- COLBY, E.D. u. R.J. LOW (1970): Feline infectious peritonitis. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 65, 783-786  
COLTEN, H.R. (1976): Biosynthesis of complement.  
*Adv. Immunol.* 22, 67-118
- CORAPI, W.V., C.W. OLSEN u. F.W. SCOTT (1992):  
Monoclonal antibody analysis of neutralization and antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis.  
*J. Virol.* 66, 6695-6705
- DE GROOT, R.J., A.C. ANDEWEG, M.C. HORZINEK u. W.J.M. SPAAN (1988):  
Sequence analysis of the 3' end of the feline coronavirus FIPV 79-1146 genome: comparison with the genome of porcine coronavirus TGEV reveals large insertions.  
*Virology* 167, 370-376
- DE GROOT, R.J. u. M.C. HORZINEK (1995):  
Feline infectious peritonitis  
in: S.G. Siddell (Hrsg.): *The coronaviridae*.  
Plenum Press, New York, S. 293-309
- DE GROOT, R.J., R.J. TER HAAR, M.C. HORZINEK u. B.A.M. VAN DER ZEIJST (1987): Intracellular RNAs of the feline infectious peritonitis coronavirus strain 79-1146.  
*J. Gen. Virol.* 68, 995-1002
- DIMOPOULLOS, G.T. (1961):  
Polysaccharide and protein relationships of normal bovine serum.  
*Am. J. Vet. Res.* 22, 986-989
- EGBERINK, H.F., A.A.P.M. HERREWEGH, N.M.P. SCHUURMAN, J.S. VAN DER LINDE-SIPMAN, M.C. HORZINEK u. R.J. DE GROOT (1995):  
FIP, easy to diagnose?.  
*Vet. Q.* 17, Suppl. 1, 24-25
- EGBERINK, H.F. u. M.C. HORZINEK (1994):  
Impfung gegen Feline Infektiöse Peritonitis.  
*Kleintierprax.* 39, 557-560

EHRlich, H.A. (1996)

PCR Technology

in: R.A. Meyers (Hrsg.): Encyclopaedia of molecular biology and molecular medicine. Bd 4.  
VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, S. 333-340

EIGEN, M. u. C.K. BIEBRICHER (1988):

Sequence space and quasispecies distribution

in: E. Domingo, J.J. Holland u. P. Ahlquist (Hrsg.): RNA genetics.  
CRC, Boca Raton, S. 211-245

EIGEN, M., W. GARDINER, P. SCHUSTER u. R. WINKLER OSWATITSCH (1981):

The origin of genetic information.

Sci. Am. 244, 88-188

EIGEN, M. u. P. SCHUSTER (1979):

The hypercycle, a principle of natural self-organization.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

EVERMANN, J.F., L. BAUMGARTNER, R.L. OTT, E.V. DAVIS u. A.J. MCKEIRNAN (1981):

Characterization of a feline infectious peritonitis virus isolate.

Vet. Pathol. 18, 256-265

EVERMANN, J.F., C.J. HENRY u. S.L. MARKS (1995):

Clinical update: FIP.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 206, 1130-1134

FEHR, D., S. BOLLA, A.A.P.M. HERREWEGH, M.C. HORZINEK u. H. LUTZ (1996):

Nachweis feliner Coronaviren mittels RT-PCR: Grundlage zum Studium der Pathogenese der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP).

Schweiz. Arch. Tierheilkd. 138, 74-79

FEHR, D., E. HOLZNAGEL, S. BOLLA, B. HAUSER, A.A.P.M. HERREWEGH, M.C. HORZINEK u. 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.F. u. B.S. JORTNER (1964):

Clinico-pathology conference.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 144, 1409

FISCUS, S.A. u. Y.A. TERAMOTO (1987):

Antigenic comparison of feline coronavirus isolates: evidence for markedly different peplomer glycoproteins.

J. Virol. 61, 2607-2613

FOLEY, J.E. u. N.C. PEDERSEN (1996):

The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis in purebred catteries.

Feline Pract. 24, 14-22

FOLEY, J.E., A. POLAND, J. CARLSON u. N.C. PEDERSEN (1997a):

Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 210, 1307-1312

FOLEY, J.E., A. POLAND, J. CARLSON u. N.C. PEDERSEN (1997b):

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

FORSTNER, M.J. (1968):

Serumanalytische Untersuchungen an Schweinen und Rindern verschiedenen Alters.

Zentralbl. Veterinärmed. AI, 76-80

GAMBLE, D.A., A. LOBBIANI, M. GRAMEGNA, L.E. MOORE u. 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

GERBER, J.D., J.D. INGERSOLL, A.M. GAST, K.K. CHRISTIANSON, N.L. SELZER, R.M. LANDON, N.E. PFEIFFER, R.L. SHARPEE u. W.H. BECKENHAUER (1990):

Protection against feline infectious peritonitis by intranasal inoculation of a temperature-sensitive FIPV Vaccine.

Vaccine 8, 536-542

GOLLINS, S.W. u. J.S. PORTERFIELD (1984):

Flavivirus infection enhancement in macrophages: radioactive and biological studies on the effect of antibody on viral fate.

J. Gen. Virol. 65, 1261-1272

GOLLINS, S.W. u. J.S. PORTERFIELD (1985):

Flavivirus infection enhancement in macrophages: an electron microscopic of viral cellular entry.

J. Gen. Virol. 66, 1969-1982

GOODENOW, M., T. HUET, W. SAURIN, S. KWOK, J. SNINSKY u. S. WAIN-HOBSON (1989):

HIV-1 isolates are rapidly evolving quasispecies: evidence for viral mixtures and preferred nucleotide substitutions.

J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 2, 344-352

GUNN-MOORE, D.A., T.J. GRUFFYDD-JONES u. D.A. HARBOUR (1998):

Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis.

Vet. Microbiol. 62, 193-205

HAAGMANS, B.L., H.F. EGBERINK u. M.C. HORZINEK (1996):

Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis.

J. Virol. 70, 8977-8993

HALSTEAD, S.B. u. E.J. O'ROURKE (1977):

Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody.

J. Exp. Med. 146, 201-217

HARVEY, C.J., J.W. LOPEZ u. M.J. HENDRICK (1995):

An uncommon intestinal manifestation of feline infectious peritonitis: 26 cases (1986-1993).

J. Adv. Vet. Med. Assoc. 209, 1117-1120

HAYASHI, T., T. YANAI, M. TSURUDOME, H. NAKAYAMA, Y. WATABE u. K. FUJIWARA (1981):

Serodiagnosis for feline infectious peritonitis by immunofluorescence using suckling mouse brain sections.

Jap. J. Vet. Sci. 43, 669-676

HERREWEGH, A.A.P.M., R.J. DE GROOT, A. CEPICA, H.F. EGBERINK, M.C. HORZINEK u. P.J.M. ROTTIER (1995a):

Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase polymerase chain reaction.

J. Clin. Microbiol. 33, 684-689

HERREWEGH, A.A.P.M., H.F. EGBERINK, M.C. HORZINEK, P.J.M. ROTTIER u. R.J. DE GROOT (1995b):

Polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis of naturally occurring feline coronavirus infections.

Feline Pract. 23, 56-60

HERREWEGH, A.A.P.M., M. MÄHLER, H.J. HEDRICH, B.L. HAAGMANS, H.F. EGBERINK, M.C. HORZINEK, P.J.M. ROTTIER u. 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., H. VENNEMA, M.C. HORZINEK, P.J.M. ROTTIER u. R.J. DE GROOT (1995c): The molecular genetics of feline coronaviruses: comparative sequence analysis of the ORF 7a/7b transcription unit of different biotypes. *Virology* 212, 622-631

HICKMANN, A., J.G. MORRIS, Q.R. ROGERS u. N.C. PEDERSEN (1995): Elimination of feline coronavirus infection from a large experimental specific pathogen-free cat breeding colony by serologic testing and isolation. *Feline Pract.* 23, 96-102

HIRSCHBERGER, J.K., K. HARTMANN, N. WILHELM, J. FROST, H. LUTZ u. W. KRAFT (1995): Klinik und Diagnostik der Felinen Infektiösen Peritonitis. *Tierärztl. Prax.* 23, 92-99

HOHDATSU, T., Y. NAKAMURA, H. YAMADA u. H. KOYAMA (1991a): A study on the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline macrophages by monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 120, 207-217

HOHDATSU, T., S. OKADA, Y. ISHIZUKA, H. YAMADA u. H. KOYAMA (1992): The prevalence of types I and II feline coronavirus infections in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 557-562

HOHDATSU, T., S. OKADA u. H. KOYAMA (1991b): Characterization of monoclonal antibodies against feline infectious peritonitis virus type II and antigenetic relationship between feline, porcine, and canine coronaviruses. *Arch. Virol.* 117, 85-95

HOHDATSU, T., T. SASAMOTO, S. OKADA u. H. KOYAMA (1991c): Antigenic analysis of feline coronaviruses with monoclonal antibodies (MAbs): preparation of MAbs which discriminate FIPV strain 79-1146 and FECV strain 79-1683. *Vet. Microbiol.* 28, 13-24

HOHDATSU, T., J. TOKUNAGA u. H. KOYAMA (1994): The role of IgG subclass of mouse monoclonal antibodies in antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection of feline macrophages. *Arch. Virol.* 139, 273-285

HOHDATSU, T., M. YAMADA, R. TOMINAGA, K. MAKINO, K. KIDA u. H. KOYAMA (1998):

Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline alveolar macrophages and human monocyte cell line U937 by serum of cats experimentally or naturally infected with FCoV.

J Vet. Med. Sci. 60, 49-55

HOLLAND, J.J., J.C. DE LA TORRE u. D.A. STEINHAUER (1992):

RNA virus populations as quasispecies.

Curr. Top. Microbiol. Immunol. 176, 1-20

HOLZWORTH, J. (1963):

Some important disorders of cats.

Cornell Vet. 53, 157-160

HORSBURGH, B.C., I. BRIERLEY u. T.D.K. BROWN (1992):

Analysis of a 9,6 kb sequence from the 3' end of canine coronavirus genomic RNA.

J. Gen. Virol. 73, 2849-2862

HORZINEK M.C. (1998):

Feline infektiöse Peritonitis, Testergebnis positiv: Vorsicht vor falschen Folgerungen.

Kleintier Konkret 1, 22-26

HORZINEK, M.C., H. LUTZ u. N.C. PEDERSEN (1982):

Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline, and canine coronaviruses.

Infect. Immun. 37, 1148-1155

HORZINEK, M.C. u. A.D.M.E. OSTERHAUS (1979):

Feline infectious peritonitis: a world-wide serosurvey.

Am. J. Vet. Res. 40, 1487-1492

HOSKINS, J.D. (1993):

Coronavirus infection in cats.

Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 23, 1-16

HOSKINS, J.D. (1997):

Update on feline coronavirus disease

in J.R. August (Hrsg.): Consultations in feline internal medicine 3:

3. Aufl., WB Saunders Co, Philadelphia, S. 44-50

HOSKINS, J.D., H.W. TAYLOR u. T.L. LOMAX (1994):

Challenge trial of a temperature-sensitive feline infectious peritonitis vaccine.

ACVIM Proc 12th Annual Forum, 1005

JACOB, H. (1914):

Therapeutische, kasuistische und statistische Mitteilungen aus der Klinik für kleine Haustiere an der Tierarzneischule in Utrecht (Holland).

Z. Tiermed. 18, 193

JACOBSE-GEELS, H.E.L., M.R. DAHA u. M.C. HORZINEK (1980):

Isolation and characterization of feline C3 and evidence for the immune complex pathogenesis of feline infectious peritonitis virus.

J. Immunol. 125, 1606-1610

KANEKO, J.J. (1989):

Serum proteins and the dysproteinemias

in: J.J. Kaneko (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals.

4. Aufl., Academic Press, San Diego, New York, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, S. 142-165

KAPKE, P. u. D.A. BRIAN (1986):

Sequence analysis of the porcine transmissible gastroenteritis coronavirus nucleocapsid protein gene.

Virology 151, 41-49

KELLNER, S.J. u. B. LITSCHI (1989):

Augenveränderungen bei der Felinen Infektiösen Peritonitis.

Kleintierprax. 34, 261-266

KENNEDY, M.A., K. BRENNEMAN, R.K. MILLSAPS, J. BLACK u. 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

KING, R.C. u. N.D. STANSFIELD (Hrsg.) (1990):

Encyclopedic dictionary of genetics.

VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim, S 247

KINNUNEN, L., T. POYRY u. T. HOVI (1992):

Genetic diversity and rapid evolution of poliovirus in human hosts.

Curr. Top. Microbiol. Immunol. 176, 49-61

KLINE, K.L., R.J. JOSEPH u. D.R. AVERILL (1994):

Feline infectious peritonitis with neurologic involvement: clinical and pathological findings in 24 cats.

J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 30, 111-118

KREIENBROCK, L. u. S. SCHACH (1997):

Sensitivität und Spezifität

in: L. Kreienbrock u. S. Schach (Hrsg.): Epidemiologische Methoden.

2. Aufl., Fischer-Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, S. 151

LACHMANN, G. (1991):

Rivalta-Probe

in: E. Wiesner u. R. Ribbeck (Hrsg.): Wörterbuch der Veterinärmedizin.

3. Aufl., Fischer-Verlag, Jena, Stuttgart, Lübeck, Ulm, S. 1275

LEE, C.M., F.Y. BIH, Y.C. CHAO, S. GOVINDARAJAN u. M.M.C. LAI (1992):

Evolution of hepatitis delta virus RNA during chronic infection.

Virology 188, 265-273

LEVEILLE, G.A. u. H.E. SAUBERLICH (1961):

Influence of dietary protein level on serum protein components and cholesterol in the growing chick.

J. Nutr. 74, 500-504

LI, X. u. F.W. SCOTT (1994):

Detection of feline coronaviruses in cell cultures and in fresh and fixed feline tissues using polymerase chain reaction.

Vet. Microbiol. 42, 65-77

LOEFFLER, D.G., R.L. OTT, J.F. EVERMANN u. J.E. ALEXANDER (1978):

The incidence of naturally occurring antibodies against feline infectious peritonitis in selected cat populations.

Feline Pract. 8, 43-47

LÜPNITZ, M. (1991):

Reverse Transkriptase

in: E. Wiesner u. R. Ribbeck (Hrsg.): Wörterbuch der Veterinärmedizin.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Lübeck, Ulm, S. 1260

LUTZ, H. (1992):

Feline Coronaviren: Felines Infektiöses Peritonitisvirus

in V. Schmidt u. M.C. Horzinek (Hrsg.): Krankheiten der Katze.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 319-335

MARTINEZ, M.L. u. R.C. WEISS (1993):

Detection of feline infectious peritonitis virus infection in cell cultures and peripheral blood mononuclear leukocytes of experimentally infected cats using a biotinylated cDNA probe.

Vet. Microbiol. 34, 259-271



MC ARDLE, F., M. BENNETT, R.M. GASKELL, B. TENNANT, D.F. KELLY u. C.J. GASKELL (1992):

Induction and enhancement of feline infectious peritonitis by canine coronavirus.  
Am. J. Vet. Res. 53, 1500-1506

MCKEIRNAN, A.J., J.F. EVERMANN, E.V. DAVIS u. R.L. OTT (1987):

Comparative properties of feline coronavirus in vitro  
Can. J. Vet. Res. 51, 212-216

MCKEIRNAN, A.J., J.F. EVERMANN, A. HARGIS, L.M. MILLER u. R.L. OTT (1981):

Isolation of feline coronaviruses from two cats with diverse manifestations.  
Feline Pract. 11, 16-20

MOTOKAWA, K., T. HOHDATSU, C. AIZAWA, H. KOYAMA u. H. HASHIMOTO (1995):

Molecular cloning and sequence determination of the peplomer protein gene of feline infectious peritonitis virus type I.  
Arch. Virol. 140, 469-480

NEU, H. u. E.G. PFEIFER (1985):

FIP (Feline Infektiöse Peritonitis): Klinische Frühsymptome und vorausgegangene Belastungen.  
Kleintierprax. 30, 307-314

O'BRIEN, S.J., M.E. ROELKE, L. MARKER, A. NEWMAN, C.A. WINKLER, D. MELTZER, L. COLLY, J.F. EVERMANN, M. BUSH u. D.E. WILDT (1985):

Genetic basis for species vulnerability in the cheetah.  
Science 227, 1428-1434

OLSEN, C.W. (1993):

A review of feline infectious peritonitis virus: molecular biology, immunopathogenesis, clinical aspects, and vaccination.  
Vet. Microbiol. 36, 1-37

OLSEN, C.W., W.V. CORAPI, R.H. JACOBSON, R.A. SIMKINS, L.F. SAIF u. F.W. SCOTT (1993):

Identification of antigenic sites mediating antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infectivity.  
J. Gen. Virol. 74, 745-749

OLSEN, C.W., W.V. CORAPI, C.K. NGICHABE, J.D. BAINES u. F.W. SCOTT (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

O'REILLY, K.J., L.M. FISHMAN u. L.M. HITCHCOCK (1979):  
Feline infectious peritonitis: isolation of coronavirus.  
Vet. Rec. 104, 348

OSTERHAUS, A.D.M.E., M.C. HORZINEK u. R.M.S. WIRAHADIREDDA (1978a):  
Feline infectious peritonitis (FIP) virus II. Propagation in suckling mouse brain.  
Zentralbl. Veterinärmed. B 25, 301-307

OSTERHAUS, A.D.M.E., M.C. HORZINEK u. R.M.S. WIRAHADIREDDA (1978b):  
Feline infectious peritonitis (FIP) virus IV. Propagation in suckling rat and hamster brain.  
Zentralbl. Veterinärmed. B 25, 816-825

PEDERSEN, N.C. (1976a):  
Feline infectious peritonitis: something old, something new.  
Feline Pract. 6, 42-51

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. (1976c):  
Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis.  
Am. J. Vet. Res. 37, 1449-1453

PEDERSEN, N.C. (1977):  
Feline infectious peritonitis test results: what do they mean?  
Feline Pract. 7, 13-14

PEDERSEN, N.C. (1983a):  
Feline infectious peritonitis and feline enteric coronavirus infections; part 1: feline enteric  
coronaviruses.  
Feline Pract. 13, 13-19

PEDERSEN, N.C. (1983b):  
Feline infectious peritonitis and feline enteric coronavirus infections; part 2: feline infectious  
peritonitis.  
Feline Pract. 13, 5-20

PEDERSEN, N.C. (1987a):  
Coronavirus diseases (coronavirus enteritis, feline infectious peritonitis)  
In J. Holzworth (Hrsg.): Diseases of the cat, medicine and surgery.  
WB Saunders Co, Philadelphia, S. 193-214

PEDERSEN, N.C. (1987b):

Feline infectious peritonitis virus

in: M.C. Horzinek u. M. Appel (Hrsg.): Virus infections of carnivores.

Elsevier Science Publishers, Amsterdam, S. 267-286

PEDERSEN, N.C. (1987c):

Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis virus infection.

Adv. Exp. Med. Biol. 218, 529-550

PEDERSEN, N.C. (1988):

Feline infectious peritonitis

in: N.C. Pedersen (Hrsg.): Feline infectious diseases.

Goleta: American Veterinary Publications Inc, S. 45-59

PEDERSEN, N.C. (1995a):

Recommendations on the management of catteries to minimize complications of feline coronavirus infections

in: Recommendations from working groups of the international feline enteric coronavirus and feline infectious peritonitis workshop.

Feline Pract. 23, 108-111

PEDERSEN, N.C. (1995b):

The history and interpretation of feline coronavirus serology.

Feline Pract. 23, 46-51

PEDERSEN, N.C. u. J.W. BLACK (1983):

Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using avirulent live virus or sublethal amounts virulent virus.

Am. J. Vet. Res. 44, 229-234

PEDERSEN, N.C., J.W. BLACK, J.F. BOYLE, J.F. EVERMANN, A.J. MCKEIRNAN u. R.L. OTT (1984):

Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates

in: P.J.M. Rottier, B.A.M. Zeijst, W.J.M. Spaan u. M.C. Horzinek (Hrsg.): Molecular Biology and pathogenesis of coronaviruses.

Plenum Press, New York, S. 365-380

PEDERSEN, N.C. u. J.F. BOYLE (1980):

Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis.

Am. J. Vet. Res. 41, 868-876

PEDERSEN, N.C., J.F. BOYLE u. K. FLOYD (1981a):

Infection studies in kittens utilizing 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 u. 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. u. K. FLOYD (1985):

Experimental studies with three new strains of feline infectious peritonitis virus: FIPV-UCD2, FIPV-UCD3, and FIPV-UCD4.

Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 7, 1001-1011

PEDERSEN, N.C., J.M. WARD u. W.L. MENGELING (1978):

Antigenic relationship of the feline infectious peritonitis virus to coronavirus of other species.

Arch. Virol. 58, 45-53

PEIRIS, J.S.M., S. GARDON, J.C. UNKELESS u. J.S. PORTERFIELD (1981):

Monoclonal anti Fc-receptor IgG blocks antibody enhancement of viral replication in macrophages.

Nature 289, 189-191

PEIRIS, J.S.M. u. J.S. PORTERFIELD (1979):

Antibody-mediated enhancement of flavivirus replication in macrophage-like cell lines.

Nature 282, 509-511

POELMA, F.G., J.C. PETERS, W.H.M. MIEOG u. P. ZWART (1971):

Infektiöse Peritonitis bei Karakal (*Felis caracal*) und Nordluchs (*Felis lynx lynx*).

13th. Int. Symp., 249-253

POLAND, A.M., H. VENNEMA, J.F. FOLEY u. 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

POSTORINO-REEVES, N.C., M.J. COYNE u. J.G. HERMAN (1994):

Evaluation of the field efficacy of a temperature-sensitive feline infectious peritonitis vaccine.

ACVIM Proc. 12th Annual Forum, 1004

REYNOLDS, D.J., D.J. GARWES u. C.J. GASKELL (1977):

Detection of transmissible gastroenteritis virus neutralizing antibody in cats.

Arch. Virol. 55, 77-86

- ROBISON, R.L., J. HOLZWORTH u. C.E. GILMORE (1971):  
Naturally occurring 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.  
Zürich, Univ., Veterinärmed. Fak., Diss.
- ROHRER, C., P.F. SUTER u. H. LUTZ (1993):  
Die Diagnostik der felinen Infektiösen Peritonitis (FIP): Retrospektive und prospektive Untersuchungen.  
Kleintierprax. 38, 379-389
- ROLFS, A., H.C. SCHUHMACHER u. P. MARX (Hrsg.) (1991):  
PCR topics.  
Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, Preface
- SANCHEZ, C.M., F. GEBAUER, C. SUNE, A. MENDEZ J. DOPAZOU u. L. ENJUANES (1992):  
Genetic evolution and tropism of transmissible gastroenteritis coronavirus.  
Virology 190, 92-105
- SCOTT, F.W. (1979):  
FIP antibody test-interpretation and recommendations  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 175, 1164, 1168
- SCOTT, F.W. (1987):  
Immunisation against feline coronaviruses  
Adv. Exp. Med. Biol. 218, 569-576
- SOTT, F.W., W.V. CORAPI u. C.W. OLSEN (1992):  
Evaluation of the safety and efficacy of Primucell-FIP vaccine.  
Feline Health Topics 7, 6-8
- SHELLY, S.M., J. SCARLETT-KRANZ u. J.T. BLUE (1988):  
Protein electrophoresis on effusions from cats as a diagnostic test for feline infectious peritonitis.  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 24, 495-500
- SIDDELL, S.G. (1995):  
The coronaviridae  
in: S.G. Siddell (Hrsg.): The coronaviridae  
Plenum Press, New York, S. 1-10

SOBRINO, F., E.L. PALMA, E. BECK, M. DAVILA, J.C. DE LA TORRE, P. NEGRO, N. VILLANUEVA, J. ORTIN u. E. DOMINGO (1986):

Fixation of mutations in the viral genome during an outbreak of foot-and-mouth disease: heterogeneity and rate variations.

Gene 50, 149-159

SPARKES, A.H., T.J. GRUFFYDD-JONES u. D.A. HARBOUR (1991):

Feline infectious peritonitis: a review of clinicopathological changes in 65 cases, and a critical assessment of their diagnostic value.

Vet. Rec. 129, 209-212

SPARKES, A.H., T.J. GRUFFYDD-JONES, P.E. HOWARD u. D.A. HARBOUR (1992):

Coronavirus serology in healthy pedigree cats.

Vet. Rec. 131, 35-36

STEINHAEUER, D.A. u. J.J. HOLLAND (1986):

Direct method for quantitation of extreme polymerase error frequencies at selected base sites in viral RNA.

J. Virol. 57, 219-228

STODDART, C.A. (1989):

Ithaca, New York, Cornell Univ., PhD Thesis

STODDART, C.A., J.E. BARLOUGH, C.A. BALDWIN u. F.W. SCOTT (1988a):

Attempted immunisation of cats against feline infectious peritonitis using canine coronavirus.

Res. Vet. Sci. 45, 383-388

STODDART, M.E. u. M. BENNETT (1994)

Feline coronavirus infections

in: E.A. Chandler, C.J. Gaskell u. R.M. Gaskell (Hrsg.): Feline medicine and therapeutics.

2. Aufl., Blackwell Science, London, Paris, Berlin, S. 506-514

STODDART, M.E., R.M. GASKELL, D.A. HARBOUR u. C.J. GASKELL (1988b):

Virus shedding and immune responses in cats inoculated with cell culture-adapted feline infectious peritonitis virus.

Vet. Microbiol. 16, 145-158

STODDART, C.A. u. F.W. SCOTT (1989):

Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence.

J. Virol. 63, 436-440

STURKIE, P.D. (1951):

Effects of estrogen and thyroxin upon plasma proteins and blood volume in the fowl.

Endocrinology 49, 565-570

SUITER, B.T., N.E. PFEIFFER, E.V. JONES, A.P. REED, S.R. KLEPFER, T.J. MILLER u. S. SRIKUMARAN (1995):

Serologic recognition of feline infectious peritonitis virus spike gene regions expressed as synthetic peptides and E.coli fusion proteins.

Arch. Virol. 140, 687-702

SUMMERS, B.A., G. SYKES u. M.L. MARTIN (1982):

Pansteatitis mimicking infectious peritonitis in a cat.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 546-549

TUCH, K., H.K. WITTE u. H. WULLER (1974):

Feststellung der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) bei Hauskatzen und Leoparden in Deutschland.

Zentralbl. Veterinärmed. B 21, 426-441

TUMBLESON, M.E., M.F. BURKS u. W.E. WINGFIELD (1972):

Serum protein concentrations as a function of age in female dairy cattle. Aging and serum proteins.

Cornell Vet. 63, 65-71

VENNEMA, H., R.J. DE GROOT, D.A. HARBOUR, M. DAALDERUP, T.J. GRUFFYDD-JONES, M.C. HORZINEK u. 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.J. DE GROOT, D.A. HARBOUR, M.C. HORZINEK u. 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 u. 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 u. N.C. PEDERSEN (1998):

Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses.

Virology 243, 150-157

VENNEMA, H., J.W. ROSSEN, J. WESSELING, M.C. HORZINEK u. P.J.M. ROTTIER (1992):

Genomic organization and expression of the 3' end of the canine and feline enteric coronaviruses.

Virology 191, 134-140

WARD, C.D. u. J.B. FLANEGAN (1992):

Determination of the poliovirus RNA polymerase error frequency at eight sites in the viral genome.

J. Virol. 66, 3784-3793

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 u. D.L. DUNGWORTH (1968):

An observation of FIP.

Vet. Rec. 83, 416-417

WATT, N.J., N.J. MAC INTYRE u. S. MC ORIST (1993):

An extended outbreak of infectious peritonitis in a closed colony of European wildcats (*felis silvestris*).

J. Comp. Pathol. 108, 73-79

WEBSTER, R.G., W.G. LAVER, G.M. AIR u. G.C. SCHILD (1982):

Molecular mechanisms of variation in influenza viruses.

Nature 296, 115-121

WEIMER, H.E. (1961):

The effects of protein depletion and repletion on the concentrations and distribution of serum proteins and protein-bound carbohydrates of the adult rat.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 94, 225-249

WEISS, R.C. (1991):

The diagnosis and clinical management of feline infectious peritonitis.

Vet. Med. 86, 308-319

WEISS, R.C., N.R. COX u. T. OOSTROM-RAM (1990):

Effect of interferon or *Propionibacterium acnes* on the course of experimentally induced feline infectious peritonitis in specific-pathogen free and random source cats.

Am. J. Vet. Res. 51, 726-733

WEISS, R.C., W.J. DODDS u. F.W. SCOTT (1980):

Dissiminated intravascular coagulation in experimentally induced feline infectious peritonitis.

Am. J. Vet. Res. 41, 663-671



- WEISS, R.C. u. 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. u. F.W. SCOTT (1981a):  
Antibody- mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue hemorrhagic fever.  
Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 4, 175-189
- WEISS, R.C. u. F.W. SCOTT (1981b):  
Pathogenesis of feline infectious peritonitis: nature and development of viremia.  
Am. J. Vet. Res. 42, 382-390
- WEISS, R.C. u. F.W. SCOTT (1981c):  
Pathogenesis of feline infectious peritonitis: pathologic changes and immunofluorescence.  
Am. J. Vet. Res. 42, 2036-2048
- WEISS, R.C. u. M. TOIVIO-KINNUCAN (1988a):  
Inhibition of feline infectious peritonitis virus replication by recombinant human leucocyte (alpha) interferon and feline fibroblastic (beta) interferon.  
Am. J. Vet. Res. 49, 1329-1335
- WEISS, R.C., D.M. VAUGHN u. N.R. COX (1988b):  
Increased plasma levels of leukotriene B4 and prostaglandin E2 in cats experimentally inoculated with feline infectious peritonitis virus.  
Vet. Res. Commun. 12, 313-323
- WITTE, K.H., K. TUCH, H. DUBENKROPP u. C. WALTHER (1977):  
Untersuchungen über die Antigenverwandtschaft der Viren der Felinen Infektiösen Peritonitis und der Transmissiblen Gastroenteritis des Schweines.  
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 90, 396-401
- WOLF, A.M. (1997):  
Feline infectious peritonitis, part 2.  
Feline Pract. 25, 24-28
- WOLFE, L.G. u. R.A. GRIESEMER (1966):  
Feline infectious peritonitis.  
Pathol. Vet. 3, 255-270
- WOODS, R.D. u. N.C. PEDERSEN (1979):  
Cross-protection studies between feline infectious peritonitis and porcine transmissible gastroenteritis viruses.  
Vet. Microbiol. 4, 11-16

ZOOK, B.C., N.W. KING, R.L. ROBISON u. H.L. MC COMBS (1968):  
Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis.  
Pathol. Vet. 5, 91-95

## 9. Tabellarischer Anhang

Tab. 21: Anamnese und Signalement der gesunden Katzen

Patienten Nr.	Geschlecht	Alter in Monaten	Rasse	Haltung
1	weiblich	12	Perser	Zucht
2	männlich	12	Perser	Zucht
3	weiblich	30	Norw. Waldkzte.2)	Zucht
4	weiblich	30	Norw. Waldkzte.	Zucht
5	weiblich	7	EKH 1)	Tierheim
6	männlich	12	EKH	Einzeltier
7	weiblich	24	Maine Coon	Einzeltier
8	nicht bekannt	24	Perser	Mehrkatzenhaushalt
9	männlich	96	Perser	Mehrkatzenhaushalt
10	weiblich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
11	weiblich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
12	männlich	9	EKH	Mehrkatzenhaushalt
13	männlich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
14	männlich	7	EKH	Einzeltier
15	männlich	84	Norw. Waldkzte.	Mehrkatzenhaushalt
16	weiblich	5	Heilige Birma	Mehrkatzenhaushalt
17	männlich	24	EKH	Tierheim
18	männlich	12	EKH	Einzeltier
19	weiblich	120	Perser	Mehrkatzenhaushalt
20	männlich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
21	weiblich	12	Perser	Zucht
22	männlich	10	EKH	Einzeltier
23	nicht bekannt	nicht bekannt	Perser	Mehrkatzenhaushalt
24	weiblich	57	Maine Coon	Mehrkatzenhaushalt
25	weiblich	nicht bekannt	Ragdoll	Zucht
26	männlich	13	Heilige Birma	Mehrkatzenhaushalt
27	weiblich	36	EKH	Mehrkatzenhaushalt
28	männlich	24	Norw. Waldkzte.	Mehrkatzenhaushalt
29	männlich	18	EKH	Einzeltier
30	weiblich	24	BKH 3)	Zucht
31	männlich	96	Perser	Mehrkatzenhaushalt
32	männlich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
33	männlich	48	EKH	Mehrkatzenhaushalt
34	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
35	weiblich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
36	weiblich	36	Perser	Einzeltier
37	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
38	männlich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
39	männlich	48	EKH	Mehrkatzenhaushalt
40	männlich	48	EKH	Einzeltier
41	weiblich	nicht bekannt	EKH	Tierheim
42	männlich	nicht bekannt	EKH	Tierheim
43	männlich	12	Perser	Einzeltier
44	weiblich	109	EKH	Mehrkatzenhaushalt
45	weiblich	132	EKH	Einzeltier
46	männlich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt

47	männlich	6	EKH	Einzeltier
48	männlich	60	Perser	Einzeltier
49	männlich	nicht bekannt	Mix	Einzeltier
50	weiblich	nicht bekannt	EKH	Tierheim
51	weiblich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
52	männlich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
53	männlich	132	EKH	Einzeltier
54	weiblich	132	Perser	Einzeltier
55	weiblich	8	EKH	Tierheim
56	männlich	24	EKH	Einzeltier
57	männlich	60	EKH	Einzeltier
58	männlich	180	Perser	Mehrkatzenhaushalt
59	weiblich	60	EKH	Einzeltier
60	weiblich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
61	weiblich	8	Sib.Waldktze. 4)	Zucht
62	weiblich	7	EKH	Mehrkatzenhaushalt
63	weiblich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
64	weiblich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
65	weiblich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
66	weiblich	24	EKH	Einzeltier
67	weiblich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
68	männlich	24	EKH	Einzeltier
69	männlich	108	BKH	Zucht
70	weiblich	180	EKH	Einzeltier
71	weiblich	12	Maine Coon	Zucht
72	männlich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
73	weiblich	144	EKH	Einzeltier
74	männlich	23	BKH	Zucht
75	weiblich	48	EKH	Mehrkatzenhaushalt
76	weiblich	12	EKH	Einzeltier
77	männlich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
78	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
79	weiblich	72	EKH	Mehrkatzenhaushalt
80	männlich	12	Perser	Mehrkatzenhaushalt
81	weiblich	6	Perser	Zucht
82	weiblich	24	Perser	Zucht
83	männlich	96	EKH	Einzeltier
84	weiblich	3	Perser	Zucht
85	männlich	5	BKH	Zucht
86	weiblich	48	Heilige Birma	Mehrkatzenhaushalt
87	weiblich	6	Heilige Birma	Zucht
88	nicht bekannt	nicht bekannt	EKH	Tierheim
89	nicht bekannt	nicht bekannt	EKH	Tierheim
90	weiblich	60	Kartäuser	Zucht
91	weiblich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
92	nicht bekannt	nicht bekannt	EKH	Tierheim
93	weiblich	120	EKH	Einzeltier
94	männlich	6	EKH	Einzeltier
95	weiblich	18	EKH	Einzeltier

Legende s. Tab.21

Tab. 22: Anamnese und Signalement der FIP-verdächtigen Katzen

Patienten Nr.	Geschlecht	Alter in Monaten	Rasse	Haltung
1	männlich	12	EKH	Einzeltier
2	männlich	96	Heilige Birma	Einzeltier
3	nicht bekannt	12	EKH	Einzeltier
4	männlich	84	EKH	Mehrkatzenhaushalt
5	weiblich	144	EKH	Einzeltier
6	männlich	12	BKH	Einzeltier
7	weiblich	126	EKH	Mehrkatzenhaushalt
8	weiblich	6	nicht bekannt	Einzeltier
9	weiblich	8	Mix	Mehrkatzenhaushalt
10	männlich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
11	männlich	120	EKH	Mehrkatzenhaushalt
12	männlich	2	EKH	Mehrkatzenhaushalt
13	nicht bekannt	4	Perser	Zucht
14	weiblich	12	EKH	Einzeltier
15	männlich	36	EKH	Mehrkatzenhaushalt
16	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
17	männlich	nicht bekannt	Siam	Zucht
18	männlich	6	EKH	Mehrkatzenhaushalt
19	weiblich	nicht bekannt	EKH	Tierheim
20	weiblich	54	Perser	Zucht
21	weiblich	12	BKH	Zucht
22	weiblich	180	EKH	Mehrkatzenhaushalt
23	weiblich	66	EKH	Tierheim
24	männlich	60	Perser	Zucht
25	männlich	12	EKH	Einzeltier
26	weiblich	12	Norw. Waldkz.	Zucht
27	weiblich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
28	weiblich	nicht bekannt	EKH	Einzeltier
29	männlich	12	EKH	Tierheim
30	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
31	weiblich	12	Perser	Mehrkatzenhaushalt
32	weiblich	nicht bekannt	Maine Coon	Zucht
33	männlich	84	EKH	Einzeltier
34	männlich	48	EKH	Mehrkatzenhaushalt
35	männlich	17	Colour Ktze.	Einzeltier
36	weiblich	18	EKH	Mehrkatzenhaushalt
37	weiblich	12	BKH	Zucht
38	weiblich	12	EKH	Einzeltier
39	männlich	102	EKH	Einzeltier
40	weiblich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
41	männlich	7	EKH	Einzeltier
42	männlich	12	EKH	Einzeltier
43	weiblich	22	Kartäuser	Einzeltier
44	männlich	nicht bekannt	EKH	Mehrkatzenhaushalt
45	weiblich	18	EKH	Einzeltier
46	männlich	120	EKH	Einzeltier
47	weiblich	12	EKH	Einzeltier
48	weiblich	12	EKH	Einzeltier
49	weiblich	7	Perser	Zucht

50	männlich	72	EKH	Einzel tier
51	männlich	10	EKH	Einzel tier
52	männlich	60	EKH	Einzel tier
53	weiblich	6	EKH	Mehrkatzenhaushalt
54	weiblich	10	EKH	Einzel tier
55	nicht bekannt	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
56	weiblich	6	EKH	Einzel tier
57	männlich	156	EKH	Einzel tier
58	weiblich	60	Perser	Mehrkatzenhaushalt
59	weiblich	97	EKH	Mehrkatzenhaushalt
60	männlich	72	EKH	Mehrkatzenhaushalt
61	weiblich	73	EKH	Einzel tier
62	weiblich	9	Perser	Zucht
63	männlich	156	Somali	Mehrkatzenhaushalt
64	männlich	108	EKH	Mehrkatzenhaushalt
65	weiblich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
66	männlich	48	EKH	Mehrkatzenhaushalt
67	männlich	6	EKH	Mehrkatzenhaushalt
68	weiblich	12	EKH	Einzel tier
69	männlich	10	Heilige Birma	Mehrkatzenhaushalt
70	männlich	204	EKH	Mehrkatzenhaushalt
71	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
72	männlich	24	Mix	Einzel tier
73	männlich	12	Perser	Zucht
74	männlich	72	EKH	Mehrkatzenhaushalt
75	männlich	12	EKH	Tierheim
76	weiblich	nicht bekannt	EKH	Einzel tier
77	männlich	12	EKH	Mehrkatzenhaushalt
78	weiblich	132	EKH	Mehrkatzenhaushalt
79	weiblich	11	BKH	Zucht
80	männlich	36	EKH	Einzel tier
81	männlich	nicht bekannt	EKH	Tierheim
82	männlich	14	EKH	Mehrkatzenhaushalt
83	männlich	24	EKH	Einzel tier
84	weiblich	144	EKH	Einzel tier
85	männlich	24	EKH	Mehrkatzenhaushalt
86	männlich	36	Perser	Mehrkatzenhaushalt
87	männlich	24	Maine Coon	Zucht
88	weiblich	3,5	Kartäuser	Mehrkatzenhaushalt
89	männlich	24	EKH	Tierheim
90	männlich	3,5	EKH	Einzel tier
91	männlich	3	Kartäuser	Einzel tier
92	weiblich	54	EKH	Zucht
93	weiblich	8	Maine Coon	Zucht

1) EKH= Europäische Kurzhaarkatze

2) Norw. Waldktze.= Norwegische Waldkatze

3) BKH= Britische Kurzhaarkatze

4) Sib. Waldktze.= Sibirische Waldkatze

Tab. 23: Klinische Symptome bei den FIP-verdächtigen Tieren

Pat. Nr.	Fieber	Inappetenz	Kachexie	Anaemie	Asc-Pleural	Ikterus	ZNS-Sympt.	Augenverä.	Apathie
1	+	+	-	-	+	-	-	-	+
2	-	+	+	-	-	+	-	-	-
3	+	+	+	-	+	+	-	-	-
4	-	+	+	-	+	-	-	-	-
5	-	+	+	-	+	+	-	-	+
6	-	+	-	-	-	+	-	+	-
7	+	-	+	+	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	+	-	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-	-	+	-
10	-	+	-	+	+	-	-	-	-
11	+	+	+	-	+	+	-	-	-
12	+	+	+	-	+	-	-	-	-
13	+	+	+	+	-	-	-	-	-
14	+	+	+	-	+	-	-	-	-
15	+	+	+	+	-	+	-	-	-
16	+	+	+	+	-	+	-	-	-
17	-	+	+	-	-	-	+	-	-
18	-	+	+	-	+	-	-	-	-
19	-	+	+	-	+	+	-	-	-
20	+	+	+	-	+	-	-	-	-
21	-	-	+	-	+	-	-	-	-
22	+	+	-	+	+	-	-	-	-
23	+	-	-	-	+	+	-	-	-
24	+	+	+	-	-	+	-	-	-
25	+	+	+	-	-	+	-	-	-
26	+	+	-	+	+	+	-	-	-
27	-	+	-	-	+	+	-	-	-
28	+	+	-	-	-	+	-	-	-
29	-	+	+	+	+	+	-	-	-
30	+	+	+	-	+	-	-	-	+
31	+	+	+	-	-	-	-	-	-
32	+	+	+	-	-	-	-	+	-
33	+	+	-	+	+	-	-	-	+
34	+	+	+	+	+	+	-	-	+
35	+	+	+	-	+	+	-	-	-
36	+	+	+	-	-	+	-	-	-
37	-	+	+	-	+	+	-	-	+
38	-	+	+	+	-	+	-	-	-
39	+	+	+	+	+	-	-	-	+
40	-	+	+	-	+	+	-	-	+
41	-	+	+	-	+	-	-	-	-
42	+	+	+	-	-	-	-	-	-
43	+	+	+	-	-	+	-	-	+
44	+	-	+	+	+	-	-	-	-
45	+	+	+	-	+	+	-	-	-
46	+	+	+	-	+	-	-	-	+

47	+	+	+	-	-	-	-	-	+
48	-	+	+	+	+	+	-	-	+
49	+	+	-	+	-	-	-	-	+
50	+	+	+	-	-	+	-	-	-
51	+	+	+	-	+	+	-	-	+
52	+	+	+	+	+	-	-	-	-
53	+	+	+	-	+	-	-	-	-
54	+	+	+	-	+	-	-	-	-
55	+	+	+	-	-	-	-	-	+
56	-	-	+	-	-	-	+	+	+
57	+	+	+	-	-	-	-	-	+
58	-	+	+	+	-	-	-	-	-
59	+	+	+	+	-	-	-	-	-
60	+	+	+	-	-	-	-	-	+
61	-	+	+	-	-	+	-	-	-
62	+	+	+	+	+	-	-	-	-
63	-	+	+	+	-	-	-	-	-
64	-	+	+	-	-	-	-	-	+
65	+	+	+	-	-	+	-	-	-
66	-	+	+	-	+	+	-	-	-
67	+	+	+	+	+	-	-	-	+
68	-	+	+	+	-	-	-	-	+
69	-	+	-	+	+	+	-	-	-
70	-	+	+	+	+	-	-	-	-
71	+	+	+	+	-	-	-	-	-
72	+	+	+	-	+	+	-	-	-
73	+	+	+	-	+	-	-	-	-
74	-	+	+	+	+	+	-	-	-
75	+	+	+	-	-	-	-	-	-
76	-	+	+	+	+	-	-	-	+
77	+	+	+	+	-	-	-	-	-
78	-	-	+	-	+	+	-	-	-
79	+	+	+	+	+	+	-	-	-
80	+	+	+	+	+	+	-	-	+
81	-	+	+	-	+	+	-	-	-
82	+	+	+	-	+	+	-	-	-
83	+	+	+	+	+	-	+	-	-
84	-	-	+	-	-	+	-	+	-
85	+	+	+	-	-	-	-	-	+
86	+	+	+	+	-	-	-	-	-
87	-	+	-	+	+	+	-	-	-
88	+	+	+	+	+	+	-	-	+
89	+	+	+	+	-	-	-	-	+
90	+	+	+	+	+	+	-	-	+
91	+	+	+	+	+	-	-	-	-
92	-	+	+	+	+	-	-	-	+
93	+	+	+	-	-	+	-	-	-

+ = Symptom vorhanden; - = Symptom nicht vorhanden=> Beurteilung von den behandelnden Tierärzten  
Asc = Ascitis; Pleural = Pleuralerguss; Augenverä. = Augenveränderungen



Tab. 24: Eiweißgesamtbestimmung und Eiweißelektrophorese bei den klinisch gesunden Katzen

Patienten-Nr.	TP in g/l	A/G < 0,6	Alb.<32 g/l	Glob.>43 g/l	y-Glo.>15g/l	FeLV	FIV
1	71,8	-	+	+	+	*	*
2	83,6	-	+	+	+	*	*
3	70	-	-	-	-	*	*
4	70	-	-	-	-	*	*
5	69	-	-	-	+	*	*
6	62	-	-	-	-	negativ	negativ
7	69	-	-	-	-	*	*
8	58	-	+	-	-	*	*
9	82	+	+	+	+	negativ	negativ
10	72	-	+	+	+	*	*
11	62	-	+	-	-	*	*
12	40	-	+	-	-	*	*
13	72	-	+	-	+	*	*
14	68	-	+	+	-	negativ	negativ
15	81	-	-	+	+	negativ	negativ
16	75	-	-	-	-	*	*
17	80	-	-	-	-	*	*
18	88	-	-	+	+	negativ	*
19	80	+	+	+	+	*	*
20	88	+	+	+	+	negativ	*
21	64	-	+	-	+	*	*
22	82	+	+	+	+	*	*
23	80	-	-	+	+	*	*
24	72	-	+	+	+	*	*
25	81	-	+	+	+	*	*
26	65	-	-	-	-	*	*
27	120	+	+	+	+	*	*
28	88	-	-	+	+	*	*
29	70	-	+	+	+	*	*
30	66	-	-	-	-	*	*
31	67,5	-	+	-	-	*	*
32	74,2	-	-	-	-	*	*
33	58,8	-	+	-	-	*	*
34	152	-	-	+	+	*	*
35	36	-	+	-	-	*	*
36	73,6	-	-	-	+	*	*
37	57	-	+	-	-	*	*
38	70,7	-	+	-	+	*	*
39	80,3	-	+	+	+	*	*
40	64,8	-	+	-	-	negativ	negativ
41	84,4	+	+	+	+	*	*
42	96,1	+	+	+	+	*	*
43	61,2	-	+	-	-	*	*
44	*	*	*	*	*	negativ	*
45	81,5	+	+	+	+	negativ	negativ
46	93,8	-	-	+	+	*	*
47	68,3	-	+	+	+	*	*
48	108	+	+	+	-	*	*
49	62,9	-	+	-	+	*	*

50	71,2	-	+	-	+	*	*
51	76,3	-	+	+	+	negativ	*
52	63,6	-	-	-	-	*	*
53	79,1	-	-	-	+	*	*
54	70,5	-	-	-	-	*	*
55	63	-	+	-	-	*	*
56	64,1	-	-	-	-	*	*
57	63,3	-	-	-	-	*	*
58	70,7	-	-	-	-	negativ	negativ
59	82,5	+	+	+	+	negativ	negativ
60	62,4	-	+	-	-	*	*
61	100,3	-	-	+	+	*	*
62	107	-	-	+	-	*	*
63	106	+	-	+	+	*	*
64	61,9	-	+	-	-	*	*
65	70,4	-	-	-	-	*	*
66	69,9	-	+	-	+	*	*
67	112	+	+	+	-	*	*
68	68	-	-	-	-	*	*
69	81	+	+	+	+	*	*
70	62,2	-	+	-	-	*	*
71	63,4	-	+	-	-	*	*
72	68,4	-	-	-	-	*	*
73	50	-	+	-	-	*	*
74	78	-	-	-	-	*	*
75	73	-	+	+	+	*	*
76	69,7	-	-	-	-	*	*
77	71,7	-	-	-	-	*	*
78	80	-	-	-	-	*	*
79	66	-	-	-	-	*	*
80	77,8	-	-	-	-	*	*
81	80,9	-	-	+	+	negativ	negativ
82	*	*	*	*	*	negativ	negativ
83	95,2	-	-	+	+	negativ	negativ
84	*	*	*	*	*	*	*
85	72	-	-	-	-	*	*
86	69,8	-	-	-	-	*	*
87	*	*	*	*	*	*	*
88	68,5	-	+	-	-	*	*
89	81,5	-	+	+	+	*	*
90	72	-	-	-	-	*	*
91	78,6	+	+	+	+	negativ	negativ
92	83,7	+	+	+	+	*	*
93	67,7	-	+	-	+	*	*
94	66	-	-	-	-	negativ	*
95	89	-	-	+	+	negativ	*

Erläuterungen s. Tab. 24 unten

Tab. 25: Eiweißgesamtbestimmung und Eiweißelektrophorese bei den FIP-verdächtigen Katzen

Patienten-Nr.	TP in g/l	A/G < 0,6	Alb.<32g/l	Glob.>43g/l	y-Glo.>15g/l	FeLV	FIV
1	86,3	+	+	+	+	*	*
2	116	+	+	+	+	*	*
3	130	+	+	+	+	*	*
4	*	*	*	*	*	*	*
5	106,8	+	+	+	+	*	*
6	78	+	+	+	+	*	*
7	98	+	+	+	+	negativ	*
8	74	+	+	+	+	negativ	negativ
9	98	+	+	+	+	*	*
10	79	+	+	+	+	*	*
11	79	+	+	+	+	*	*
12	70	+	+	+	+	*	*
13	81	+	+	+	+	*	*
14	42	+	+	-	+	*	*
15	78	+	+	+	+	*	*
16	92	+	+	+	+	positiv	*
17	79	+	+	+	+	*	*
18	84	+	+	+	+	*	*
19	77	-	-	+	+	*	*
20	64	+	+	+	+	*	*
21	60	+	+	+	+	*	*
22	84	+	+	+	+	*	*
23	93	+	+	+	+	negativ	*
24	86,6	+	+	+	+	negativ	negativ
25	72	+	+	+	+	negativ	negativ
26	76	-	-	-	-	*	*
27	76	+	+	+	+	*	*
28	75	-	-	-	+	negativ	negativ
29	102	+	+	+	+	negativ	negativ
30	77,5	+	+	+	+	*	*
31	98	+	-	+	+	*	*
32	98	+	+	+	+	*	*
33	89	+	+	+	+	*	negativ
34	70	+	+	+	+	*	*
35	86,3	+	+	+	+	negativ	negativ
36	115	+	+	+	+	negativ	*
37	29	-	+	-	-	*	*
38	92	+	+	+	+	*	*
39	102	+	+	+	+	*	*
40	48	-	+	-	+	*	*
41	110	+	+	+	+	*	*
42	106,3	+	+	+	+	*	*
43	100	+	+	+	+	*	*
44	120	+	+	+	+	*	*
45	60	+	+	+	+	*	*
46	55	+	+	+	+	*	*
47	86,9	+	-	+	+	negativ	negativ
48	72	+	+	+	+	negativ	*

49	92	+	+	+	+	*	*
50	84	+	+	+	+	*	*
51	70	+	+	+	+	*	*
52	75	+	+	+	+	negativ	positiv
53	55	-	+	-	-	*	*
54	80	+	+	+	+	*	*
55	88	+	+	+	+	negativ	negativ
56	109	+	+	+	+	*	*
57	*	*	*	*	*	negativ	negativ
58	98	+	+	+	+	*	*
59	68,1	+	+	+	+	*	*
60	88,4	+	+	+	+	*	*
61	56,5	+	+	+	+	*	*
62	77,6	+	+	+	+	*	*
63	73,2	+	+	+	+	positiv	*
64	104	+	+	+	+	negativ	negativ
65	81,5	-	-	+	+	*	*
66	95,6	+	+	+	+	negativ	*
67	57,6	+	+	-	+	*	*
68	104	+	+	+	+	*	*
69	101,5	+	+	+	+	*	*
70	52,9	+	+	-	-	*	*
71	83,4	+	+	+	+	*	*
72	37	-	+	-	-	*	*
73	105,6	+	+	+	+	*	*
74	81,2	+	+	+	+	negativ	*
75	110,6	+	+	+	+	*	*
76	59	-	+	-	-	*	*
77	93,6	+	+	+	+	negativ	*
78	43,8	+	+	-	+	*	*
79	44	+	+	-	+	*	*
80	103,1	+	+	+	+	negativ	negativ
81	76,5	+	+	+	+	*	*
82	52	-	+	-	-	*	*
83	80	+	+	+	+	*	*
84	72	-	+	-	-	negativ	negativ
85	99	+	+	+	+	negativ	negativ
86	90	+	+	+	+	*	*
87	80,1	+	+	+	+	*	*
88	51,8	+	+	-	-	*	*
89	96,6	+	+	+	+	negativ	negativ
90	42	+	+	-	+	negativ	*
91	67,2	+	+	+	-	*	*
92	42	+	+	-	+	*	*
93	97	+	+	+	+	*	*

\*Untersuchung nicht möglich oder wurde nicht getestet

TP=Total Protein (Gesamteiweiß)

Alb.=Albumin

Glob.=Globulin

y-Glo.=  $\gamma$ -Globulin

-=Wert liegt nicht über oder unter der jeweiligen Grenze, +=Konzentration ist erhöht oder erniedrigt

Tab. 26: PCR-Ergebnisse und AK-Titer bei den klinisch gesunden Tieren

Patienten-Nr.	Plasma	Punktat	Vollblut	Titer
1	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
2	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
3	negativ	nicht vorhanden	positiv	100
4	negativ	nicht vorhanden	negativ	25
5	positiv	nicht vorhanden	negativ	400
6	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
7	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
8	positiv	nicht vorhanden	negativ	800
9	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
10	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
11	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
12	negativ	nicht vorhanden	negativ	400
13	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
14	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
15	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
16	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
17	nicht vorhanden	nicht vorhanden	positiv	400
18	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
19	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
20	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
21	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
22	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
23	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
24	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
25	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
26	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
27	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
28	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
29	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
30	positiv	nicht vorhanden	negativ	400
31	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
32	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
33	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
34	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
35	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
36	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
37	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
38	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
39	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
40	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
41	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
42	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
43	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
44	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
45	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
46	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600

47	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
48	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
49	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
50	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
51	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
52	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
53	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
54	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
55	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
56	positiv	nicht vorhanden	negativ	12,5
57	negativ	nicht vorhanden	negativ	100
58	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
59	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
60	positiv	nicht vorhanden	negativ	25
61	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
62	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
63	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
64	negativ	nicht vorhanden	negativ	12,5
65	positiv	nicht vorhanden	negativ	12,5
66	positiv	nicht vorhanden	negativ	12,5
67	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
68	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
69	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
70	nicht vorhanden	nicht vorhanden	negativ	12,5
71	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
72	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
73	negativ	nicht vorhanden	negativ	12,5
74	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
75	negativ	nicht vorhanden	negativ	12,5
76	negativ	nicht vorhanden	negativ	12,5
77	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
78	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
79	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
80	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	*
81	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
82	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
83	negativ	nicht vorhanden	negativ	25
84	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
85	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
86	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
87	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
88	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
89	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
90	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
91	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
92	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
93	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
94	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
95	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5

Tab. 27: PCR-Ergebnisse und AK-Titer bei den FIP-verdächtigen Katzen

Patienten-Nr.	Plasma	Punktat	Vollblut	Titer
1	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
2	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
3	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
4	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
5	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
6	positiv	nicht vorhanden	positiv	400
7	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
8	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
9	negativ	nicht vorhanden	positiv	400
10	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
11	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
12	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
13	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
14	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	1600
15	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
16	nicht vorhanden	nicht vorhanden	positiv	400
17	nicht vorhanden	nicht vorhanden	positiv	400
18	negativ	nicht vorhanden	positiv	800
19	negativ	nicht vorhanden	positiv	800
20	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
21	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
22	negativ	positiv	positiv	400
23	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
24	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
25	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
26	positiv	nicht vorhanden	negativ	100
27	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
28	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
29	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
30	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
31	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
32	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
33	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
34	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
35	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
36	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
37	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	100
38	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
39	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
40	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	800
41	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
42	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
43	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
44	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
45	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400

46	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	400
47	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
48	positiv	positiv	nicht vorhanden	800
49	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
50	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
51	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
52	negativ	nicht vorhanden	negativ	800
53	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	400
54	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
55	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
56	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
57	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	12,5
58	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
59	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
60	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
61	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
62	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
63	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
64	positiv	nicht vorhanden	negativ	1600
65	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
66	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
67	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
68	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	1600
69	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
70	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	25
71	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
72	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	25
73	negativ	nicht vorhanden	negativ	400
74	nicht vorhanden	positiv	positiv	100
75	negativ	nicht vorhanden	negativ	400
76	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	400
77	negativ	nicht vorhanden	negativ	400
78	negativ	nicht vorhanden	negativ	800
79	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	800
80	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
81	negativ	negativ	nicht vorhanden	400
82	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
83	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
84	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
85	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
86	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	3200
87	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
88	negativ	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
89	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	400
90	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800
91	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	100
92	nicht vorhanden	positiv	nicht vorhanden	1600
93	positiv	nicht vorhanden	nicht vorhanden	800



## *Vielen Dank...*

Herrn Prof. Dr. Dr. M.C. Horzinek aus dem Institut für Virologie der Tierärztlichen Hochschule in Utrecht danke ich herzlich für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. L. Haas aus dem Institut für Virologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover für die stets freundliche Hilfe und Unterstützung bei der Korrektur der Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei der Leiterin des Labors LABOKLIN in Bad Kissingen Frau Dr. E. Müller für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und Hilfestellung bei der Korrektur der Arbeit herzlich bedanken.

Mein herzlichster Dank gilt auch den Mitarbeitern von LABOKLIN besonders Frau Dr. P. Kühnlein für die stets freundlich Unterstützung und Hilfestellung bei der Versuchsplanung sowie bei der Durchführung der Arbeit.

Besonderen Dank auch an alle Kollegen, die mir bereitwillig Ihre anamnestischen und klinischen Daten zur Verfügung gestellt haben, ohne die die Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Bei Herrn Dr. Bayerbach aus dem Institut für Biometrie und Statistik der Tierärztlichen Hochschule Hannover möchte ich mich für die Unterstützung und Beratung bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials bedanken.

Schließlich danke ich meiner Familie, vor allem meinen Eltern, und meinen Freunden für die liebevolle Unterstützung und übermittelte Kraft, um die Arbeit fertigstellen zu können.