

Aus der Medizinischen Kleintierklinik
Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haustiere und Heimtiere
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Enzephalitozoonose beim Kaninchen

- eine retrospektive Auswertung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität

München

von

Ulrike Flock

aus Hamburg

München 2010

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Hartmann

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Reese

Tag der Promotion: 24.07.2010

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Pathogenese der Enzephalitozoonose	2
1.1.	Taxonomie und Entwicklung	2
1.2.	Pathologie und Immunreaktion beim Kaninchen.....	7
1.3.	Übertragung und Verbreitung	11
1.4.1.	Vorkommen bei anderen Tierarten	16
1.4.2.	Vorkommen beim Menschen	17
2.	Klinik der Enzephalitozoonose	18
2.1.	Problemkomplex ZNS.....	19
2.2.	Problemkomplex Niere	20
2.3.	Problemkomplex Auge.....	21
2.4.	Andere Organveränderungen	21
2.5.	Labordiagnostische Veränderungen	21
3.	Diagnostik der Enzephalitozoonose.....	22
3.1.	Erregernachweis	23
3.1.1.	Nachweis typischer histologischer Veränderungen	23
3.1.2.	Direkter Erregernachweis.....	23
3.1.2.1.	Mikroskopischer Nachweis	24
3.1.2.1.1.	Lichtmikroskopischer Nachweis	24
3.1.2.1.2.	Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis	24
3.1.2.1.3.	Elektronenmikroskopischer Nachweis	24
3.1.2.2.	Polymerasekettenreaktion	25
3.1.2.2.1.	Polymerasekettenreaktion im Urin.....	25
3.1.2.2.2.	Polymerasekettenreaktion im Liquor	26
3.1.2.2.3.	Polymerasekettenreaktion aus Linsenmaterial	26
3.1.2.3.	Anzüchtung in der Zellkultur	26
3.2.	Indirekte Nachweisverfahren	27
3.2.1.	Intrakutantest	27
3.2.2.	Immunfluoreszenztest	28
3.2.3.	Immunoperoxidasetest	28
3.2.4.	Komplementbindungstest.....	28

3.2.5.	Enzyme-Linked Immunosorbant Assay	29
3.2.6.	Tusche-Immuntest	29
4.	Differentialdiagnose zur Enzephalitozoonose.....	30
4.1.	Differentialdiagnose zum Problemkomplex ZNS	30
4.2.	Differentialdiagnose zum Problemkomplex Niere.....	32
4.3.	Differentialdiagnose zum Problemkomplex Auge.....	32
5.	Therapie der Enzephalitozoonose.....	32
III.	MATERIAL UND METHODE	34
1.	Material	34
2.	Methode.....	36
2.1.	Anamnese und Signalement	36
2.2.	Befunderhebung	36
2.3.	Blutentnahme und Aufbereitung	36
2.4.	Verfahren zum Nachweis von <i>Enzephalitozoon cuniculi</i>	37
2.4.1.	Antikörperbestimmung.....	37
2.4.2.	Polymerasekettenreaktion	37
2.4.3.	Pathologisch-anatomische Untersuchung	37
2.5.	Statistische Auswertung	38
IV.	ERGEBNISSE	39
1.	Sensitivität und Prävalenz der <i>Encephalitozoon-cuniculi</i>-Antikörper- Bestimmung bei Kaninchen in Bayern.....	39
1.1.	<i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Antikörperprävalenz	39
1.2.	Sensitivität des <i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Antikörpers	39
2.	Vergleich von Signalement und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit gesunden, <i>Enzephalitozoon- cuniculi</i>-Antikörper-negativen Kaninchen	40
2.1.	Signalement	40
2.1.1.	Altersverteilung	40
2.2.2.	Gewichtsverteilung.....	41
2.2.3.	Geschlechtsverteilung	41
2.2.4.	Labordiagnostische Parameter	42
3.	Vergleich von Signalement, klinischer Symptomatik und	

labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener**Enzephalitozoonose mit kranken Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht 45**

3.1.	Signalement	45
3.1.1.	Altersverteilung	45
3.1.2.	Gewichtsverteilung.....	46
3.1.3.	Geschlechtsverteilung	47
3.2.	Klinische Symptomatik	47
3.3.	Labordiagnostische Parameter	50
3.4.	Verlauf.....	54
3.5.	Pathologische Befunde.....	55
V.	DISKUSSION	56
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	66
VII.	SUMMARY	68
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	70
IX.	ANHANG	88
1.	Tabellenverzeichnis.....	88
2.	Abbildungsverzeichnis.....	89
X.	DANKSAGUNG	91

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADP	Adenosin-5`-diphosphat
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATP	Adenosin-5`-triphosphat
bzw	beziehungsweise
BLV	bovines Leukosevirus
Ca ²⁺	Kalziumion
CIA	Carbon-Immuno-Assay
CK	Kreatinkinase
d	Tag
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>E. cuniculi</i>	<i>Encephalitozoon cuniculi</i>
ELISA	Enzyme – Linked Immunosorbant Assay
FITC	Fluoreszeinisothiozyanat
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
µg	Mikrogramm
h	Stunde
HIV	humanes Immunschwächevirus
IU	internationale Einheit (international Unit)
<i>i. p.</i>	<i>intraperitoneal</i>
<i>i. t.</i>	<i>intratracheal</i>
<i>i. u.</i>	<i>in utero</i>
<i>i. v.</i>	<i>intravenös</i>
<i>i. z.</i>	<i>intrazerebral</i>
IFAT	Immunfluoreszenztest
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
µm	Mikrometer
K ⁺	Kaliumion
KBR	Komplementbindungsreaktion
Kg	Kilogramm
l	Liter
µl	Mikroliter

MCH	mean corpuscular hemoglobin
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	mean corpuscular volume
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
nm	Nanometer
neutr. Gr.	neutrophile Granulozyten
p	Signifikanz
<i>p. i.</i>	<i>post infectionem</i>
<i>p. o.</i>	<i>per os</i>
<i>p. p.</i>	<i>post partum</i>
PBS	phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PCR	polymerease chain reaction
RNA	Ribonukleinsäure
<i>s. c.</i>	<i>subkutan</i>
S.	Seite
sec.	Sekunde
SIV	Immunschwäche der Affen
sp.	Spezies
stabk. neutro. Gr.	stabkernige neutrophile Granulozyten
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
V.	<i>Vena</i>
WBC	white blood cell count
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

I. EINLEITUNG

Im Jahr 1923 stellten LEVADITI und Mitarbeiter erstmals eine Protozoeninfektion als Ursache einer motorischen Paralyse und zentralnervöser Symptome beim Kaninchen fest und gaben ihr den Namen Enzephalitozoonose. Hatte die Enzephalitozoonose zunächst nur wissenschaftliche Bedeutung, so wurde bald klar, dass die Krankheit (OSTLER, 1961; PATTISON, 1971; NORDSTOGA et al., 1974) zu erheblichen Verlusten in Kaninchenbeständen führen können. Untersuchungen zeigen eine *Enzephalitozoon(E.)-cuniculi*-Antikörperprävalenz in Kaninchenbeständen von 25 bis 95 % (GANNON, 1980). Die immer größere Verbreitung des Kaninchens als Heimtier führte zu Änderungen der diagnostischen und therapeutischen Anforderungen. Besitzer scheuen oft keine Kosten und Mühen, um für ihr Tier eine Heilung oder zumindest eine Lebensverlängerung bei möglichst erhaltener Lebensqualität zu erreichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Daten von Kaninchen mit Enzephalitozoonose retrospektiv auszuwerten. Es sollte evaluiert werden, ob es Abweichungen in Signalement, Symptomen und labordiagnostischen Parametern zwischen Kaninchen mit pathologisch-anatomisch nachgewiesener Enzephalitozoonose und gesunden Kaninchen sowie zwischen Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht gibt und ob diese Abweichungen zur Diagnose der Krankheit herangezogen werden könnten. Zudem sollte die *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenz bei Kaninchen in Bayern ermittelt und die Sensitivität der *E.-cuniculi*-Antikörperbestimmung geprüft werden.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Pathogenese der Enzephalitozoonose

E. cuniculi wurde das erste Mal 1922 von WRIGHT & CRAIGHEAD bei Laborkaninchen mit Paralyse beschrieben. Es folgten in späteren Jahren zahlreiche Publikationen über den Erreger, seine Epidemiologie und Pathogenese, aber auch über die Diagnose der Krankheit.

1.1. Taxonomie und Entwicklung

1922 führten WRIGHT und CRAIGHEAD ein Infektionsexperiment an Kaninchen durch, um die Übertragbarkeit einer Virusenzephalitis nachzuweisen. Ein Jahr später identifizierten LEVADITI und Mitarbeiter diese Mikroorganismen im Gehirn eines spontan an einer Enzephalitis erkrankten Kaninchens und charakterisierten sie als Protozoen. Sie nannten diese Mikroorganismen nach der Lokalisation der histologisch sichtbaren Veränderungen und der untersuchten Tierart *E. cuniculi* (LEVADITI et al., 1923) und ordneten sie aufgrund der morphologischen Kriterien dem Stamm Mikrosporidien zu. 144 Gattungen mit circa 1300 Arten zählen zu den Mikrosporidien. Sie können Wirbeltiere als auch wirbellose Tiere infizieren (ECKERT et al., 2005). Zu der Gattung *E. cuniculi* gehören zwei weitere Spezies, *E. hellem* und *E. intestinalis* (siehe Tabelle 1), die auch als infektiös für Säugetiere gelten (WASSON & PEPER, 2000; MATHIS et al., 2005). Die Eingruppierung von *E. cuniculi* innerhalb des Reichs der Protozoen änderte sich seit ihrer Entdeckung 1922 mehrfach (LEVADITI et al., 1924; LAINSON et al., 1964; CALI, 1970; BARKER, 1974). Mikrosporidien weisen für Eukaryonten untypische Eigenschaften auf. Es fehlt ihnen das Mitochondrium. Dafür werden Enzyme mit mitochondrialer Funktionen entdeckt (KATINKA et al., 2001). Ihr Golgi-Apparat und die ribosomale Ribonukleinsäure (RNA) (MÉTENIÉR & VIVARÈS, 2001) gleichen eher denen der Protozoen-RNA als der Eukaryonten-RNA (FRANZEN, 1998). Aufgrund biochemischer und molekularer Merkmale, wie der Bildung von Chitin und Trehalose, dem ähnlichen Aufbau von bestimmten Proteinen und Übereinstimmungen in Meiose und Mitose (WASSON & PEPER, 2000; ECKERT et al., 2005), sind sie eher mit den Pilzen als den Protozoen verwandt (MATHIS, 2000; MÉTENIÉR & VIVARÈS, 2001).

Tabelle 1: Heute gültige taxonomische Einordnung von *Encephalitozoon cuniculi* nach BARKER (1974) und WILSON (1979)

Stamm: Microspora
Klasse: Microsporea
Ordnung: Microsporida
Familie: Thelohania
Familie: Nosematidae
Gattung: Nosema
Art: <i>Nosema apis</i>
Art: <i>Nosema bombycis</i>
Art: <i>Nosema connori</i>
Art: <i>Nosema corneum</i>
Familie: Guleidae
Gattung: Encephalitozoon
Art: <i>Encephalitozoon cuniculi</i>
Art: <i>Encephalitozoon intestinalis</i>
Art: <i>Encephalitozoon hellem</i>

Es sind drei *E.-cuniculi*-Stämme bekannt (SHADDUCK et al., 1979; MULLER-DOBLIES et al., 2002). Der Wirt, aus dem die einzelnen Stämme isoliert werden, trägt zur Namensgebung bei. Die Stämme sind unterteilt in Typ 1 Kaninchen (Nachweis bei Kaninchen, Mensch und Maus), Typ 2 Maus (Nachweis bei Maus und Blaufuchs) und Typ 3 (Hund und Mensch). Die intergenetische SPACE-Region unterscheidet sich bei den Stämmen nur in der Anzahl des Genabschnitts 5'-GTT-3'. Bis jetzt wurde bei Kaninchen bei natürlichen Infektionen nur der Typ 1 (Kaninchen) nachgewiesen, es ist aber auch empfänglich für Typ 2 und Typ 3 (MATHIS, 2000; MATHIS et al., 2005). Eine geographisch unterschiedliche Verbreitung der Typen ist bekannt. Typ 1 ist in Amerika, Australien und Europa verbreitet, während Typ 2 nur in Europa vorkommt. Typ 3 wurde in Amerika und Südafrika bei Hunden entdeckt. In Europa sind Menschen mit Typ 1 und 3, und in Amerika mit Typ 3 infiziert (MATHIS et al., 2005).

Alle Mikrosporidien vermehren sich obligat intrazellulär und besitzen als Gemeinsamkeit einen Polarfaden. Dieser ist im Ruhezustand um Kern, Sporoplasma und Polaroblast der Spore gewickelt (BARKER, 1974; WILSON, 1979). *E. cuniculi* formt einzellige Sporen, die als infektiöse Einheiten in der

Umwelt bestehen. Diese Sporen infizieren Zellen mit Hilfe eines einzigartigen Eindringapparates, dem Polarfilament, der das Sporoplasma in die Wirtszelle entlässt (FRANZEN, 2005; XU & WEISS, 2005). Eine Phagozytose der Spore durch die Zelle mit anschließendem Austausch ist ebenfalls möglich (PAKES et al., 1975; WEISS, 2001). Nach asexueller Vermehrung (Merogonie) entwickeln sich die Sporen in der Wirtszelle (Sporogonie) in einer parasitophoren Vakuole, die den Parasiten vom Wirtszellplasma trennt (FRANZEN, 2005; RÖNNEBÄUMER et al., 2008). Wenn die Zelle zerstört wird, werden die Sporen in die Umwelt entlassen. Diese Sporen, die circa 1 – 10 µm (Mikrometer) groß sind, enthalten das Polarfilament, das um das Sporoblast gewunden ist (siehe Abbildung 1). Die Anzahl der Windungen des Polarfilaments ist gattungsspezifisch (ECKERT et al., 2005). Das Sporoblast enthält den Zellkern, die posteriore Vakuole und die Ribosomen. Diese Strukturen sind umgeben von einem Zytoplasma. Die Strukturen sind zum größeren Schutz gegen Umwelteinflüsse von einem Endo- und Exosporium umgeben (FRANZEN, 2005; XU & WEISS, 2005). *E. cuniculi* weist ein extrem kleines Genom auf, das nur 2,9 Megabasenpaare mit 11 Chromosomen enthält (BIDERRE et al., 1995; KATINKA et al., 2001). Eine Verdichtung des Genoms erfolgt durch gekürzte „intergenic spacer“-Regionen und durch geringe Größe der Proteine (MATHIS, 2000; KATINKA et al., 2001).

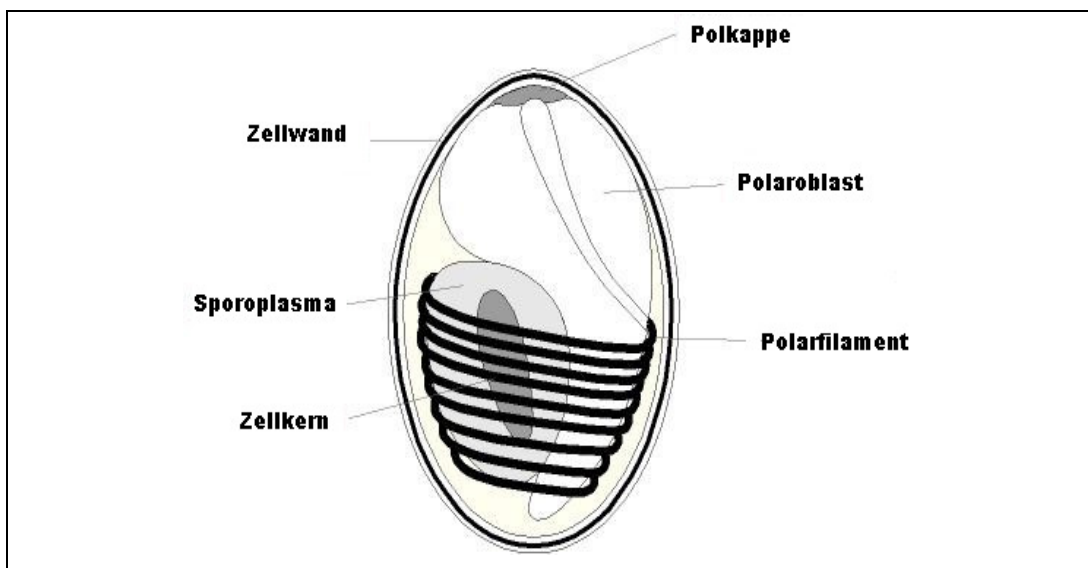


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Mikrosporidien-spore nach BARKER (1974) und WILSON (1979)

Nach Einschleusung des Zytoplasmas in die Wirtszelle durchläuft *E. cuniculi*

mehrere aufeinander folgende Entwicklungsstadien, die sich in ihrer Morphologie mehr oder weniger deutlich voneinander unterscheiden. Beginnend mit der Bildung von Schizonten führt der weitere Zyklus über den Sporonten zum Sporoblasten und schließlich zur reifen Spore (PAKES et al., 1975; WILSON, 1979). Der Entwicklungszyklus von *E. cuniculi* wird folgendermaßen beschrieben: Der gesamte Vermehrungszyklus vom Eintritt in die Wirtszelle bis zur reifen Spore dauert in der Zellkultur je nach verwendeter Zellart zwischen 48 Stunden (PAKES et al., 1975) und fünf Tagen (LAINSON et al., 1964). In Choroid-Plexus-Zellen treten erste proliferative Formen nach drei Stunden *post infectionem* (*p. i.*) auf. Nach 48 Stunden sind die ersten reifen Sporen in der Zellkultur zu finden (PAKES et al., 1975). In der Wirtszelle laufen alle Phasen der Vermehrung parallel ab (PAKES et al., 1975; WILSON, 1979), da nicht alle Schizonten direkt zu Sporen ausreifen, sondern sich weiter in Tochterschizonten teilen (LAINSON et al., 1964; PAKES et al., 1975; WILSON, 1979).

Gelangt *E. cuniculi* als Spore in den Körper, verändert sich die extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration. Dieser Stimulus verursacht innerhalb der Spore einen Osmolaritätsanstieg verbunden mit einem Wassereinstrom. Dieses führt zu einem stark erhöhten intrazellulären Druck und einer Schwellung des Polarblasten. Das Polarfilament wird aus der Spore geschleudert und kann die Zellmembran einer benachbarten Zelle durchdringen. Über das Polarfilament wird das Sporoplasma in die Wirtszelle eingeschleust (PAKES et al., 1975; WILSON, 1979; KEOHANE & WEISS, 1998). Die Penetration in die Zelle durch das Polarfilament scheint seltener als vermutet. In einer experimentellen Studie von FRANZEN (2005) wurde die Phagozytose zehnmal häufiger beobachtet. Das Polarfilament wird dann erst intrazellulär zur Auskeimung ausgestülpt (FRANZEN et al., 2005).

Die erste Phase der intrazellulären Vermehrung ist eine Schizogonie. Zu Beginn wird der Kern geteilt und es entstehen Zwischenstadien, die zwei Kerne besitzen. Durch fortgesetzte Zellteilung der Schizonten entstehen Haufen und Reihen von Tochterschizonten (BARKER, 1974; WILSON, 1979). Der Übergang zum zweiten Teilungszyklus wird durch Größenzunahme der Schizonten und Ausbildung einer exzentrischen Vakuole eingeleitet. Durch Ablösung von der Vakuolenwand und zentripetale Wanderung beginnt die Sporogonie. Die einkernigen Sporonten, die zunächst nur von einer Zellmembran umgeben sind, teilen sich in zwei Tochtorsporonten, die nun als Sporoblasten bezeichnet werden

(PAKES et al., 1975). Diese Sporoblasten bilden im Zuge der Reifung eine lamelläre Zellwand und differenzieren sich im weiteren Verlauf zu Sporen. Während der Sporenbildung kommt es in der befallenen Zelle auch weiterhin zur Teilung von Schizonten und Bildung aller folgenden Entwicklungsstufen. Dieses führt nicht nur zu einer Anhäufung von Sporen sondern auch aller anderen Stadien in der befallenen Zelle (PAKES et al., 1975).

Laut FLATT und JACKSON (1970) liegen die gebildeten Sporen meist in einer Vakuole, die je nach Anzahl der enthaltenen Sporen und vegetativen Formen, die gesamte Wirtszelle ausfüllen können. Eine Ansammlung von *E.-cuniculi*-Sporen und Sporoblasten, die die maximale Dehnungsfähigkeit der Wirtszellmembran überlastet, führt zur Ruptur der Pseudozyste (siehe Abbildung 2). Sporoblasten und Sporen werden frei (FLATT & JACKSON, 1970). Sie können in eine benachbarte Wirtszelle eindringen oder in Abhängigkeit von der Zystenlage beispielsweise in das Lumen von Nierentubuli (LAINSON et al., 1964) oder in das Darmlumen gelangen und somit ausgeschieden werden (COX et al., 1979).

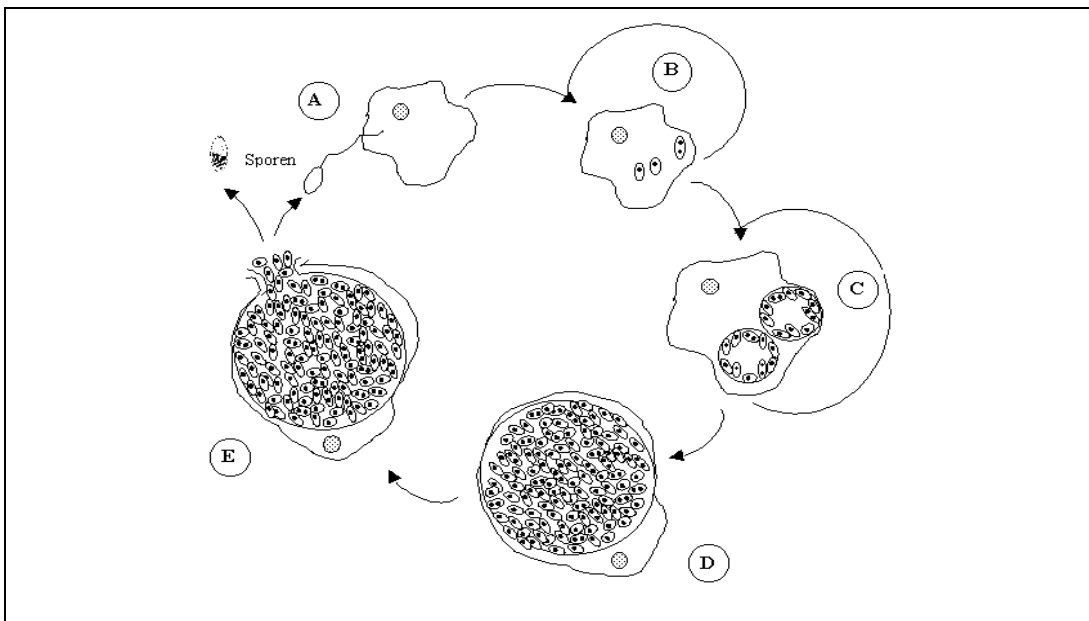


Abbildung 2: Vermehrungszyklus *Encephalitozoon cuniculi* nach (FLATT & JACKSON, 1970; BARKER, 1974; WILSON, 1979) ((a) Einschleusung des Sporoplasmas über das Polarfilament; (b) Schizogoniezyklus; (c) Sporogoniezyklus; (d) Reifung der Sporen; (e) Ruptur der Wirtszellmembran und Freisetzung der Sporen)

Je nach Infektionsroute findet eine Vermehrung in unterschiedlichen Zellen statt. So sind Darmepithelzellen nach oraler Aufnahme (BARKER, 1974), Monozyten und Peritonealzellen nach intraperitonealer Inokulation (LAINSON et al., 1964),

Fibroblasten und Nierenzellen nach intravenöser Inokulation (FLATT & JACKSON, 1970) und Gliazellen nach intrazerebraler Inokulation (LEVADITI et al., 1924; BLAZEK et al., 1972) primäre Vermehrungsorte.

E. cuniculi bevorzugt keine bestimmten Zelltypen und Tierarten (WILSON, 1979). Eine Anzüchtung und Vermehrung gelingt unter anderem in Hühnerembryonen (IINO, 1960), murinen Embryozellen (BISMANIS, 1970; CHUMAKOV et al., 1970), Choroid-Plexus-Zellen von Kaninchen (PAKES et al., 1972; VÁVRÁ et al., 1972; SHADDUCK, 1979), kaninen Embryozellen (COX & PYE, 1975), renalen Tubuluszellen von Kaninchen (HAMILTON & COX, 1981) und humanen Fibroblasten (DESSER et al., 1992; MATHIS et al., 1997).

1.2. Pathologie und Immunreaktion beim Kaninchen

E. cuniculi vermehrt sich intrazellulär und zerstört dadurch die Wirtszellen primär. Je größer die Anzahl der befallenen Zellen ist, desto mehr Veränderungen liegen in den entsprechenden Gewebebezirken vor (LAINSON et al., 1964). Zunächst erfolgt eine Ausbreitung direkt in angrenzende Gewebe und Organe. Eine hämatogene Streuung führt anschließend zu einer Verbreitung im gesamten Wirtsorganismus (KOUDELA et al., 1993). Die hämatogene Verbreitung erfolgt besonders in stark durchblutete Organe, wie Lunge, Leber, Nieren (FLATT & JACKSON, 1970), Gehirn und Nervensystem (COX et al., 1979). Im Frühstadium einer *E.-cuniculi*-Infektion sind laut COX (1979) zunächst Nieren, Lunge und Leber betroffen. Erst neun bis zehn Wochen nach der Infektion kommt es zu einer Beteiligung des ZNS (COX et al., 1979).

In den betroffenen Organen reichen makroskopisch disseminierte, narbige Einziehungen von der Organoberfläche bis in die Tiefe (BOTHÁ et al., 1979). In diesen narbigen Einziehungen, auch Foci genannt, sind meist parasitenhaltige Areale, sogenannte Pseudozysten, zu finden (KUNSTYR et al., 1986). Entzündungsreaktionen in der Umgebung von Pseudozysten fehlen meistens (ERÖKSÜZ et al., 1999). Viele Veränderungen sind im Gefäßendothel oder perivaskulär lokalisiert (WRIGHT & CRAIGHEAD, 1922). Histologisch zeigen sich nichteitrige Entzündungen und multifokale, lymphozytär infiltrierte Granulome (LEVADITI et al., 1924). Die Granulome enthalten Lymphozyten, Plasmazellen und Gliazellen und sind im Zentrum meist nekrotisch (ERÖKSÜZ et

al., 1999). Aneurysmen, fokale Gliosis (BJERKAS, 1987) und Sklerosierung älterer Prozesse können die Folge sein (ARNESEN & NORDSTOGA, 1977; BJERKAS, 1990). Die Veränderungen entsprechen denen einer Polyarteriitis nodosa, ähnlich dem histologischen Bild bei einer felines infektiösen Peritonitis (NORDSTOGA, 1976).

Bei Tieren mit zentralnervösen Symptomen, wie Tortikollis, Opisthotonus und Nystagmus sind mikroskopisch sichtbare Veränderungen in der grauen und weißen Substanz des Rückenmarks und im Gehirn beschrieben (WRIGHT & CRAIGHEAD, 1922; MC CARTNEY, 1923; LEVADITI et al., 1924). Am häufigsten betroffen sind das Cerebrum (Cortex und Medulla), der Gehirnstamm und das Rückenmark. Weniger häufig betroffen ist das Cerebellum (CSOKAI et al., 2009). Die Leptomeningen sind fast immer mit Granulomen durchsetzt (SCHARMANN et al., 1986; CSOKAI et al., 2009). Die Vestibularkerne sind laut CSOKAI (2009) nur in 37 % bei natürlich infizierten Kaninchen betroffen. Gelegentlich wird eine fokale, spinale Radikuloneuritis beobachtet, die zu ungewöhnlichen Symptomen (Kopftremor, Hinterhandschwäche) führen kann (NAST et al., 1996). Diese Läsionen sind frühestens acht Wochen nach Auftreten von Antikörpern im Serum vorhanden (COX & GALLICHIO, 1978). Im Gegensatz zu einem Befall in anderen Organen können im Gehirn bereits bei kleinen zerstörten Gehirnarealen massive klinische Symptome auftreten (BOTHAS et al., 1979).

Die Enzephalitozoonose des Auges zeigt sich als Katarakt (ASHTON & WIRASINHA, 1973; BUYUKMIHCI et al., 1977), Netzhautveränderung (NORDSTOGA, 1976; ARNESEN & NORDSTOGA, 1977; BJERKAS, 1987) oder Uveitis (PINNOLIS et al., 1981; DESSER et al., 1992; WOLFER et al., 1993; WODECKI, 1994). *E. cuniculi* kann in der Gefäßwand der Ciliararterie und ihrer intraokulären Äste, sowie in Linse und Cornea nachgewiesen werden. Infektionen der Cornea (BUYUKMIHCI et al., 1977), der Iris, der Netzhaut und des Nervus opticus (BOTHAS et al., 1979) mit lympho- und plasmazellulären Infiltraten führen zu Blindheit. Eine Sonderform der Augenveränderung stellt die phakoklastische Uveitis dar. Bei der phakoklastischen Uveitis, als Folge einer intrauterinen Infektion, wird pathohistologisch eine Infiltration der Linse mit variationsreichen Entzündungszellen wie Granulozyten, Makrophagen und Riesenzellen nachgewiesen, die zur Ruptur der Linsenkapsel führt (GIORDANO

et al., 2005). Plasmazellen und Lymphozyten sammeln sich in Iris und Ziliarkörper an. Zusätzlich können die Tiere Katarakte, Linsenluxationen oder Synechien zeigen. Der Parasit kann nur in der Linse nachgewiesen werden (GIORDANO et al., 2005).

SMITH und FLORENCE (1925) fanden bei 28 % (46/163) der untersuchten Kaninchen granulomatöse Veränderungen der Nieren mit Einschlüssen von *E. cuniculi*-Sporen. Eine fokale granulomatöse Nephritis, bei der meist mononukleare Zellen nachgewiesen werden, ist der häufigste Befund bei Nierenveränderung im Rahmen einer Enzephalitozoonose (ERÖKSÜZ et al., 1999, CSOKAI et al., 2009). Bei schwerer, chronischer, interstitieller Nephritis werden makroskopische Narben an der Nierenoberfläche sichtbar, die aufgrund der Fibrosierung des Nierengewebes entstehen (ERÖKSÜZ et al., 1999; CSOKAI et al., 2009). Läsionen können sowohl in Rinde als auch im Mark auftreten (ERÖKSÜZ et al., 1999). Ein Sporennachweis im Nierengewebe kann mit Verlauf der chronischen Infektion seltenerer nachgewiesen werden als zu Beginn der Infektion (FLATT & JACKSON, 1970; CSOKAI et al., 2009). Läsionen zeigen sich ungefähr zwei Wochen nach Beginn der Antikörperbildung, wenn *E. cuniculi* erstmals im Nierengewebe nachgewiesen werden kann. Eine interstitielle Nephritis ist nach fünf Wochen histologisch erkennbar (COX & GALLICHIO, 1978). Bei starkem Befall der Niere mit *E. cuniculi* und nachfolgenden hochgradigen Veränderungen des Gewebes, kommt es zu Einschränkungen der Nierenfunktion (FLATT & JACKSON, 1970; STEWART et al., 1988). Geringer Befall der Nieren führt nicht zu einer klinisch manifesten Insuffizienz. FLATT und JACKSON (1970) konnten bei 35 % (35/100) der makroskopisch veränderten Nieren in Granulomen und Narben Erreger nachweisen.

Durch hämatogene Streuung von *E. cuniculi* ist eine Beteiligung der Lunge mit Anzeichen einer interstitiellen Pneumonie möglich (FLATT & JACKSON, 1970; BOTHA et al., 1979). In experimentellen Untersuchungen ist der Erreger ab dem 98. Tag nach Beginn der Infektion in den betroffenen Bezirken nicht mehr nachweisbar. Gewebliche Lungenveränderungen sind nur in 50 % der Fälle vorhanden und nur marginal zu finden (COX et al., 1979). *E. cuniculi* führt in der Leber zur Bildung von periportal granulomatösen Infiltraten (FLATT & JACKSON, 1970) mit Lymphozyten, Monozyten, Plasmazellen und vielkernigen Riesenzellen (BOTHA et al., 1979). Die Gefäßwände der Lebergefäße werden

ebenfalls in diesen Prozess mit einbezogen. Vereinzelt treten auch in Skelett- und Herzmuskulatur Granulome auf (BOTHÁ et al., 1979; COX et al., 1979). Die Veränderungen sind aber im Vergleich zu denen anderer Organe von geringerer Bedeutung, da sie fast nie zu klinischen Veränderungen führen (BOTHÁ et al., 1979; COX et al., 1979). Intrazellulär liegende Sporen verursachen wenige oder gar keine entzündlichen Reaktionen (CUTLIP & BEALL, 1989).

Durch die Freisetzung von Sporen (FEAGA, 1997) und den dadurch bedingten Antigenkontakt kommt es zu einer Reaktion des Immunsystems (ARNESEN & NORDSTOGA, 1977). Diese Reaktion führt zur Bildung spezifischer Antikörper. Die Angaben über den frühesten Zeitpunkt einer Antikörperbildung differieren teilweise stark. Je nach Infektionsweg können bei Kaninchen spezifische *E.-cuniculi*-Antikörper zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Infektion nachgewiesen werden (siehe Tabelle 2). Nach WALLER und Mitarbeiter (1978) treten bei experimenteller intraperitonealer Infektion erstmals nach sieben bis elf Tagen Antikörper auf. Bei einer Infektion *per os* (*p. o.*) sind erst nach etwa 14 bis 21 Tagen messbare Antikörperkonzentrationen im Blut vorhanden (WALLER et al., 1978). In Untersuchungen von KUNSTYR und Mitarbeiter (1986) wurden sechs Kaninchen mit je $1,5 \times 10^7$ Sporen intravenös infiziert. Nach 13 bis 38 Tagen *post infectionem* (*p. i.*) wurden erstmals *E.-cuniculi*-Antikörper nachgewiesen (KUNSTYR et al., 1986). Antikörper können über mehrere Jahre persistieren und unter anderem während der Trächtigkeit wieder deutlich ansteigen (HENRIKSEN, 1986). 95 % der neugeborenen Kaninchen seropositiver Muttertiere besitzen maternale Antikörper (LYNGSET, 1980). Bis zur sechsten bis siebten Lebenswoche sinken die Konzentrationen kontinuierlich ab. Nach der achten Woche sind keine Antikörper mehr nachweisbar (SCHARMANN et al., 1986).

Tabelle 2: Infektionsrouten mit *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörpernachweis (frühester und spätester Nachweistermin) (*i. z.* = intrazerebral; *i. p.* = intraperitoneal; *p. o.* = per os; *i. t.* = intratracheal; *i. v.* = intravenös; *p. i.* = post infectionem; * = letzte Untersuchung; Ø = keine Angaben)

Infektionsroute	Antikörpernachweis		bis Tag p. i.	Autor
	ab Tag p. i.			
	IgM	IgG		
<i>i. z.</i>	Ø	15	Ø	WOSU et al., 1977
<i>i. p.</i>	Ø	7 – 11	80*	WALLER et al., 1978
<i>p. o.</i>	Ø	14 – 21	80*	WALLER et al., 1978
<i>p. o.</i>	Ø	17 – 31	98*	COX et al., 1979
<i>i. t.</i>	Ø	17 – 31	98*	COX et al., 1979
<i>i. v.</i>	Ø	10 – 14	98*	COX et al., 1979
<i>i. v.</i>	Ø	13 – 38	bis 68	KUNSTYR et al., 1986
<i>i. v.</i>	11 – 28	Ø	bis 40	KUNSTYR et al., 1986

Die humorale Immunabwehr auf die *E.-cuniculi*-Infektion kann eine krankheitseinschränkende Funktion haben, aber die Antikörper schützen nicht vor einer Infektion. Die zelluläre Immunantwort ist dagegen wichtig für das Überleben des Wirtes bei einer Infektion (KHAN et al., 1999; MORETTO et al., 2000). Immunsupprimierte Mäuse verenden an *E.-cuniculi*-Infektion (SCHMID & SHADDUCK, 1983; KOUDELA et al., 1993). Besonders CD8+ Lymphozyten sind von Bedeutung für das Überleben des Wirtes, CD4+-Lymphozyten haben keinen Einfluss auf die Überlebensrate (KHAN et al., 1999). Ein Mangel an Interferon- γ oder Interleukin-12 ist mit einer erhöhten Todesrate verbunden (KHAN et al., 2001). Immunsuppressive Co-Infektionen mit bovinen Leukämievirus (LEVKUT et al., 1997, EL NAAS et al., 1999) oder Zytostatikum (HORVATH et al., 1999) kann die klinische Ausprägung der Enzephalitozoonose in Kaninchen verstärken.

1.3. Übertragung und Verbreitung

Das infektiöse Stadium, die *E.-cuniculi*-Spore, kann außerhalb des Wirtes in Abhängigkeit der Umweltbedingungen bis zu zwei Jahre persistieren (WALLER,

1979; KOUDELA & KUCEROVA et al., 1999). WRIGHT und CRAIGHEAD beschrieben bereits 1922 die hauptsächliche Ausscheidung von *E. cuniculi* über den Harn. Nach künstlicher parenteraler Infektion treten erstmals am 31. Tag *p. i.* Sporen im Harn auf. Die maximale Ausscheidung erfolgt mit 10^7 Sporen/ml zwischen dem 31. und 38. Tag. Bis zum 63. Tag ist noch eine kontinuierliche Sporenausscheidung mit dem Harn zu beobachten. Anschließend tritt nur noch eine sporadische Ausscheidung auf. Die Sporenkonzentration im Harn erreicht in der neunten Woche *p. i.* mit 10^6 Sporen/ml ihr Maximum (HAMILTON & COX, 1981).

Da sich *E. cuniculi* auch im Darmepithel vermehrt, gehen COX und Mitarbeiter (1979) davon aus, dass Sporen auch über den Verdauungstrakt in die Umwelt gelangen. Für andere Mikrosporidienarten beim Menschen, wie *Enterocytozoon bieneusi* oder *E. intestinalis*, wird die Hauptausscheidung mit den Faeces beschrieben (SOBOTKA et al., 1995). FUENTEALBA und Mitarbeiter (1992) und HORVATH und Mitarbeiter (1996) wiesen nach, dass rektal applizierte Sporen bei Kaninchen eine systemische Erkrankung verursachen.

Zur vertikalen, diaplazentaren Übertragung gibt es in der Literatur differierende Angaben. HUNT und Mitarbeiter (1972) und BOOT und Mitarbeiter (1988) beschreiben die Möglichkeit der diaplazentaren Übertragung bei durch Kaiserschnitt entwickelten Kaninchen und Meerschweinchen. Die gnobiotischen Meerschweinchen besitzen Antikörper gegen *E. cuniculi*, die auch acht Wochen *post partum (p. p.)* noch nachweisbar sind. Andere Autoren gehen davon aus, dass eine Infektion nicht *in utero (i. u.)*, sondern erst *p. p.* erfolgt, da Jungtiere infizierter Häsinnen nach Abbau der maternalen Antikörper erneut einen positiven Antikörpernachweis zeigen können (BYWATER & KELLETT, 1979; LYNGSET, 1980; OWEN & GANNON, 1980). Welpen, die unmittelbar nach der Geburt von ihren infizierten Muttertieren entfernt und durch antikörpernegative Häsinnen aufgezogen werden, bauen die maternalen Antikörper ab und bleiben danach negativ (SCHARMANN et al., 1986). Während der intrauterinen Infektion können die Sporen in der vorderen Linsenkapsel eingelagert werden und dann zur phakoklastischen Uveitis bei Jungtieren führen (SCHARMANN et al., 1986; WOLFER et al., 1993).

Die Sporen *E. cuniculi* können mit dem Futter, das direkt mit Harn (JUNGHEER,

1955; SOLLI et al., 1994) oder indirekt durch Insekten (LAINSON et al., 1964) kontaminiert wurde, aufgenommen werden. 1923 zeigten LEVADITI und Mitarbeiter, dass die orale Aufnahme von Sporen zu einer Infektion führen kann. Sie verabreichten gesunden Kaninchen über eine Magensonde Harn infizierter Kaninchen (LEVADITI et al., 1923).

Zur künstlichen Infektion von Kaninchen mit *E. cuniculi* wird der orale Weg nur selten gewählt, da zum Angehen einer Infektion hohe Erregerdosen von mindestens 10^7 Sporen notwendig sind (WALLER, 1979; HAMILTON & COX, 1981). Parenterale Applikationsarten, wie intrazerebrale (LEVADITI et al., 1924), intravenöse (KUNSTYR et al., 1986) und intraperitoneale (NELSON, 1967; MEISER et al., 1971; WILSON, 1979; DIDIER et al., 1994), führen auch mit geringeren Erregermengen von 10^3 - 10^5 Sporen zu einer sicheren Infektion der Tiere.

Bei Hunden (STEWART et al., 1979; BOTHA et al., 1986), Katzen (VAN RENSBURG et al., 1981; BUYUKMIHCI et al., 1977) und Füchsen (WILSON, 1979; HERSTEINSSON et al., 1993) stellt die Aufnahme von infizierten Beutetieren die Hauptinfektionsquelle dar.

Nach REETZ (1993) beherbergen infizierte Tiere *E. cuniculi* nicht nur in den Organen, die Sporen gelangten auch in tierische Produkte, wie z. B. in Hühnereier. Alle von REETZ (1994) untersuchten unselektiv ausgesuchten Eier enthielten in 40 % der Fälle (40/100) *E. cuniculi*. Der Nachweis von Rinderblutproben mit Antikörpern gegen *E. cuniculi* (COX & PYE, 1975) und der mikroskopische Sporennachweis im Sperma eines Besamungsbullen (KUCKEN et al., 1990) machen ein Vorkommen in weiteren tierischen Produkten deutlich (COX & PYE, 1975; KUCKEN et al., 1990).

Die Enzephalitozoonose beim Kaninchen ist weltweit verbreitet (siehe Tabelle 3) (GANNON, 1980; GREENSTEIN et al., 1991; THOMAS et al., 1997). Verbreitung und Durchseuchung der Kaninchenbestände sind jedoch regional sehr verschieden. *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenzen variieren in der Literatur entsprechend der untersuchten Population. Kaninchen in Bayern wiesen laut der Studie von NEUWIRTH von 1988 eine Antikörperprävalenz von 41 % auf. In Nord-Deutschland wurde bei 42 % bis 48 % der getesteten Kaninchen ein *E.-*

cuniculi-Antikörper-Titer nachgewiesen (MEYER-BRECKWOLDT, 1996; EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). Bei gesunden Kaninchen in Deutschland fluktuiert die Antikörperprävalenz von 35 % (KÜNZEL et al., 2009), über 37 % (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999) bis zu 40 % (MEYER-BRECKWOLDT, 1996). Bei kranken Kaninchen wurde eine *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenz von 56 % festgestellt (CSOKAI et al., 2009). Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen aus den Problemkomplexen ZNS, Niere und Auge wiesen laut Studien von KÜNZEL und Mitarbeiter (2008) sowie EWRINGMANN und GÖBEL (1999) in 78 % und 88 % der Fälle einen positiven *E.-cuniculi*-Antikörpertiter auf. Kranke Kaninchen mit *E.-cuniculi*-unspezifischer Symptomatik waren in 50 % der Fälle *E.-cuniculi*-Antikörper positiv (CSOKAI et al., 2009). Kaninchen aus Zuchtbeständen sind laut THOMAS und Mitarbeiter (1997) in Deutschland mit 6 % infiziert. Da die Infektionsgefahr aufgrund des engeren Zusammenlebens höher ist, war der Erreger früher auch häufiger in Laborbeständen verbreitet (THOMAS et al., 1997). Durch verbesserte Hygienemaßnahmen und serologische Kontrollen konnte die Infektionsrate aber deutlich gesenkt werden (MATHIS et al., 2005; KÜNZEL et al., 2008). Bei Versuchstieren zeigen mittlerweile nur noch 5 % - 10 % der Kaninchen einen positiven *E.-cuniculi*-Antikörpertiter (LEV, 1982).

In einigen Nachbarländern Deutschlands wie Tschechien, Schweden und Norwegen werden höhere Antikörperprävalenzen je nach Kaninchenbeständen von 20 % bis zu 100 % angegeben (WALLER, 1977; CHALUPSKY et al., 1979; LYGSET, 1980). Auch die Kaninchenbestände in der Türkei sind laut einer aktuellen Studie von ERÖKSUZ und Mitarbeiter (1999) mit 65 % seropositiven Tieren stark betroffen. Für England und Schottland werden dagegen deutlich niedrigere Werte angegeben (COX & ROSS, 1980).

Wildkaninchen dagegen sind laut MEYER-BRECKWOLDT (1996) deutschlandweit nicht mehr als Erregerreservoir anzusehen und auch in der Schweiz, England oder Schottland können bei Wildkaninchen keine positiven Antikörpertiter gegen *E. cuniculi* nachgewiesen werden (COX & ROSS, 1980; MÜLLER, 1998). In Australien jedoch ist die Wildkaninchenpopulation zu 25 % infiziert und auch verschiedene Zuchtbestände weisen in diesem Land eine Infektionsrate von 25 bis 75 % auf (COX & PYE, 1975; THOMAS et al., 1997).

Tabelle 3: *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörperprävalenz bei Kaninchen weltweit

Kontinent	Land	Literaturquelle	Patientengut
Europa	Deutschland	KUNSTYR et al, 1983 NEUWIRTH, 1988 MEYER- BRECKWOLDT, 1996 EWRINGMANN & GÖBEL, 1999	Kranke Kaninchen Heimtierpatienten Heimtierpatienten, Wildkaninchen Heimtierpatienten
	Österreich	KÜNZEL et al. , 2009	verdächtige/gesunde Kaninchen
	Frankreich	CHALUPSKY et al., 1990	Wildkaninchen
	Schweiz	CHALUPSKY et al., 1990	Wildkaninchen
	Großbritannien	GANNON, 1980 KEEBLE & SHAW, 2006	Laborkaninchen Asymptomatische Kaninchen
	Tschechien	CHALUPSKY et al., 1979	Laborkaninchen, Zuchtkaninchen
	Norwegen	LYNGSET, 1980	Zuchtkaninchen
	Island	HERSTEINSSON et al., 1993	Wildkaninchen
	Italien	DIPINETO et al., 2007 SANTANIELLO et al., 2009	neurologische/gesunde Kaninchen Farmkaninchen
Asien	Japan	IGASGAHRI et al., 2008	neurologische/gesunde Kaninchen
Afrika	Kenia	OKEWOLE, 2008	gesunde Kaninchen
Amerika	USA	FLATT & JACKSON, 1970	Schlachtkaninchen
	Mexiko	MATHIS et al., 1997	Heimtierkaninchen
Australien		THOMAS et al., 1997	Wildkaninchen

1.4.1. Vorkommen bei anderen Tierarten

Das Wirtsspektrum von *E. cuniculi* umfasst nicht nur Kaninchen und Nagetiere, sondern fast alle Säugetiere und auch den Menschen. Eine natürliche Infektion mit *E. cuniculi* ist bei einer großen Anzahl von Labortieren und auch wildlebenden Tierarten beschrieben (siehe Tabelle 4). Bei experimenteller Infektion sind Labortiere (CHALUPSKY et al., 1979; PANG & SHADDUCK, 1985), Haus- und Wildkaninchen (COX et al., 1986), Mäuse, Ratten und Rhesusaffen (SHADDUCK et al., 1979) ähnlich empfänglich. Bestehende Retrovirusinfektionen mit dem bovinen Leukosevirus (BLV) (LEVKUT et al., 1997), dem Immunschwächevirus der Affen (SIV) (DIDIER et al., 1994) und dem humanen Immunschwächevirus (HIV) (HOLLISTER et al., 1991) begünstigen die Entstehung der Krankheit.

Tabelle 4: *Encephalitozoon-cuniculi*-Verbreitung in Organen bei verschiedenen Tierarten

Tierart	Betroffene Organe	Literaturquelle
Kaninchen	ZNS, Niere, Auge	MUNDA, 1992; EL-RAZEK, 1993; KÖTSCHKE & GOTTSCHALK, 1990; WOLFER et al., 1993; DEEB & CARPENTER, 1997; LEVKUT et al., 1997; WAGNER, 2000
Wildkaninchen	ZNS	JUNGHERR, 1955; WILSON, 1979; CHALUPSKY et al., 1990; THOMAS et al., 1997
Meerschweinchen	Niere	CHALUPSKY et al., 1973; BOOT et al., 1988; ILLANES et al., 1993; WAN et al., 1996; WASSON & PEPER, 2000
Ziege	ZNS	KHANNA, 1971
Pferde	Lunge, Niere	VAN RENSBURG, 1991
Schaf	Niere	PANG & SHADDUCK, 1985

Forsetzung Tabelle 4: *Encephalitozoon-cuniculi*-Verbreitung in Organen bei verschiedenen Tierarten

Tierart	Betroffene Organe	Literaturquelle
Ratte	ZNS	LAINSON et al., 1964; HULDT & WALLER, 1974
Maus	alle Organe	KOUDELA et al., 1993
Hamster	granulomatöse Peritonitis	LAINSON et al., 1964; HULDT & WALLER, 1974
Lemminge	ZNS	CUTLIP & BEALL, 1989
Katze	ZNS, Auge	BUYUKMIHCI et al., 1977; PANG & SHADDUCK, 1985; GEVREY, 1993
Hund	Niere, Gehirn, staupeähnliche Symptome	SHADDUCK et al., 1978; COLE et al., 1982; HOLLISTER et al., 1989; BOTHA et al., 1979; STEWART et al., 1979; VAN HEERDEN et al., 1989
Präriehunde und Nebelpanther	ZNS	VAVRA et al., 1971
Afrikanische Wildhunde	ZNS, staupeähnliche Symptome	VAN HEERDEN et al., 1989
Blaustirnamazone	Niere, Leber, Gallengänge, Darm	KEMP & KLUGE, 1975
Hühner	Gastrointestinaltrakt, Skelettmuskulatur	REETZ, 1993
Nymphensittich	Exitus letalis	KASICKOVA et al., 2007
Totenkopffaffe	ZNS, Exitus letalis	BROWN et al., 1973; VAN DELLEN et al., 1989; ASAKURA et al, 2006

1.4.2. Vorkommen beim Menschen

Die Enzephalitozoonose ist eine Zoonose. *E.-cuniculi*-ähnliche Sporen wurden in Zerebrospinalflüssigkeit und Urin eines japanischen Jungen mit Fieber und zentralnervösen Störungen nachgewiesen (MATSUBAYSHI et al., 1959). Bei einem Patienten in Schweden wurden sowohl *E.-cuniculi*-Antikörper im Serum, als auch *E.-cuniculi*-Sporen im Harn festgestellt (BERGQUIST et al., 1984). Bei

einer 26-jährigen Frau wurde ein Auge mit einem perforierenden Cornealculus enukleiert. Die elektronenoptische Untersuchung ergab eine Infektion mit *E. cuniculi* (DESSER, 1992). Molekularbiologische Beweise dafür, dass es sich bei *E. cuniculi* um einen Zoonoseerreger handelt, liefern DEPLAZES und Mitarbeiter (1996) und MATHIS und Mitarbeiter (1996). Sie verglichen *E.-cuniculi*-Isolate von Menschen, Kaninchen, Hunden und Füchsen miteinander und fanden bei allen Isolaten identische Muster in der Restriktionsenzymanalyse (DEPLAZES et al., 1996; MATHIS et al., 1996).

Eine vorliegende Immunschwäche, beispielsweise als Folge einer HIV-Infektion, führt zu einer erhöhten Anfälligkeit für opportunistische Protozoeninfektionen (HOLLISTER et al., 1991). Die Reaktivierung einer bereits latent bestehenden *E.-cuniculi*-Infektion kann durch eine HIV-Infektion ausgelöst werden (FRANZEN et al., 1995). Bei HIV-positiven Personen werden akute Peritonitiden (ZENDER et al., 1989), Infektionen von Gehirn, Herz, Nieren, Trachea, Harnblase (MERTENS et al., 1997) und Leber (DE GROOTE et al., 1995) als Folge einer *E.-cuniculi*-Infektion beschrieben. Der Erreger wurde in allen Fällen auch als *E. cuniculi* elektronenmikroskopisch identifiziert (ZENDER et al., 1989; DEGROOTE et al., 1995; MERTENS et al., 1997).

2. Klinik der Enzephalitozoonose

Je nach Ausprägung der Infektion, in Abhängigkeit von Wechselwirkung zwischen Wirt, Immunsystem und Krankheitserreger, zeigen Kaninchen eine klinisch unauffällige Form, in deren Verlauf zwar Antikörper gebildet werden, die aber ohne klinische Symptome einhergehen oder sie zeigen auffällige Symptome bis hin zum Exitus letalis (NORDSTOGA et al., 1976; ARNESEN & NORDSTOGA, 1977; BJERKAS, 1987). Der überwiegende Teil der serologisch positiven Kaninchen zeigt keine klinischen Symptome oder die Enzephalitozoonose verläuft chronisch mit so mildem Verlauf, dass sie klinisch nicht in Erscheinung tritt (FLATT & JACKSON, 1970; KUNSTYR et al., 1985). Warum und wann eine Infektion in klinisch unauffälliger oder klinisch manifester Form verläuft, ist nicht geklärt. KUNSTYR und Mitarbeiter (1985) favorisierten eine unterschiedliche Pathogenität des Erregers. WILSON (1979) vermutete, dass erst eine Immunsuppression durch Stress zur Ausbildung einer klinisch manifesten Infektion führt. MEYER-BRECKWOLDT (1996) wies bei 61 % der

Tiere mit Kopfschiefhaltung eine Änderung der Haltungsbedingungen (besonders Ortswechsel) vor dem Auftreten der Symptome nach. Darüber hinaus sind *E.-cuniculi*-positive Tiere mit Kontakt zu anderen Kaninchen häufiger an Enzephalitozoonose erkrankt (MEYER-BRECKWOLDT, 1996). Kaninchen sind häufiger *E.-cuniculi*-Antikörper positiv, wenn sie draußen gehalten werden und/oder mehrere Haustiere (z. B. Hund, Katze, Meerschweinchen, Hamster) gemeinsam gehalten werden. Laut einer neueren, englischen Studie von KEEBLE und SHAW (2006) besteht kein Zusammenhang zwischen positivem Antikörpertiter und Haltung, Zugang zu Gras und Kontakt mit Wildtieren oder mit anderen Tieren (Hund, Katze, Meerschweinchen). Auch hat der Kontakt mit einem *E.-cuniculi*-positiven Kaninchen keine Auswirkungen auf das Auftreten eines Antikörpers beim Partnertier. Das Vorhandensein von *E.-cuniculi*-Antikörpern bei Kaninchen ist laut KEEBLE und SHAW (2006) und MEYER-BRECKWOLDT (1996) alters- und geschlechtsunabhängig.

E. cuniculi verursacht eine Dämpfung der humoralen Abwehr (COX, 1977). NORDSTOGA und Mitarbeiter (1974), ARNESEN und NORDSTOGA (1977) und BJERKAS (1987) führten die meisten Veränderungen nicht primär auf *E. cuniculi*, sondern auf Zerstörungen zurück, die durch das eigene Immunsystem verursacht werden. Die Ursache hierfür scheinen überschießende, zelluläre Immunreaktionen zu sein, die durch ständigen Antigenkontakt ausgelöst werden (NORDSTOGA et al., 1974; ARNESEN & NORDSTOGA, 1977; BJERKAS, 1987).

Auftretende klinische Symptome sind von den betroffenen Organen, der Lokalisation und Menge an Pseudozysten und Granulomen und von der Ausprägung entstehender Polyarteriitiden abhängig (COX et al., 1979). Prädilektionsstellen der Enzephalitozoonose sind das ZNS, die Nieren und Augen (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999).

2.1. Problemkomplex ZNS

Neurologische Ausfallerscheinungen im Bereich des ZNS äußern sich bei der Enzephalitozoonose in Form von Vestibularsyndrom und Paresen (JASS et al., 2008; KÜNZEL & GRUBER, 2008). Als häufigstes Symptom des Vestibularsyndroms wird die Kopfschiefhaltung bei 91 % der seropositiven Tiere von HARCOURT-BROWN und HOLLOWAY 2003 angegeben. Mittels eines

klinisch-neurologischen Untersuchungsganges kann das Vestibularsyndrom in eine zentrale oder periphere Lokalisation eingeteilt werden. Ein Hinweis auf ein zentrales Vestibularsyndrom sind vertikaler oder positioneller Nystagmus, kraniale Nervendefizite, Bewusstseinsstörungen und Defizite in Haltungs- und Stellreaktionen. JASS und Mitarbeiter (2006) beschreiben bei 55 % (22/40) der Kaninchen mit Vestibularsyndrom aufgrund einer Enzephalitozoonose eine zentrale Lokalisation. Als weitere Symptome einer Enzephalitozoonose mit ZNS-Manifestation werden Tortikollis, Opisthotonus und Nystagmus genannt (WRIGHT & CRAIGHEAD, 1922; LEVADITI et al., 1923; COX et al., 1972). Veränderungen im Bereich des Rückenmarks führen zu Paresen und Paraplegien (SOMVANSI et al., 1994). Nach EWRINGMANN (1998) haben 18 % (23/125) aller seropositiven Kaninchen ZNS-Symptome. Betroffene Tiere zeigen Ataxien und Rotationen um die Körperlängsachse. Rotationen können teilweise schon durch leichte Berührung ausgelöst werden (KUNSTYR et al., 1986). Kopfschiefhaltung und Opisthotonus können von geringgradiger Ausprägung bis zu Verdrehungen der Halswirbelsäule um mehr als 90 ° beobachtet werden. Tonisch-klonische Krämpfe mit Opisthotonus, Automutilation oder Absenzen werden auch nachgewiesen (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999; HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). In einzelnen Fällen sind Nicken und Schwanken des Körpers sowie Taubheit feststellbar (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Vereinzelt zeigen Kaninchen ein abnormes Verhalten (Aggression oder Somnolenz) (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999).

2.2. Problemkomplex Niere

Als typische renale Symptome im Rahmen einer Enzephalitozoonose sind Polyurie und Polydipsie, Irritation der Haut durch vermehrten Urinabsatz und Entkalkung der Knochen beschrieben (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). Zu den renalen Symptomen werden auch die unspezifischen Symptome wie Anorexie und Gewichtsverlust gezählt (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999; HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Generalisierte Osteosklerose, vergrößerte Nieren, Nieren- und Harnsteine sowie Weichteilmineralisierung sind ebenfalls nachgewiesen (HARCOURT-BROWN; 2007). In der Studie von EWRINGMANN und GÖBEL (2003) verstarben alle Tiere mit Niereninsuffizienz.

Eine Nierenbeteiligung ist regelmäßig mikroskopisch zu finden, sie manifestiert sich aber nur selten als Niereninsuffizienz und Azotämie. So waren in früheren Studien bei Kaninchen, die eine mikroskopisch nachweisbare interstitielle Nephritis hatten, keine klinischen Symptome zu beobachten (ROBINSON, 1954; FLATT & JACKSON, 1970). Im Gegensatz dazu, manifestierte sich eine Niereninsuffizienz klinisch bei drei von sechs Hunden mit einer Enzephalitozoonose (STEWART et al., 1988). In Untersuchungen von BOTHA und Mitarbeiter (1986) bei Hunden verliefen zwei von drei Infektionen mit *E. cuniculi* und nachfolgender Azotämie tödlich.

2.3. Problemkomplex Auge

Die Augenveränderungen zeigen sich als Uveitis, Katarakt und Hypopyon. In der Studie von HARCOURT-BROWN und HOLLOWAY (2003) überlebten alle Kaninchen mit Augensymptomen. Weißliche Infiltrate werden in der hinteren und vorderen Augenkammer mit Linseneinbruch festgestellt (GIORDANO et al., 2006). Besitzer bemerken bei ihren Haustieren diese weißlichen Infiltrate als „weiße Masse“ im Auge. Die „weiße Masse“ entsteht durch Ruptur der Linsenkapsel. Eine Iritis mit starker Gefäßinjektion wird bei der ophthalmologischen Untersuchung festgestellt (GIORDANO et al., 2006). Sekundärsymptome sind hintere Synechien, Konjunktivitis oder Keratokonjunktivitis mit Korneaödem (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). In einigen Fällen kann auch ein Katarakt entstehen (ASHTON et al. 1976; HARGOURT-BROWN, 2004).

2.4. Andere Organveränderungen

Nach akuten Infektionen werden Haut- und Haarkleidveränderungen und teilweise auch eitrig Parametritiden beobachtet (YOST, 1958). Serositiden mit Aszitesbildung werden ebenfalls als akute Folge einer künstlichen peritonealen *E.-cuniculi*-Infektion genannt (MEISER et al., 1971; WILSON, 1979; DIDIER et al., 1994).

2.5. Labordiagnostische Veränderungen

Labordiagnostische Veränderungen bei Kaninchen mit Enzephalitozoonose wurden bis vor kurzem kaum untersucht und waren bisher nur in wenigen Studien beschrieben (EWRINGMANN & GÖBEL, 1998; KÖTSCHKE & GOTTSCHALK, 1983). Hinzu kommt, dass nur wenige fundierte Studien über Referenzbereiche

verschiedener Blutparameter beim Heimtierkaninchen existieren (VON MÜLLER, 1990; EWRINGMANN & GÖBEL, 1998; HEIN & HARTMANN, 2001). KÖTSCHE und GOTTSCHALK (1983) beschrieben bei Kaninchen mit Tortikollis Veränderungen im Elektrolythaushalt in Form eines gestörten Natrium-Kalium-Verhältnisses. Als Ursache vermuteten die Autoren eine Natrium-Unterversorgung. In einer anderen Studie von VON MÜLLER und Mitarbeiter (1990) wurde eine deutliche Neutrophilie bei Schlachtkaninchen festgestellt. Die erhöhte Anzahl der neutrophilen Granulozyten wurde hier auf die Enzephalitozoonose zurückgeführt, da früher die Annahme bestand, dass diese Zellen eine große Rolle in der Abwehr des Parasiten spielen (VON MÜLLER et al., 1990). Klinisch gesunde Tiere zeigen laut der Studie VON MÜLLER (1998) zumindest bis Tag 161 *p. i.* bei verschiedenen Blutparametern keine signifikanten Unterschiede. Auch bei Kaninchen mit reinen ZNS-Symptomen oder phakoklastischer Uveitis konnte in einer Studie von EWRINGMANN und GÖBEL (1999) keine Abweichungen der Laborwerte von denen gesunder Tiere festgestellt werden. Kaninchen mit Niereninsuffizienz wiesen dagegen signifikant höhere Werte für Harnstoff, Kreatinin, Kalium, GOT, GLDH und Leukozyten und signifikant niedrigere Werte für Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten und Natrium auf (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). Laut einer früheren Studie der Autoren von 1998 und den Untersuchungen von MEYER-BRECKWOLDT (1996) sind in einigen Fällen signifikant höhere Werte für Harnstoff und Kreatinin im Serum bereits bei seropositiven Tieren ohne klinische Symptomatik feststellbar.

3. Diagnostik der Enzephalitozoonose

Für die Diagnose einer Infektion mit *E. cuniculi* reicht das klinische Bild allein nicht aus, da die Symptome nicht pathognomonisch sind, und etwa 60 % aller infizierten Kaninchen eine klinisch unauffällige Form durchlaufen (EWRINGMANN, 1998). Für die Sicherung der Verdachtsdiagnose gibt es verschiedene Nachweisverfahren (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Nachweisverfahren zur Diagnose der Enzephalitozoonose

<p>Nachweis typischer histologischer Veränderungen</p> <p>Direkter Erregernachweis</p> <ul style="list-style-type: none">• Mikroskopischer Nachweis• Lichtmikroskopischer Nachweis• Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis• Elektronenmikroskopischer Nachweis• Polymerasekettenreaktion (PCR)• Anzüchtung in der Zellkultur <p>Indirekter Nachweis</p> <ul style="list-style-type: none">• Nachweis der zellulären Immunität• Intrakutantest• Nachweis von Antikörpern• Immunfluoreszenztest (IFAT)• Immunoperoxidasetest (IP)• Komplementbindungstest (KBR)• Enzyme-Linked Immunosorbant Assay (ELISA)• Tusche-Immunreaktion

3.1. Erregernachweis

Der Erregernachweis kann direkt oder indirekt erfolgen.

3.1.1. Nachweis typischer histologischer Veränderungen

Die Enzephalitozoonose kann in den betroffenen Organen aufgrund der typischen granulomatösen Entzündung und den Pseudozysten in den Gewebeschnitten nachgewiesen werden (COX & GALLICHIO, 1978). Nur sehr erfahrene Untersucher können mit der Hämatoxylin- und Eosinfärbung Mikrosporidien identifizieren (WEBER et al., 1999).

3.1.2. Direkter Erregernachweis

Ein direkter Erregernachweis kann durch unterschiedliche Verfahren im Probenmaterial direkt oder nach Anzüchtung in der Zellkultur erfolgen.

3.1.2.1. Mikroskopischer Nachweis

Der mikroskopische Erregernachweis beruht auf der Identifikation von Sporen, Sporoblasten oder Pseudozysten in Geweben (WILSON, 1979), Abstrichen (ASHTON & WIRASINHA, 1973), Punktaten (MEISER et al., 1971) und/oder Harn (PYE & COX, 1977).

3.1.2.1.1. Lichtmikroskopischer Nachweis

Postmortal können Sporen, Pseudozysten und Gewebeveränderungen in Gewebeschnitten befallener Organe histologisch unter Verwendung verschiedener Färbungen nachgewiesen werden (WILSON, 1979). Da Sporen mit dem Harn ausgeschieden werden (WRIGHT & CRAIGHEAD, 1922; FLATT & JACKSON, 1970; PYE & COX, 1977) ist ein Nachweis von *E. cuniculi* zwischen dem 33. und 98. Tag *p. i.* im Urin möglich (COX et al., 1979).

Eine Modifikation der Tusche-Immunreaktion (Carbon-Immuno-Assay, CIA) (WALLER, 1977) durch GOODMAN und GARNER (1972) vereinfacht den lichtmikroskopischen Nachweis von *E. cuniculi* im Harn. Eine Harnprobe wird mit *E.-cuniculi*-Antikörpern inkubiert und Tuschepartikel werden zugesetzt. Durch Anlagerung der Tuschepartikel an die mit Antikörpern besetzte Sporenwand werden enthaltene *E.-cuniculi*-Sporen für die mikroskopische Auswertung sichtbar gemacht (GOODMAN & GARNER, 1972).

3.1.2.1.2. Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis

Für den direkten Immunfluoreszenznachweis wird, nach Absorption zugesetzter *E.-cuniculi*-Antikörper an die Sporenwand, Fluoreszeinisothiozyanat-markiertes Anti-*E.-cuniculi*-IgG zur Markierung der absorbierten Antikörper verwendet. Unter dem Fluoreszenzmikroskop leuchten vorhandene Sporen gelbgrün auf (COX & PYE, 1975).

3.1.2.1.3. Elektronenmikroskopischer Nachweis

Elektronenoptisch lassen sich Sporen in Geweben (ASHTON et al., 1976) und Ergüssen (NELSON, 1967; WILSON, 1979) nachweisen. Die Beurteilung der Ultrafeinstruktur ermöglicht die diagnostische Abgrenzung zu anderen Protozoen (HAMILTON & COX, 1981).

3.1.2.2. Polymerasekettenreaktion

Mit der PCR können Sequenzen der Erbinformation gezielt vervielfältigt werden und nach Gelelektrophorese mit bekannten Mustern verglichen werden. Durch diese Methode können geringste Erregermengen sicher nachgewiesen und Subtypen von *E. cuniculi* identifiziert werden (VOSSBRINCK et al., 1993; DIDIER et al., 1995). In einem ersten Schritt wird die zu amplifizierende DNA aus der zu untersuchenden Probe extrahiert. Das kann zum Beispiel in mehreren Waschschritten durch eine spezielle DNA-bindende Silikanmembran erfolgen (z. B. QIAmp DNA Mini KitTM). Danach erfolgt die eigentliche Polymerasekettenreaktion (PCR). Sofern im Reaktionsgemisch ein DNA-Doppelstrang als Matrize (Template) vorhanden ist, wird dieser zuerst durch Erhitzung denaturiert und damit in seine Einzelstränge aufgetrennt. Danach werden aus einem Gemisch vorhandener dNTP's die zuvor entstandenen Einzelstränge durch ein Polymerase-Enzym zum erneuten DNA-Doppelstrang polymerisiert, sofern ein kurzer doppelsträngiger Bereich als Starter (Primer) zur Verfügung steht. Hierfür erfolgt als zweiter Reaktionsschritt nach der Denaturierung das sog. Annealing, d. h. die Hybridisierung der Primer an die komplementären Einzelstränge. Die so entstandenen doppelsträngigen Bereiche dienen nun als Startstelle für die Polymerasekettenreaktion (Kettenverlängerung, dritter Reaktionsschritt). Nach der Polymerasekettenreaktion werden die hierbei neu synthetisierten Doppelstränge durch erneutes Erhitzen wiederum in ihre Einzelstränge getrennt und es erfolgt ein erneuter Reaktionszyklus (Kettenreaktion). Bei jedem erfolgten Reaktionsschritt kommt es so zur Verdoppelung der Matrizen und somit auch zur Verdoppelung der von der Polymerase synthetisierten DNA. Dies führt durch die Kettenreaktion zu einer exponentiellen Anreicherung der zwischen den Primern liegenden DNA-Sequenz. Anschließend können die amplifizierten Produkte der Polymerasekettenreaktion auf ein Agarosegel aufgetragen, mittels Elektrophoresekammer aufgetrennt und z. B. durch Ethidiumbromid im UV-Licht durch Fluoreszenz sichtbar gemacht werden (KATZWINKEL-WLADARSCH et al., 1996; KOCK et al., 1997).

3.1.2.2.1. Polymerasekettenreaktion im Urin

Die DNA wurde aus dem durch Blasenmanipulation ausgedrücktem oder mittels Zystozentese gewonnenen Urin extrahiert und anschließend via PCR (Durchführung siehe unter 3.1.2.2) amplifiziert (DE GROOTE et al., 1995;

KATZWINKEL-WLADARSCH et al., 1996; FRANZEN et al., 1998). In der Studie von JASS und Mitarbeiter (2004) wurde bei 40 % (15/38) der getesteten Kaninchen die PCR auf *E. cuniculi* positiv getestet. In der Studie von KÜNZEL und Mitarbeiter (2009) wurde bei keinem der getesteten 32 Kaninchen eine positive *E.-cuniculi*-PCR nachgewiesen.

3.1.2.2.2. Polymerasekettenreaktion im Liquor

Mit dem PCR-Protokoll (Durchführung siehe unter 3.1.2.2) konnte in der Studie von JASS (2004) bei den untersuchten Kaninchen nur bei zwei von insgesamt 19 Liquorproben *E.-cuniculi*-Antigen nachgewiesen werden. Elf dieser 19 Kaninchen wurden im Laufe der Studie aufgrund einer starken Verschlechterung der neurologischen Symptomatik euthanasiert oder verstarben natürlich. Bei jedem dieser elf Kaninchen konnte histopathologisch ein für *E. cuniculi* charakteristisches Entzündungsbild in Gehirn oder Rückenmark nachgewiesen werden, sowie bei acht der Tiere sog. Pseudozysten mit Sporen (JASS, 2004).

3.1.2.2.3. Polymerasekettenreaktion aus Linsenmaterial

Bei sieben von sieben Tieren mit phakoklastischer Uveitis konnte nach Enukleation der Linse ein positiver *E.-cuniculi*-PCR-Nachweis (Durchführung siehe unter 3.1.2.2.) durchgeführt werden (GRUBER & KÜNZEL, 2008).

3.1.2.3. Anzüchtung in der Zellkultur

IINO berichtete als erster 1960 über eine Vermehrung von *E. cuniculi* in Hühnerembryonen. SHADDUCK züchtete 1969 *E. cuniculi* in Kaninchenzellkulturen. Einen Überblick über die in der Literatur angegebenen Zellkulturen, in denen ein Wachstum *in vivo* möglich ist, ist in Tabelle 6 aufgelistet. Die Vermehrung von *E. cuniculi* in der Zellkultur macht sich durch Plaquebildung im Zellrasen bemerkbar (COX & PYE, 1975). Aus dem Zellüberstand können große Mengen an Sporen isoliert werden (SHADDUCK, 1969; BISMANNIS, 1970; CHUMAKOV et al., 1970).

Tabelle 6: Anzüchtung von *Encephalitozoon cuniculi* in verschiedenen Zellen

Zellart	Tierart	Autoren
Embryozellen	Huhn	IINO, 1960
Nierenzellen	Hund	COX & PYE, 1975; WALLER, 1975
Choroid-Plexus-Zellen	Kaninchen	SHADDUCK, 1969; PAKES et al., 1972
Nierenzellen	Kaninchen	WALLER, 1975
Nierentubuluszellen	Kaninchen	HAMILTON & COX, 1981
Lungenzellen	Katze	WALLER, 1975
Embryozellen	Maus	BISMANIS, 1970; CHUMAKOV, 1970
Fibroblasten	Mensch	DESSER et al., 1992; MATHIS et al., 1997
Nierenzellen	Rind	WALLER, 1975
Choroid-Plexus-Zellen	Schaf	MOHN & ODEGAARD, 1977

3.2. Indirekte Nachweisverfahren

Im Gegensatz zum direkten Nachweis, der vor allem in der postmortalen Diagnostik Verwendung findet, werden beim lebenden Tier meist indirekte Nachweisverfahren angewendet.

3.2.1. Intrakutantest

PAKES und Mitarbeiter entwickelten 1972 einen Intrakutantest. Zur Durchführung des Tests werden *E.-cuniculi*-Sporen, die in Zellkulturen gezüchtet und mechanisch aufbereitet wurden, *intrakutan* appliziert. Eine Sensibilisierung, wie bei einer Infektion mit *E. cuniculi*, führt zu einer allergischen Reaktion vom Typ IV. Eine Hautdickenzunahme, als Folge der Typ-IV-Reaktion, zeigt ein positives Ergebnis an (PAKES et al., 1972). Der Intrakutantest weist eine gute Korrelation zu anderen indirekten Nachweisverfahren auf. Er kann einfach, ohne großen apparativen Aufwand und ohne labordiagnostische Verfahren, durchgeführt werden (WOSU et al., 1977; NEUWIRTH, 1988). Zur Testung von größeren Tierzahlen werden allerdings entsprechend große Antigenmengen benötigt. Außerdem kann bei wiederholter Durchführung des Tests durch das applizierte Antigen eine Sensibilisierung induziert werden, so dass auch Tiere, die keine *E.-cuniculi*-Infektion haben, positiv reagieren können (PAKES et al., 1984).

3.2.2. Immunfluoreszenztest

Ein IFAT zur Bestimmung von Antikörpern gegen *E. cuniculi* wurde 1971 von CHALUPSKY und Mitarbeiter entwickelt. Objektträger werden mit Sporen von *E. cuniculi* beschichtet und die zu testende Substanz aufgetragen. In der Probe vorhandene Antikörper haften während der Inkubation am Antigen. Die gebundenen Antikörper werden mit Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) gekoppelten, sekundären Antikörpern überschichtet. Im Fluoreszenzmikroskop leuchten die vorgelegten *E.-cuniculi*-Sporen hellgrün auf, wenn in der untersuchten Probe Antikörper vorhanden sind (CHALUPSKY et al., 1971). Bei den verwendeten FITC-Antikörpern handelt es sich um tierartspezifische Anti-IgM- oder Anti-IgG-Antikörper (CHALUPSKY et al., 1973).

3.2.3. Immunoperoxidasetest

Auf einem ähnlichem Testprinzip wie der IFAT basiert der zum Nachweis von *E.-cuniculi*-Antikörpern entwickelte IP (GANNON, 1978). Im Gegensatz zum IFAT wird im IP durch Rettich-Peroxidase ein nicht fluoreszierender Farbstoff gebildet. Die Ergebnisse des IP zeigen eine sehr gute Korrelation zu den Ergebnissen des IFAT. Als Vorteil des IP gegenüber dem IFAT wird der geringere Geräteaufwand angeführt, da für die Auswertung nur ein einfaches Mikroskop und kein Fluoreszenzmikroskop benötigt wird. Eine Archivierung der benutzten Objektträger ist bei dem IP möglich, da der entwickelte Farbstoff, im Gegensatz zu dem des IFAT, stabil ist und nicht unter Lichteinwirkung verblasst. Ein Nachteil des IP gegenüber dem IFAT ist das Fehlen einer klaren Trennung zwischen positiven und negativen Testergebnissen (GANNON, 1978).

3.2.4. Komplementbindungstest

Ein Komplementbindungstest (KBR) wurde zum Nachweis experimenteller *E.-cuniculi*-Infektionen von WOSU und Mitarbeiter (1977) entwickelt. Für den Test werden Homogenate von zerstörten Sporen eingesetzt. Verdünnungen der Testseren werden unter Zugabe von Komplement mit einer definierten Menge an Sporenhomogenat inkubiert. Nach der Inkubation werden Schaferythrozyten und anti-Schaferythrozyten-Antikörper zugesetzt. Wenn in den Proben *E.-cuniculi*-Antikörper vorhanden sind, wird das Komplement verbraucht. Ohne Komplement unterbleibt die Hämolyse der zugesetzten Schaferythrozyten. Mit dem KBR konnten WOSU und Mitarbeiter (1977) 15 Tage nach intrazerebraler Infektion

spezifische Antikörper nachweisen. Ein Nachteil ist die lange Dauer der Testdurchführung von 48 Stunden (WOSU et al., 1977).

3.2.5. Enzyme-Linked Immunosorbant Assay

COX und Mitarbeiter entwickelten 1981 einen ELISA für *E.-cuniculi*-Antikörper. *E.-cuniculi*-Antigen, das in den Kavitäten einer Lochplatte fixiert ist, wird mit dem zu testenden Serum überschichtet. Sekundäre Antikörper koppeln an die gebundenen Serumantikörper und wandeln ein zugegebenes Substrat in einen Farbstoff um. Die Farbentwicklung ist proportional zur gebundenen Antikörpermenge und kann photometrisch gemessen werden (COX et al., 1981). Eine Modifikation des ELISA stellt der Dot-ELISA dar (BECKWITH et al., 1988). Hierbei wird das Antigen auf einem Vlies (stationäre Phase) fixiert. Mit der mobilen Phase werden die Testsubstanz, sekundäre Antikörper und Konjugat, über das stationäre Antigen hinweggeführt. Eine Farbentwicklung am Fixationsort des Antigens zeigt eine positive Antikörperreaktion an (BECKWITH et al., 1988).

3.2.6. Tusche-Immuntest

Der Tusche-Immuntest (Carbon-Immuno-Assay, CIA) wurde 1971 von GECK zum Nachweis enteropathogener Mikroorganismen entwickelt und durch WALLER (1977) für den Nachweis von *E.-cuniculi*-Antikörpern modifiziert. Ähnlich wie beim IFAT werden auch für den CIA *E.-cuniculi*-Sporen zur Testdurchführung benötigt. Der Test beruht auf der Bindung von anti-*E.-cuniculi*-IgG aus der Probe (BYWATER & KELLETT, 1979) an die Oberfläche der vorgelegten Sporen. Durch die Anlagerung zugesetzter Tuschepartikel färbt sich die Zellwand dunkel und die Sporen werden mikroskopisch deutlich sichtbar. Um unspezifische Bindungen zu reduzieren, werden die zu testenden Seren 30 Minuten bei 56 °C inaktiviert (KELLETT & BYWATER, 1980). Ein Simultantest von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) und *E. cuniculi* ist möglich, da keine Kreuzreaktion zwischen beiden Erregern besteht und sie mikroskopisch gut zu unterscheiden sind (WALLER & BERGQUIST, 1982). Der CIA ist schnell und einfach in 15 bis 45 Minuten durchzuführen (WALLER, 1977) und zeigt eine sehr gute Korrelation (0,98) zum IFAT. Er konnte bei unterschiedlichen Spezies eingesetzt werden, da kein tierartspezifisches Konjugat benötigt wird. Im Gegensatz zu einem positiven IFAT ist der Farbstoff im CIA photostabil und kann archiviert werden (KELLETT & BYWATER, 1980).

4. Differentialdiagnose zur Enzephalitozoonose

Es gibt verschiedene Differentialdiagnosen zur Enzephalitozoonose.

4.1. Differentialdiagnose zum Problemkomplex ZNS

Die im Zusammenhang mit der neurologischen Form der Enzephalitozoonose beim Kaninchen auftretenden Symptome können auch durch eine ganze Reihe anderer Krankheiten bedingt sein. Als eine Hauptdifferentialdiagnose bei Kaninchen mit Vestibularsyndrom wurden von KUNSTYR und NAUMANN (1986) eine bakterielle Infektion mit *Pasteurella multocida* und der Befall mit Ohrmilben angesehen. Rund 66 % der untersuchten Kaninchen zeigten in ihrer Studie eine *Otitis media et interna* bedingt durch Pasteurellen. Das entstehende Empyem im Mittelohr und Innenohr kann evtl. durch bildgebende Verfahren (Röntgen) dargestellt werden. Jedoch zeigte in einer Studie auch ein Großteil der mit Pasteurellen subklinisch infizierten Kaninchen ein Exsudat in der *Bulla tympanica* (SNYDER et al., 1973). Durch eine bakterielle Untersuchung des gewonnenen Sekrets allein ist meist keine eindeutige Diagnosestellung der Pasteurellose möglich, da diese Bakterien auch auf der Schleimhaut gesunder Kaninchen nachgewiesen werden können (SNYDER et al., 1973; DEEB, 1997). Als weitere Auslöser einer bakteriellen *Otitis media et interna* beim Kaninchen werden auch Staphylokokken, *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa* beschrieben (DEEB & CARPENTER, 2004). Staphylokokken wurden auch als Auslöser von Meningoencephalitis nachgewiesen (GRUBER et al., 2009).

Die beim Kaninchen vorkommenden **Ohrmilben** (*Psoroptes cuniculi*, *Chorioptes cuniculi*) sind laut KUNSTYR und NAUMANN (1986) vor allem im äußeren Gehörgang zu finden und daher leicht mittels otoskopischer Untersuchung und durch mikroskopische Untersuchung eines Ausstrichs von der Enzephalitozoonose abzugrenzen. Betroffene Kaninchen leiden meist unter starkem Juckreiz, und die evtl. zu beobachtende Kopfschiefhaltung ist durch eine starke Hautirritation meist reflektorisch bedingt. Eine *Otitis interna* mit Symptomen eines peripheren Vestibularsyndroms wird durch Ohrmilben laut der Autoren nicht ausgelöst (KUNSTYR & NAUMANN, 1986).

Bei dem Symptomkomplex Parese ist ein **Trauma** als Hauptdifferentialdiagnose anzusehen und sollte bei Verdacht auf eine *E.-cuniculi*-Infektion stets in Betracht

gezogen werden (DEEB & CARPENTER, 2004). Traumatische Läsionen der Wirbelsäule und des Rückenmarks treten dabei sehr häufig auf. Auch Schädel-Hirn-Traumata, die entsprechende neurologische Ausfälle im Kopfbereich auslösen können, sind für Kaninchen beschrieben (DEEB & CARPENTER, 2004). Bei einer Parese kann es zusätzlich bei schwerem Trauma der Wirbelsäule auch zu einem Ausfall der Hautsensibilität, sowie Harn- und Kotinkontinenz kommen. Der Nachweis von Traumata kann teilweise durch Bestimmung von Muskelenzymaktivitäten (mittelgradige Creatinkinase(CK)-Aktivitätsanstiege) und/oder teilweise auch durch Röntgenaufnahmen (Frakturen, Luxationen) gestellt werden (HEIN & HARTMANN, 2001; SIEG et al.; 2010).

In früheren Jahren wurde die **Toxoplasmose** vornehmlich bei Versuchskaninchen als eine der Hauptdifferentialdiagnosen der Enzephalitozoonose angesehen. Die Ursache hierfür dürfte wohl in dem ähnlichen histologischen Erscheinungsbild beider Infektionen begründet sein (SHADDUCK & PAKES, 1971).

Als weitere mögliche Differentialdiagnosen für die Enzephalitozoonose wurden in früheren Jahren auch **nutritive Störungen** angegeben. KÖTSCHKE und GOTTSCHALK (1990) sahen die Ursache in einer fehlerhaften Futterzusammenstellung und konnten bei Kaninchen mit Tortikollis ein gestörtes Natrium-Kalium-Verhältnis feststellen. Auch ein Mangel an Vitamin A, Vitamin E, Magnesium, Selen etc. sowie Intoxikationen wurden im Zusammenhang mit neurologischen Symptomen, Lahmheiten, generalisierter Muskelschwäche und Krämpfen bei Kaninchen angegeben (DEEB & CARPENTER, 2004).

Daneben müssen bei Jungtieren auch **angeborene Missbildungen** wie z. B. der sog. „Splay-Leg“, die Schüttellähme des „Deutschen Widder“, die Epilepsie der „Weißen Wiener“, erbliche Ataxien, die spastische Spinalparalyse oder Glykogenspeicherkrankheiten im Zusammenhang mit dem Auftreten neurologischer Defizite berücksichtigt werden (DEEB & CARPENTER, 2004).

Auch **Neoplasien**, häufig Lymphome und Teratome, sind bei neurologischen Störungen zu beobachten (GRUBER et al., 2009). Kardiovaskuläre Läsionen (Myokarditis, myokardiale Fibrose) führen zu einer Hypoxie des Gehirns und können damit auch neurologische Symptome auslösen (GRUBER et al., 2009).

Metabolisch-toxische Ursachen, wie hepatoenzephalisches Syndrom, Mykotoxikosen, Hypokalämie und Hypocalcämie sollen als Differentialdiagnose bei neurologischen Störungen in Betracht gezogen werden (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003; GRUBER et al., 2009).

4.2. Differentialdiagnose zum Problemkomplex Niere

Es gibt verschiedene Differentialdiagnosen beim Problemkomplex Niere zur Enzephalitozoonose. Prärenale Azotämie kann durch Dehydratation, Hitzschlag und Toxine verursacht sein (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Bakterielle Entzündungen der Niere, Nephrokalzinose, Zysten, Amyloidose und Tumoren können zu einer renalen Azotämie führen (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Die am häufigsten beschriebenen Tumoren in der Niere sind Lymphome und Karzinome. Die **Urolithiasis** äußert sich in Form der postrenalen Azotämie, PU/PD und Inkontinenz. Zur Diagnose der Urolithiasis sollten Ultraschall- und Röntgenuntersuchungen durchgeführt werden (HARCOURT-BROWN, 2007).

4.3. Differentialdiagnose zum Problemkomplex Auge

Die phakoklastische Uveitis ist zu einem sehr hohen Prozentsatz Folge der Enzephalitozoonose (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Weitere Ursachen können Traumata, Tumore, durch Pasteurellose ausgelöste bakterielle Uveitiden oder Irisabszesse sein (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Eine sekundäre Uveitis kann durch eine schwere Keratitis oder Trauma sowie penetrierende Fremdkörper entstehen (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Ein reduzierter Tränenfilm, der durch Zahnprobleme, verstopfte Tränen-Nasenkanäle oder Dakryozysten ausgelöst wird, kann zu einer Keratitis mit einer sekundären Uveitis führen (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003).

5. Therapie der Enzephalitozoonose

Eine *E.-cuniculi*-Infektion wurde lange Zeit als Todesurteil für erkrankte Kaninchen betrachtet (KUNSTYR et al., 1986). In Studien zeigen vor allem Benzimidazol-Derivate eine Wirkung auf *E. cuniculi* (KATIYAR & EDLIND, 1994). Diese Medikamente können jedoch keine Infektion verhindern und der intrazelluläre Erreger wird auch nicht eliminiert, aber sie hemmen das Wachstum

(FRANSSEN et al., 1995). Vielversprechend ist vor allem laut SUTER und Mitarbeiter (2001) das Fenbendazol, sowohl in seiner prophylaktischen als auch in seiner therapeutischen Wirkung. Studientiere (4/8) entwickelten nach Verabreichung von Fenbendazol sieben Tage vor der Infektion innerhalb von 120 Tagen keine *E.-cuniculi*-Antikörper. Auch aus den Gehirnen konnten keine Sporen isoliert werden. Die unbehandelte Gruppe (4/8) entwickelte nach 23 bis 40 Tagen einen hohen Antikörpertiter. Sporen konnten aber auch hier nicht aus dem Gehirn isoliert werden (SUTER et al., 2001). EWRINGMANN und GÖBEL (1999) wählten als Therapie bei Enzephalitozoonose verdächtigen Kaninchen Oxytetracyclin, Dexamethason, B-Vitamine und Infusionen über einen Zeitraum von 14 Tagen. Diese Therapie war erfolgreich bei neurologischen Fällen. Bei niereninsuffizienten Kaninchen waren die Heilungschancen sehr schlecht (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). HARCOURT-BROWN und HOLLOWAY (2003) verabreichten Kaninchen mit Vestibularsyndrom Enrofloxacin oder Oxytetracyclin und bei akuten Symptomen einmalig Betamethason. Kaninchen mit Nierenversagen erhielten Enrofloxacin und Flüssigkeitstherapie. Alle Tiere bekamen zusätzlich noch Albendazol bzw. Fenbendazol. Über die Hälfte der neurologisch auffälligen Kaninchen überlebte länger als sechs Monate (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003). Laut EWRINGMANN und GÖBEL (1999) ist die Gabe von kurz-wirksamen Kortikosteroid und Vitamin B für die Nervenregeneration jedoch umstritten. Neue Studien (SIEG et al., 2010) sagen aus, dass die Kombination von Antibiotika (Oxytetracyclin) und Fenbendazol gegenüber der alleinigen Verwendung von Oxytetracyclin eine zusätzliche statistisch signifikante Verbesserung der neurologischen Symptome und der Überlebensrate bringt, die begleitende Therapie mit Dexamethason aber nicht. Die Gabe von Dexamethason bei den steroidsensiblen Kaninchen ist ohnehin kritisch zu betrachten (SIEG et al., 2010).

III. MATERIAL UND METHODE

1. Material

In diese Studie wurden 800 Kaninchen einbezogen und in folgende Gruppen eingeteilt: **Gruppe A** umfasste Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, bei denen *E.-cuniculi*-Infektion mittels pathologisch-anatomischer Untersuchung oder Urin-PCR nachgewiesen wurde (siehe Tabelle 7). Die Gruppe A wurde in die Untergruppe A1 und A2 unterteilt. In der **Gruppe A1** wurden Kaninchen auf Antikörper gegen *E. cuniculi* getestet, in der **Gruppe A2** wurde diese Testung nicht durchgeführt. **Gruppe B** bestand aus klinisch gesunden Kaninchen. Die gesunden Kaninchen wurden alle auf Antikörper gegen *E. cuniculi* getestet und aufgrund der Testung in die Untergruppen **B-AK-pos.** und **B-AK-neg.** eingeteilt. **Gruppe B-AK-pos.** umfasste Kaninchen, die *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv getestet wurden und **Gruppe B-AK-neg.** *E.-cuniculi*-Antikörper-negative Kaninchen. **Gruppe C** setzte sich aus kranken Kaninchen ohne definitiven Diagnosebeweis zusammen. Die Gruppe C wurde in die Untergruppe C1 und C2 unterteilt. Kaninchen in der **Gruppe C1** wiesen *E.-cuniculi*-typische Symptome aus den Problemkomplexen ZNS, Nieren und Augen auf und waren somit *E.-cuniculi*-verdächtig. *E.-cuniculi*-typische Symptome waren neurologische Störungen (Vestibularsyndrom und/oder Paresen), Zeichen einer Niereninsuffizienz (Azotämie und/oder Polyurie/Polydipsie (PU/PD)) und ophthalmologische Krankheiten (Keratitis, Uveitis und/oder Konjunktivitis). Kaninchen der **Gruppe C2** zeigten *E.-cuniculi*-untypische Symptome wie zum Beispiel Nasenausfluss oder Durchfall und waren damit *E.-cuniculi*-unverdächtig.

Tabelle 7: Gruppeneinteilung des untersuchten Kollektivs der Studie (Abkürzung = Abk., Anzahl = n, *Encephalitozoon cuniculi* = *E. cuniculi*)

Gruppe	Abk.	N	Untergruppe	Abk.	N
bewiesene Kaninchen	A	122	<i>E.-cuniculi</i> -AK getestet	A1	95
			<i>E.-cuniculi</i> -AK nicht getestet	A2	27
gesunde Kaninchen	B	218	<i>E.-cuniculi</i> -AK-positiv	B-AK-pos.	39
			<i>E.-cuniculi</i> -AK-negativ	B-AK-neg.	179
kranke Kaninchen ohne Beweis	C	460	<i>E.-cuniculi</i> -verdächtig	C1-AK-pos.	241
				C1-AK-neg.	
			<i>E.-cuniculi</i> -unverdächtig	C2	219

Es wurden drei Fragestellungen in dieser Studie bearbeitet.

Die erste Fragestellung untersuchte die Sensitivität und Prävalenz der *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-Bestimmung bei Kaninchen in Bayern. Zur Darstellung der Sensitivität und Prävalenz der *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-Bestimmung bei Kaninchen in Bayern wurden die **Untergruppe A1** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose und AK-Testung), **Gruppe B** (gesunde Kaninchen mit AK-Testung), **und Gruppe C** (kranke Kaninchen ohne Beweis mit AK-Testung) in die Studie eingeschlossen.

Die zweite Fragestellung untersuchte den Vergleich von Signalement und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit gesunden Kaninchen. Zum Vergleich von Signalement und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit gesunden Kaninchen wurden die **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-negative Kaninchen) in die Studie eingeschlossen.

Die dritte Fragestellung untersuchte den Vergleich von Signalement, klinischer Symptomatik und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht. Zum Vergleich von Signalement, klinischer Symptomatik und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht wurden die **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und **Untergruppe C1** (kranke, *E.-cuniculi*-

verdächtige Kaninchen) eingeschlossen.

2. Methode

2.1. Anamnese und Signalement

Bei der anamnestischen Erhebung wurde das Alter und das Geschlecht erfragt und das Gewicht ermittelt (digitale Küchenwaage, 4MBO, international Electronic AG, Plochingen, Deutschland).

2.2. Befunderhebung

Bei der klinischen Untersuchung wurden die Daten Temperatur, Gewicht, Atemfrequenz und Herzfrequenz erfasst und alle Organsysteme ausführlich untersucht. Die Befunde wurden in eine Excel Tabelle eingetragen und ausgewertet.

2.3. Blutentnahme und Aufbereitung

Bei den Kaninchen wurden Blutproben entnommen, um hämatologische und klinisch-chemische Parameter zu bestimmen. Zunächst wurde die *Vena saphena lateralis* an der Punktionsstelle desinfiziert und mit der Einwegkanüle Microlance™ 3® (Becton Dickinson, Fraga, Spanien) punktiert. Zur Ermittlung der hämatologischen Parameter wurden jeweils mindestens 0,5 ml Blut mit einem mit Gerinnungshemmer EDTA-di-Kaliumsalz beschichteten Probenröhrchen (Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Eisenroth, Deutschland) aufgefangen. Zur Ermittlung der klinisch-chemischen Parameter wurden bis zu 4 ml Blut in einem mit Gerinnungsaktivator beschichteten Serumprobenröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) entnommen.

Die hämatologischen Parameter (Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, Hb, Hkt, MCHC, MCH, MCV) wurden im vollautomatischen Zellcounter (Cell-Dyn® 3500 R, Firma ABBOTT Diagnostics, Illinois, USA) ermittelt. Die Messungen wurden in der für das Kaninchen vorgesehenen Einstellung vorgenommen. Zur Erstellung des Differentialblutbildes wurden drei Blutastriche hergestellt. Hierzu wurde ein Tropfen des EDTA-Blutes auf einem Objektträger ausgestrichen und nach Lufttrocknung mit einem automatischen Färbegerät (HEMATEK® Slide-Stainer, Firma Bayer, Dublin, Irland) nach Wright gefärbt. Je 100 Leukozyten wurden bei 1000facher Vergrößerung (Lichtmikroskop BH2, Olympus, Japan) unter Verwendung von Immersionsöl anhand von morphologischen Kriterien in

Monozyten, Lymphozyten, stabkernige und segmentkernige neutrophile, basophile und eosinophile Granulozyten differenziert. Das Serum wurde nach einer Standzeit von 30 Minuten und vollständiger Gerinnung mit der Universal 32 R Zentrifuge (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland) bei 4000 Umdrehungen (U)/min für fünf Minuten zentrifugiert und dann abpipettiert. Die Probenanalyse aus EDTA-Blut und Serum folgte innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme. Enzymaktivitäten, Substrat- und Elektrolytkonzentrationen wurden aus Serum vollautomatisch am Autoanalyser Hitachi 911® (Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland) unter Verwendung der zugehörigen Systempackungen (Boehringer Mannheim, Mannheim, Deutschland bestimmt).

2.4. Verfahren zum Nachweis von *Enzcephalitozoon cuniculi*

Die Kaninchen wurden mit verschiedenen Nachweisverfahren auf einen *E. cuniculi* Nachweis getestet.

2.4.1. Antikörperbestimmung

Der *E.-cuniculi*-IFAT und der *E.-cuniculi*-ELISA wurden mit dem Serum der Kaninchen durchgeführt. Die Untersuchung der Proben erfolgte im Tierärztlichen Labor Barutzki (Freiburg, Deutschland).

2.4.2. Polymerasekettenreaktion

Die Urin-PCR zum Nachweis der *E.-cuniculi*-DNA wurde nach manueller Blasenentleerung mittels REAL-Time-PCR mit CSYB-Screen durchgeführt. Die Untersuchung der Proben erfolgte im Labor Alomed (Dr. Werner Müller, Radolfzell-Böhringen, Deutschland).

2.4.3. Pathologisch-anatomische Untersuchung

Die Sektionen der verstorbenen oder eingeschlaferten Kaninchen wurden am Lehrstuhl für Pathologie (Leitung Professor Hermanns, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Deutschland) durchgeführt und beinhalteten die makroskopische und mikroskopische Untersuchung der Organsysteme. Die neuropathologischen Untersuchungen wurden am Lehrstuhl für Neuropathologie (Leitung Professor Schmahl, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Deutschland) durchgeführt. Mehrere Schnitte des Gehirns wurden angefertigt, gefärbt und mikroskopisch untersucht. Die Sektionsberichte wurden erfasst und ausgewertet.

2.5. Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit der Software MS-Excel 2007 (www.microsoft.com) und mit dem Softwarepaket SPSS Version 16.0. (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Im ersten Schritt der statistischen Überprüfung des Datensatzes wurde mit Hilfe der Box-Plots visuell beurteilt, ob die Daten normalverteilt waren. Die Normalverteilung wurde durch den Vergleich von Median und Mittelwert, sowie mit Hilfe der Schiefe bestimmt (PEAT & BARTON, 2005). Da dies nicht für alle Daten der Fall war, erfolgte in einem zweiten Schritt die Berechnung der Signifikanz des Unterschiedes mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Um eine Vergleichbarkeit und Qualität statistisch abgesicherter Entscheidungen zu gewährleisten, wurde eine „Nullhypothese“ dann verworfen, wenn die **Irrtumswahrscheinlichkeit p** kleiner oder gleich 5 % war. Als Nullhypothese galt in dieser Studie die Annahme, dass zwischen den jeweils betrachteten Gruppen kein Unterschied bestand. Charakteristische Nenngrößen wurden berechnet. Das **Minimum** (Min) entspricht dem kleinsten gemessenen Wert, das **Maximum** (Max) dem größten gemessenen Wert. Der **Median** (Zentralwert, Halbwert, M) ist derjenige beobachtete Wert x auf der Abszisse, an dem die Senkrechte ein Histogramm in zwei Teile mit gleichen Flächen teilt. Der Chi-Square-Test wird für die Bewertung des Geschlechts, des Gewichts und des Alters herangezogen. Der Chi-Square-Test ist ein Anpassungstest. Mit ihm lässt sich prüfen, ob die beobachtete Verteilung einer vorgegebenen Verteilung entspricht. Dieser Test ist anwendbar für kategoriale oder auch für kontinuierliche Merkmale die klassifiziert werden.

IV. ERGEBNISSE

1. Sensitivität und Prävalenz der *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-Bestimmung bei Kaninchen in Bayern

Bei 773 Kaninchen wurde auf Antikörper gegen *E. cuniculi* mittels IFAT oder ELISA getestet (siehe Tabelle 8).

1.1. *Encephalitozoon-cuniculi* -Antikörperprävalenz

Es wurden 555 kranke und 218 gesunde Kaninchen auf Antikörper gegen *E. cuniculi* getestet. Bei **kranken Kaninchen** wurden in 48 % (266/555) *E.-cuniculi*-Antikörper nachgewiesen. **Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose** waren in 96 % (91/95) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Von den kranken, ***E.-cuniculi*-verdächtigen** Kaninchen ohne Beweis hatten 60 % (144/214) Antikörper gegen *E. cuniculi*, von den kranken, ***E.-cuniculi*-unverdächtigen** Kaninchen 14 % (13/219). Bei den **gesunden Kaninchen** wiesen 18 % (39/218) Antikörper gegen *E. cuniculi* auf.

Tabelle 8: *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörperprävalenz im Studienkollektiv (AK+ (n) = Anzahl (n) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiver Kaninchen, AK+ (%) = *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv Kaninchen in Prozent, n = Anzahl der Kaninchen)

Gruppe	n	AK+ (n)	AK+ (%)
kranke Kaninchen	555	266	48
- Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose	95	91	96
- <i>E.-cuniculi</i> -verdächtig	241	144	60
- <i>E.-cuniculi</i> -unverdächtig	219	31	14
gesunde Kaninchen	218	39	18
Gesamtkollektiv	773	336	43

1.2. Sensitivität des *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörpers

Kaninchen mit **bewiesener Enzephalitozoonose** waren in 96 % (91/95) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Bei vier Kaninchen wurde kein *E.-cuniculi*-Antikörper nachgewiesen, obwohl die Infektion mit *E. cuniculi* in der pathologisch-anatomischen Untersuchung oder einer positiven *E.-cuniculi*-PCR zweifelsfrei nachgewiesen wurde. Die Sensitivität der *E.-cuniculi*-

Antikörperbestimmung liegt somit bei 96 %.

2. Vergleich von Signalement und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit gesunden, *Enzephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen

Die zweite Fragestellung untersuchte den Vergleich von Signalement und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit gesunden Kaninchen.

2.1. Signalement

Das Signalement wurde ausgewertet.

2.1.1. Altersverteilung

Das jüngste Kaninchen in der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) war einen Monat und das älteste 14 Jahre alt. Das jüngste Tier in der **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) war einen Monat und das älteste neun Jahre alt. Der Median betrug in **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) 3,2 Jahre und in **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde Kaninchen) ein Jahr. Beim Vergleich der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) wurde ein signifikanter Unterschied in der Altersverteilung festgestellt werden (siehe Abbildung 3). Die **Gruppe A** war signifikant älter ($p < 0,001$) als die **Gruppe B-AK-neg.**

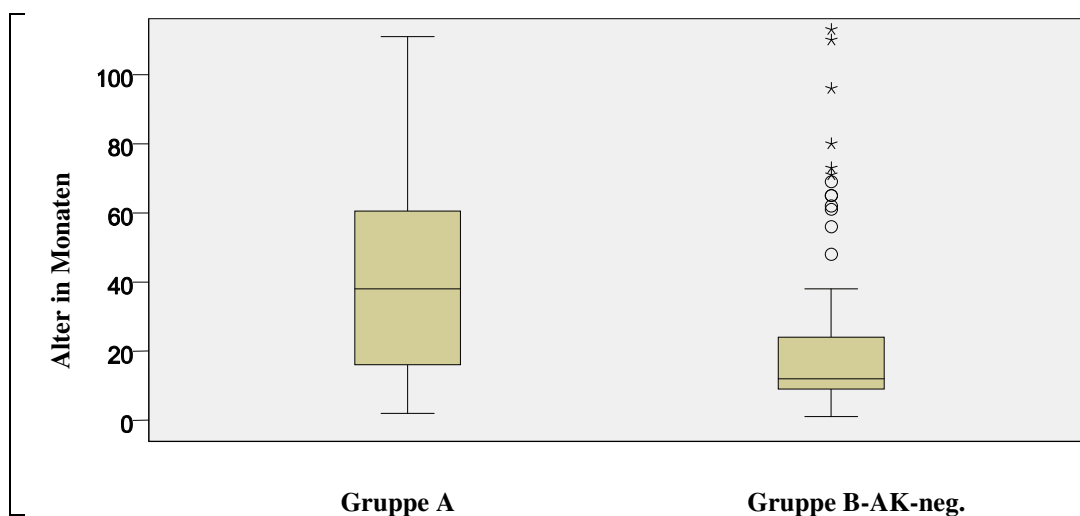


Abbildung 3: Altersverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe B-AK-neg. = gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen, Median Gruppe A: 38 Monate, Median Gruppe B-AK-neg: 12 Monate)

2.2.2. Gewichtsverteilung

Die Gewichtsspanne lag bei der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) zwischen 0,3 kg und 6 kg. Die Gewichtsspanne lag bei der **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) zwischen 0,5 kg und 6,5 kg. Der Median in der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) lag bei 1,8 kg und in der **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) bei 2,7 kg. Zwischen **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) wurden signifikante Unterschiede in der Gewichtsverteilung festgestellt (siehe Abbildung 4). Die **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) war signifikant leichter ($p < 0,001$) als die **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen).

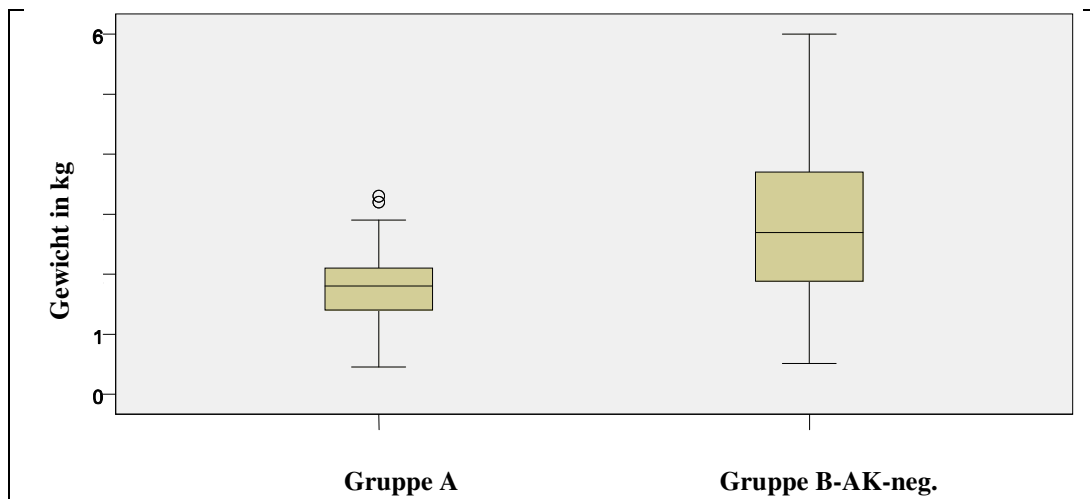


Abbildung 4: Gewichtsverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe B-AK-neg. = gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen, Median Gruppe A: 1,8 kg, Median Gruppe B-AK-neg. : 2,7 kg)

2.2.3. Geschlechtsverteilung

Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) waren in 51 % (62/122) männlich und 49 % (60/122) weiblich. In der **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) waren 49 % (89/179) weiblich und 51 % (90/179) männlich. Beim Vergleich der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen) wurde kein signifikanter Unterschied in der Geschlechtsverteilung ($p = 0,851$) festgestellt.

2.2.4. Labordiagnostische Parameter

Es wurde eine vergleichende statistische Auswertung der labordiagnostischen Parameter von **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) mit **Gruppe B-AK-neg.** (gesunde, *E.-cuniculi*-Antikörper-negative Kaninchen) durchgeführt (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Vergleich der Mediane des Blutbildes und der Enzyme von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und gesunden, *E.-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg., n = 179)

Parameter	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr. A	Gr. B— AK-neg.		
RBC	x 10 ¹² /l	6,0	6,8	< 0,001	5,3 – 8,1
Hb	g/l	7,8	8,5	< 0,001	7,0 – 0,6
Hkt	l/l	0,39	0,44	< 0,001	0,36 – 0,55
Thrombozyten	x 10 ⁹ /l	607	377	< 0,001	139 – 725
WBC	x 10 ¹² /l	8,6	6,8	< 0,001	3,0 – 11,9
stabk. neutro. Gr.	x 10 ⁹ /l	3703	2176	< 0,001	820 – 5031
Lymphozyten	x 10 ⁹ /l	3540	4269	< 0,001	1567 – 7870
ALT	U/l	36	26	0,898	0 – 61
AST	U/l	19	9	0,028	0 – 28
AP	U/l	46	56	0,001	0 – 397
GLDH	U/l	5,1	2,9	0,006	0 – 19
CK	U/l	1240	249	< 0,001	0 – 958

Forts. Tabelle 9: Vergleich der Mediane der Substrate und Elektrolyte von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und gesunden, *E.-cuniculi*-Antikörpernegativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg., n = 179)

Parameter	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr. A	Gr.B-AK-neg.		
Eiweiß	g/l	65,4	63,7	0,019	48,9 – 73,9
Albumin	g/l	48,9	56,1	< 0,001	35,6 – 56,8
Harnstoff	mmol/l	8,9	5,5	< 0,001	2,0 – 8,4
Kreatinin	µmol/l	99	80	< 0,001	34 – 166
Glukose	mmol/l	7,9	7,4	0,021	5,8 – 14,8
Natrium	mmol/l	144	143	0,1920	139 – 149
Kalium	mmol/l	4,5	4,9	0,014	3,7 – 6,3
Calcium	mmol/l	3,4	3,6	< 0,001	3,1 – 3,9
Phosphat	mmol/l	1,4	1,5	0,318	0,8 – 3,1
Chlorid	mmol/l	96	99	0,131	93 – 109

Nur die Medianwerte der CK-Aktivitäten (siehe Abbildung 5) und der Harnstoff-Konzentrationen (siehe Abbildung 6) der Gruppe A lagen außerhalb des Referenzbereiches.

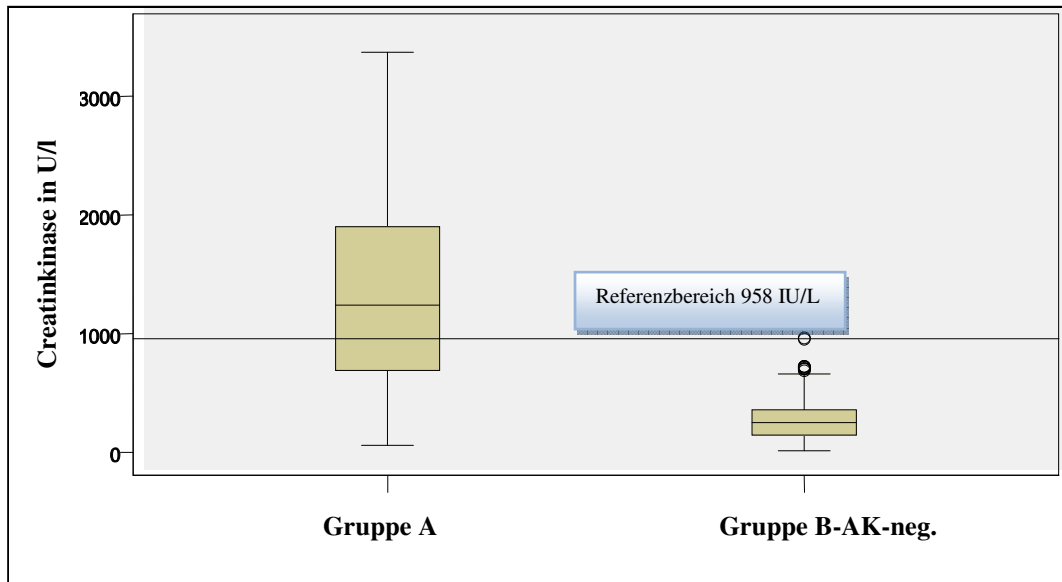


Abbildung 5: Vergleich der Creatinase-Aktivitäten der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gruppe A) und der gesunden, *Enzephalitozoon-cuniculi*-Antikörpernegativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg.); (Median Gruppe A: 1249, Median Gruppe B-AK-neg. : 249)

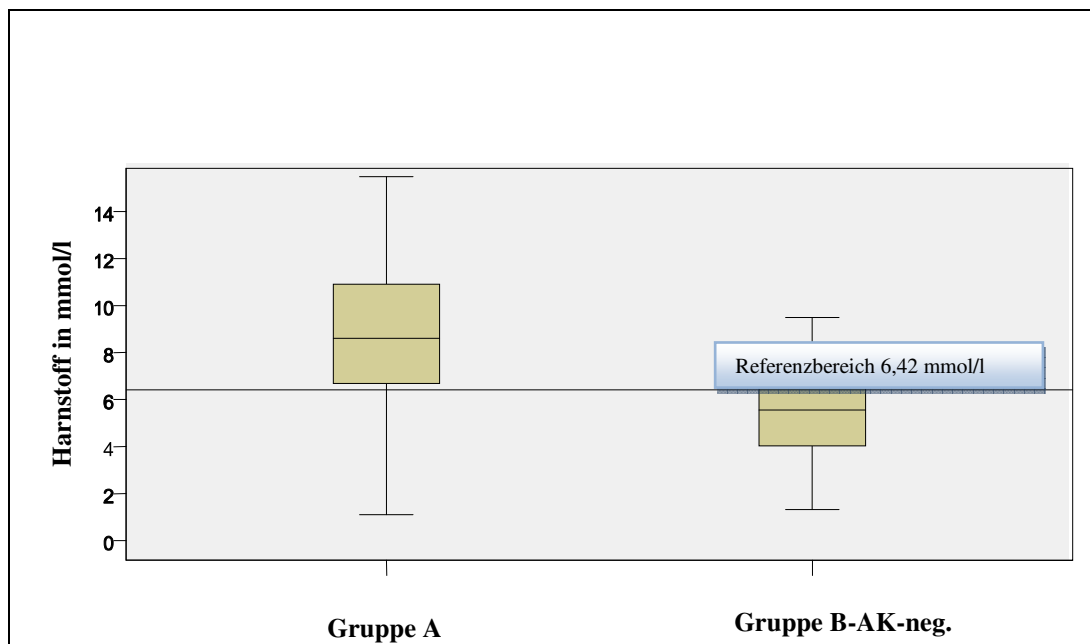


Abbildung 6: Vergleich der Harnstoffkonzentrationen der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gruppe A) und der gesunden, *Enzephalitozoon-cuniculi*-Antikörpernegativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg.); (Median Gruppe A: 8,9, Median Gruppe B-AK-neg.: 5,5)

3. Vergleich von Signalement, klinischer Symptomatik und labordiagnostischen Parametern von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit kranken Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht

Die **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) wurde mit der **Untergruppe C1** (kranke Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht) verglichen. Die Untergruppe C1 (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht) wurde aufgrund der *E.-cuniculi*-Antikörperbestimmung in die Gruppe **C1-Antikörper-positiv (C1-AK-pos.** = 144 kranke Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und in die Gruppe **C1-Antikörper-negativ (C1-AK-neg.** = 97 kranke Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) eingeteilt.

3.1. Signalement

Das Signalement wurde ausgewertet.

3.1.1. Altersverteilung

Das jüngste Tier in der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) war einen Monat und das älteste 14 Jahre alt. Das jüngste Tier in der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) war einen Monat und das älteste 16 Jahre alt. Das jüngste Tier in der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) war einen Monat und das älteste 13 Jahre alt. Der Median des Alters betrug in **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) 3,2 Jahre und in der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) auch 3,2 Jahre und in der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) 3,0 Jahre. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied (siehe Abbildung 7) in der Altersverteilung der Gruppen (**Gruppe A** im Vergleich mit Gruppe **C1-AK-pos.**: $p = 0,515$; **Gruppe A** im Vergleich mit Gruppe **C1-AK-neg.**: $p = 0,215$).

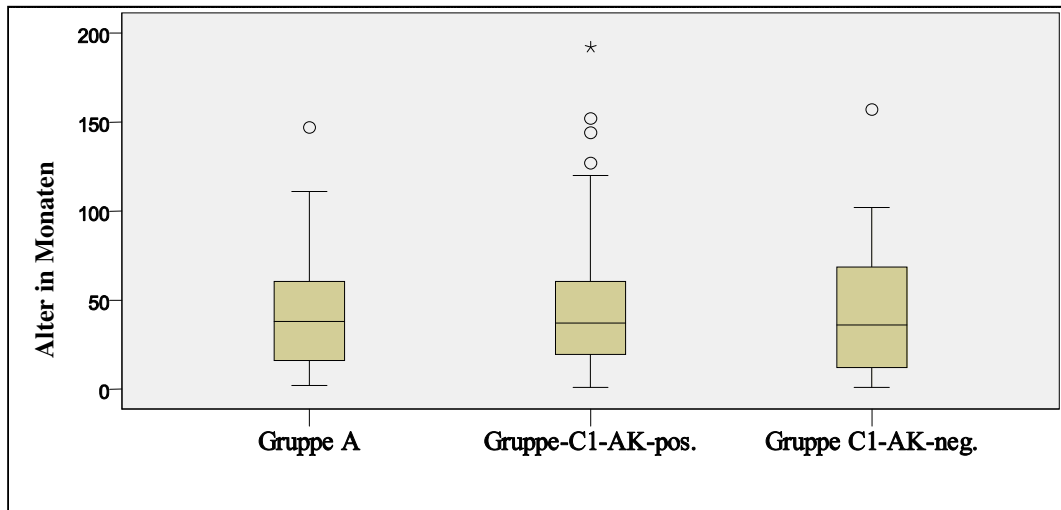


Abbildung 7: Altersverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe C1-AK-pos. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, Gruppe C1-AK-neg. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest; $p = 0,515$; $0,215$; Median Gruppe A: 38 Monate, Median Gruppe C1-AK-pos.: 38 Monate, Gruppe C1-AK-neg.: 36 Monate)

3.1.2. Gewichtsverteilung

Die Gewichtsspanne lag bei der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) zwischen 0,3 kg und 6 kg, bei der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) zwischen 0,3 kg und 3,2 kg und bei der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) zwischen 0,4 kg und 3,9 kg. Der Median der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) lag bei 1,8 kg, in der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) bei 1,8 kg und bei Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) ebenfalls bei 1,9 kg. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p = 0,916$; $0,743$) in der Gewichtsverteilung der Gruppen (siehe Abbildung 8).

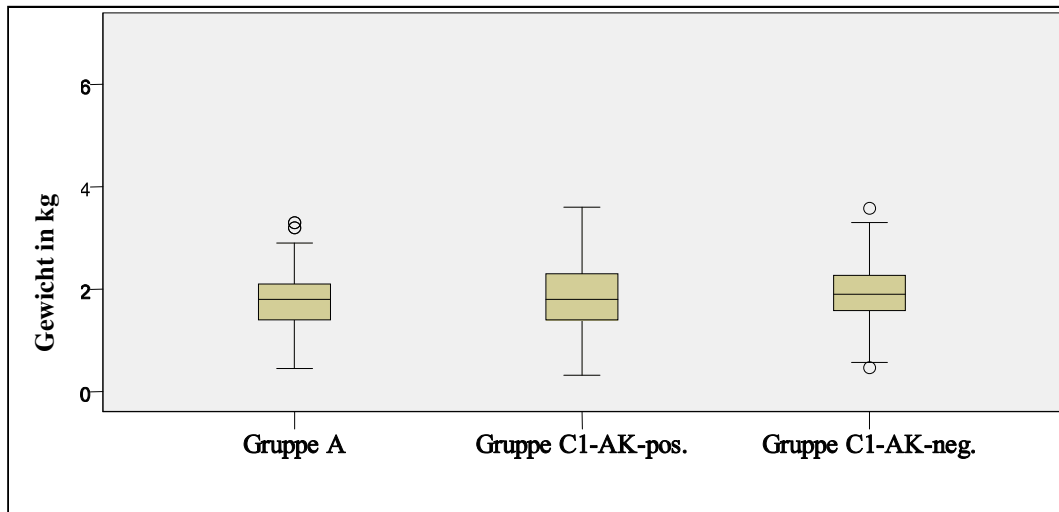


Abbildung 8: Gewichtsverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe C1-AK-pos. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, Gruppe C1-AK-neg. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, $p = 0,916$; $0,743$; Median Gruppe A: 1,8 kg, Median Gruppe C1-AK-pos.: 1,8 kg, Median Gruppe C1-AK-neg: 1,9 kg)

3.1.3. Geschlechtsverteilung

In der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) waren 51 % der Kaninchen (62/122) männlich und 49 % der Kaninchen (60/122) weiblich. In der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) waren 51 % (74/144) weiblich und 49 % (72/144) männlich. In der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) waren 52 % (50/97) weiblich und 48 % (47/97) männlich. Die Geschlechtsverteilung war statistisch nicht signifikant ($p = 0,806$; $0,914$).

3.2. Klinische Symptomatik

Symptome des **Problemkomplexes ZNS** zeigten 89 % (108/122) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose), 86 % (124/144) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und 78 % (76/97) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) (siehe Tabelle 10). Eine **Kombination von Parese und Vestibularsyndrom** wurde bei 6 % (6/108) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) und bei 18 % (22/124) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit

Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) festgestellt. Bei Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) kam diese Kombination nicht vor. **Sonstige neurologische Symptome** (wie Seitenlage, Somnolenz, Kopftremor und Anfälle) wiesen 13 % (14/108) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose), 9 % (11/124) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und 26 % (20/76) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) auf.

Tabelle 10: Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes ZNS bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.) in Prozent (%)

Problemkomplex ZNS	Gr. A	Gr. C1-AK-pos.	Gr. C1-AK-neg.
Vestibularsyndrom	67 % (72/108)	89 % (111/124)	47 % (36/76)
Parese	26 % (28/108)	19 % (24/124)	26 % (20/76)
Kombination Vestibularsyndrom/Parese	6 % (6/108)	18 % (22/124)	0 % (0/76)
sonstige Symptome	13 % (14/108)	9 % (11/124)	26 % (20/76)
gesamt	89 % (108/122)	86 % (124/144)	78 % (76/97)

Symptome des **Problemkomplexes Niere** zeigten 24 % (29/122) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose), 18 % (26/144) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und 22 % (21/97) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes Niere bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.) in Prozent (%)

Problemkomplex Niere	Gr. A	Gr. C1-AK-pos.	Gr. C1-AK-neg.
----------------------	-------	----------------	----------------

Azotämie	66 % (19/29)	46 % (12/26)	38 % (8/21)
Polyurie/Polydipsie	34 % (10/29)	54 % (14/26)	62 % (13/21)
gesamt	24 % (29/122)	18 % (26/144)	22 % (21/97)

Symptome **des Problemkomplexes Auge** wurde bei 14 % (17/122) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose), bei 11 % (16/144) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und bei 4 % (3/97) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) nachgewiesen (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes Auge bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.)

Problemkomplex Auge	Gr. A	Gr. C1-AK-pos.	Gr. C1-AK-neg.
Uveitis	18 % (3/17)	44 % (7/16)	75 % (2/3)
kornealer Ulkus	18 % (3/17)	56% (9/16)	0 % (0/3)
Konjunktivitis	65 % (11/17)	31 % (5/16)	25 % (1/3)
gesamt	14% (17/122)	11 % (16/144)	4 % (3/97)

Ein **Kombination von Symptomen** (neurologische Störungen, Niereninsuffizienz und Augenveränderung) zeigten 26 % (32/122) der Kaninchen der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose), 15 % (22/144) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) und nur 3 % (3/97) der Kaninchen der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest).

Bei 53 % (51/97) der Kaninchen von Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) wurde die Diagnose sicher gestellt. Bei den Kaninchen mit neurologischen Störungen wurde in 24% (12/51) eine Otitis, in 18 % (9/51) ein Trauma, in 10 % (5/51) eine Commotio und in 6 % (3/51) eine Toxoplasmose festgestellt. Zwei Tiere wiesen einen Sonnenstich und ein Tier eine Epilepsie auf. Bei den Kaninchen mit einer

Niereninsuffizienz wurde bei 27 % (14/51) eine Urolithiasis und bei 8 % (4/51) eine interstitielle Nephritis mittels Ultraschall bewiesen. Ein Tier hatte einen Nierentumor.

3.3. Labordiagnostische Parameter

Bei der vergleichenden statistischen Auswertung der labordiagnostischen Parameter von **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) mit Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) zeigten sich statistisch **signifikante Unterschiede** ($p < 0,05$) in den Parametern Thrombozyten, Leukozyten, CK und Harnstoff (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Vergleich der Mediane des Blutbildes und der Enzyme von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (C1-AK-pos., n = 144)

Parameter	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr. A	Gr. C1-AK-pos.		
RBC	x 10 ¹² /l	6,0	6,3	0,238	5,3 – 8,1
Hb	g/l	7,8	8,2	0,207	7,0 – 0,6
Hkt	l/l	0,39	0,40	0,208	0,36 – 0,55
Thrombozyten	x 10 ⁹ /l	607	558	0,002	139 – 725
WBC	x 10 ¹² /l	8,6	7,7	0,002	3,0 – 11,9
stabk. neutro. Gr.	x 10 ⁹ /l	3703	4950	0,248	820 – 5031
Lymphozyten	x 10 ⁹ /l	3540	3260	0,163	1567 – 7870
ALT	U/l	36	31	0,076	0 – 61
AST	U/l	19	18	0,114	0 – 28
AP	U/l	46	56	0,076	0 – 397
GLDH	U/l	5,1	4,9	0,400	0 – 19
CK	U/l	1240	321	0,001	0 – 958

Fortsetzung Tabelle 13: Vergleich der Mediane der Substrate und Elektrolyte von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (C1-AK-pos., n = 144)

Parameter	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr.A	Gr. C1-Ak.-pos.		
Eiweiß	g/l	65,4	69	0,235	48,9 – 73,9
Albumin	g/l	48,9	51	0,258	35,6 – 56,8
Harnstoff	mmol/l	8,9	7,1	0,002	2,0 – 8,4
Kreatinin	µmol/l	99	110	0,618	34 – 166
Glukose	mmol/l	7,9	8,0	0,495	5,8 – 14,8
Natrium	mmol/l	144	143	0,223	139 – 149
Kalium	mmol/l	4,5	4,2	0,371	3,7 – 6,3
Calcium	mmol/l	3,4	3,5	0,467	3,1 – 3,9
Phosphat	mmol/l	1,4	1,5	0,318	0,8 – 3,1
Chlorid	mmol/l	96	97	0,131	93 – 109

Bei der vergleichenden statistischen Auswertung der labordiagnostischen Parameter von **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) mit Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) bei den Parametern RBC, Hämoglobin, Leukozyten, ALT, CK und Eiweiß (siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Vergleich der Mediane des Blutbildes und der Enzyme von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörperntest (C1-AK-neg., n = 97)

Parameter	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr. A	Gr. C1-AK-neg.		
RBC	x 10 ¹² /l	6,0	6,4	0,033	5,3 – 8,1
Hämoglobin	g/l	7,8	8,6	0,004	7,0 – 0,6
Hämatokrit	l/l	0,39	0,42	0,208	0,36 – 0,55
Thrombozyten	x 10 ⁹ /l	607	570	0,002	139 – 725
Leukozyten	x 10 ¹² /l	8,6	7,2	0,001	3,0 – 11,9
stabk. neutro. Gr.	x 10 ⁹ /l	3703	3872	0,248	820 – 5031
Lymphozyten	x 10 ⁹ /l	3540	2540	0,163	1567 – 7870
ALT	U/l	36	37	0,013	0 – 61
AST	U/l	19	17	0,114	0 – 28
AP	U/l	46	49	0,076	0 – 397
GLDH	U/l	5,1	4,1	0,400	0 – 19
CK	U/l	1240	526	0,013	0 – 958

Fortsetzung Tabelle 14: Vergleich der Mediane der Substrate und der Elektrolyte von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (C1-AK-neg., n = 97)

Substrate	Einheit	Median		p-Wert	Referenzbereich
		Gr.A	Gr. C1-Ak.-neg.		
Eiweiß	g/l	65,4	60	0,015	48,9 – 73,9
Albumin	g/l	48,9	48	0,258	35,6 – 56,8
Harnstoff	mmol/l	8,9	7,3	0,002	2,0 – 8,4
Kreatinin	µmol/l	99	88	0,618	34 – 166
Glukose	mmol/l	7,9	8,9	0,495	5,8 – 14,8
Natrium	mmol/l	144	141	0,223	139 – 149
Kalium	mmol/l	4,5	4,3	0,371	3,7 – 6,3
Calcium	mmol/l	3,4	3,3	0,467	3,1 – 3,9
Phosphat	mmol/l	1,4	1,5	0,318	0,8 – 3,1
Chlorid	mmol/l	96	106	0,131	93 – 109

3.4. Verlauf

In der **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) überlebten 6 % (7/122) der Kaninchen, bei 94 % (115/122) der Fälle war der Verlauf letal. 86 % (105/122) der Kaninchen wurden aufgrund der Schwere ihrer Symptome eingeschläfert und 8 % (10/122) verstarben. In der Gruppe **C1-AK-pos.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) überlebten 78 % (112/144) der Kaninchen, 12 % (18/144) der Kaninchen wurden eingeschläfert und 10 % (14/144) der Kaninchen verstarben. In der Gruppe **C1-AK-neg.** (Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest) überlebten 60 % (58/97) der Kaninchen, 23 % (22/97) der Kaninchen wurden eingeschläfert und 18 % (17/97) der Kaninchen verstarben.

3.5. Pathologische Befunde

In **Gruppe A** (Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose) wurde bei 115 (115/122) Kaninchen eine für die Enzephalitozoonose typische granulomatöse Meningoenzephalitis nachgewiesen. 80 Tiere (80/115) zeigten eine interstitielle Nephritis. Einen Zusatzbefund zur Enzephalitozoonose wiesen 41 Kaninchen auf. Bei elf Tieren (11/1115) Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörper wurde ein Befund diagnostiziert, der die neurologischen Störungen ebenfalls erklären könnte: Otitis, nekrotisierende Myelopathie, Rückenmarksmalazie, eosinophile Meningoenzephalitis, Coxarthrose, Sarkosporidienzysten, hyalinscholliger Zerfall der Skelettmuskulatur durch Vitamin E/Selen-Mangel. Acht Tiere hatten einen zusätzlichen gastrointestinalen Befund. Sieben Tiere zeigten eine Sepsis, fünf Tiere eine Infektion, vier Tiere einen Tumor, drei Tiere eine Pneumonie, zwei Tiere eine Hepatopathie und ein Tier eine Herzinsuffizienz.

V. DISKUSSION

Der **erste Teil der Studie** sollte zeigen, wie hoch die *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenz bei Kaninchen in Bayern und wie hoch die Sensitivität der *E.-cuniculi*-Antikörperbestimmung ist. Von den in der Studie **insgesamt getesteten Kaninchen** waren 43 % (336/773) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. In einer älteren Studie von NEUWIRTH von 1988 zeigten unselektierte Kaninchen in Bayern eine Antikörperprävalenz von 41 % (17/42). In Nord-Deutschland wiesen zwischen 42 % (84/200) bis 48 % (125/277) der getesteten Kaninchen Antikörper gegen *E.-cuniculi* auf (MEYER-BRECKWOLDT, 1996; EWRINGMANN & GÖBEL, 1999). In zwei Studien in England waren gesunde Heimtierkaninchen zu 52 % (50/97) (KEEBLE & SHAW, 2006) und zu 59 % (74/125) aller Kaninchen (HARCOURT-BROWN & HOLLOWAY, 2003) Antikörper-positiv. Eine randomisierte Studie an 125 Heimtierkaninchen aus Süd-Italien zeigte sogar eine Antikörperprävalenz von 69 % (116/167) (DIPINETO et al., 2007). Das lässt darauf schließen, dass die Enzephalitozoonose tatsächlich weltweit in Kaninchenpopulationen verbreitet ist und je nach Patientenkollektiv die Antikörperprävalenz ähnlich ist.

Bei **kranken Kaninchen**, unabhängig von der Symptomatik, wurden in dieser Studie bei 48 % (266/488) Antikörper gegen *E. cuniculi* nachgewiesen. Die Literatur stellte bei kranken Kaninchen eine *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenz von 87 % (46/53) bei EWRINGMANN-GÖBEL (1999), 67 % (42/80) bei HARCOURT-BROWN und HOLLOWAY und bei 78 % (144/184) bei CSOKAI und Mitarbeiter (2009) fest. Das Ergebnis dieser Studie liegt damit niedriger als die Angaben in der Literatur und erklärt sich möglicherweise daraus, dass in dieser Studie kranke Kaninchen mit und ohne *E.-cuniculi*-typische Symptome getestet wurden, während bei anderen Studien unter dem Begriff kranke Kaninchen, teilweise nur die „verdächtigen“ Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen untersucht wurden.

Die Gruppe der kranken Kaninchen wurde in dieser Studie unterteilt in Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, *E.-cuniculi*-verdächtige Kaninchen und *E.-cuniculi*-unverdächtige Kaninchen. In der vorliegenden Studie waren 96 % (91/95) der Kaninchen mit **bewiesener Enzephalitozoonose** *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. In der Literatur wird keine vergleichbare Studie der

Antikörperprävalenz von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose beschrieben. Kaninchen, die aufgrund ihrer *E.-cuniculi*-typischen Symptome aus den Problemkomplexen ZNS, Niere und Auge in die Gruppe ***E.-cuniculi*-verdächtig** eingeordnet wurden, waren in dieser Studie in 73 % der Fälle (144/241) *E.-cuniculi*-Antikörpertiter-positiv. In den klinisch prospektiven Studien von HARCOURT-BROWN und HOLLOWAY (2003), KÜNZEL und Mitarbeiter (2008) sowie EWRINGMANN und GÖBEL (1999) zeigten Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen aus den Problemkomplexen ZNS, Niere und Auge in 87 % (46/53), in 67 % (42/80) und in 78 % (144/184) der Fälle Antikörper gegen *E.-cuniculi*. Die Ergebnisse der Studien sind also ähnlich, was bedeutet, dass 10 – 30 % der verdächtigen Kaninchen nicht nur *E.-cuniculi*-Antikörper-negativ sind, sondern es bei diesen Tieren auch eine andere Ursache für die Symptome gibt, die gefunden werden muss. Auch wenn 70 – 90 % der Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen auch mit *E. cuniculi* infiziert sind, ist ein Rückschluss darauf, ob die Infektion auch Ursache der klinischen Symptome ist, trotzdem nicht möglich. Eine ausführliche Ausschlussdiagnostik sollte also immer durchgeführt werden, auch bei *E.-cuniculi*-Antikörper-positiven Kaninchen.

Kranke, ***E.-cuniculi-unverdächtige*** Kaninchen zeigten in dieser Studie in 14 % (39/218) der Fälle Antikörper gegen *E. cuniculi*. Bei CSOKAI und Mitarbeiter (2009) waren 50 % (17/38) der kranken Kaninchen mit *E.-cuniculi*-unspezifischer Symptomatik *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Die unterschiedlichen Ergebnisse beruhen möglicherweise darauf, dass in dieser Studie alle Kaninchen sehr sorgfältig untersucht wurden und so bereits leichte neurologische Ausfälle oder labordiagnostische Abweichungen der Nierenparameter zur Eingruppierung in die Gruppe „*E.-cuniculi*-typische Symptome“ führte, was in den anderen Studien vielleicht nicht der Fall war und so mehr Tiere in der „unverdächtigen Gruppe“ infiziert waren.

Gesunde Kaninchen waren in dieser Studie in 18 % der Fälle *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Laut Literatur schwankt die *E.-cuniculi*-Antikörperprävalenz in Deutschland bei gesunden Kaninchen zwischen 35 % (KÜNZEL et al., 2009), über 37 % (EWRINGMANN & GÖBEL, 1999) und 40 % (MEYER-BRECKWOLDT, 1996). In Italien wurden von DIPINETO und Mitarbeiter (2006) 68 % der klinisch gesunden Tiere *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv getestet,

und bei KEEBLE und SHAW(2006) in England waren 52 % Antikörper-positiv. In einer neueren, randomisierten Studie (SANTANIELLO et al., 2009) an 1600 Farmkaninchen in Süd-Italien wurde bei 31 % (505/1600) der untersuchten Seren Antikörper gegen *E. cuniculi* gefunden. Das Ergebnis der vorliegenden Studie spricht dafür, dass in Bayern aktuell deutlich weniger gesunde Kaninchen mit *E. cuniculi* infiziert sind als dies in früheren Studien der Fall war. Ursache hierfür sind möglicherweise die bessere tierärztliche Versorgung der Heimtiere und die entsprechend bessere Aufklärung der Besitzer über präventive Maßnahmen. Da sowohl bei gesunden als auch bei kranken Kaninchen *E.-cuniculi*-Antikörper nachgewiesen wurden und viele dieser positiv-getesteten Tiere niemals eine klinisch manifeste Enzephalitozoonose entwickeln, zeigt das Ergebnis dieser Studie auch, dass eine Testung auf *E.-cuniculi*-Antikörper zwar ein Hinweis für eine Infektion mit dem *E. cuniculi*, aber nicht beweisend für eine akute Enzephalitozoonose ist.

Die **Sensitivität des *E.-cuniculi*-Antikörpertests** lag in der vorliegenden Studie bei 96 %. Eine ähnliche Korrelation zwischen Antikörper und pathohistologischem Befund wurde bereits von WALLER (1977) und SCHARMANN und Mitarbeiter (1986) beschrieben. Die Sensitivität des Tests ist mit 96 % sehr hoch, d. h. nur bei 4 % der Tiere war der Antikörpertest gegen *E. cuniculi* falsch negativ. Die Enzephalitozoonose wurde bei diesen Tieren durch den Goldstandard, den pathologisch-anatomischen Nachweis, diagnostiziert. Es ist davon auszugehen, dass die Menge nachweisbarer Antikörper, die im Blut der Kaninchen zirkulieren, nicht mit dem Krankheitsbild korreliert. Ein positiver Antikörpertest kann nur eine Aussage darüber machen, ob die Tiere mit *E. cuniculi* infiziert sind. Die Anwesenheit von Antikörpern gibt keine Auskunft, ob der Erreger Ursache der klinischen Symptome ist und ob Erreger ausgeschieden werden. Bei einem kranken Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischen Symptomen sollte daher nur ein sehr hoher *E.-cuniculi*-Antikörpertiter im Blut als gewisse Diagnosehilfe fungieren. Niedrige und mittelhohe Titer sollten überhaupt nicht interpretiert werden. Bei vier Prozent der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose wurden keine Antikörper gegen *E. cuniculi* nachgewiesen. Hierfür gibt es drei mögliche Ursachen. Entweder die Kaninchen bilden trotz Infektion keine nachweisbaren Antikörper oder es sind alle vorhandenen Antikörper durch Erreger gebunden oder der Test ist nicht sensitiv genug. Alle

Varianten sind möglich. Negative Testergebnisse bei nachweislich *E.-cuniculi*-infizierten Kaninchen wurden bei LEVKUT (1997) bei immunsupprimierten Kaninchen beobachtet, bei CSOKAI (2009) bei Kaninchen mit gleichzeitig bestehendem malignen Lymphom. Auch junge, nicht immunkompetente Kaninchen in der sechsten bis achten Lebenswoche wurden trotz nachweislicher Infektion *E.-cuniculi*-Antikörper-negativ getestet (COX & GALLICHIO, 1978). Es ist also durchaus möglich, dass die 4 % der bewiesenen Kaninchen auf Grund von Immunsuppression tatsächlich keine Antikörper gebildet haben oder ihre Menge unter der Nachweisgrenze lagen. Eine vollständige Bindung der vorhandenen Antikörper bei massiven Infektionen ist auch bei anderen Tierarten (z. B. FIP der Katze) beschrieben und wäre bei einer klinisch manifesten Enzephalitozoonose ebenfalls denkbar. Dass falsch-negative *E.-cuniculi*-Antikörpertestergebnisse auch methodisch bedingt sein können, wird bereits bei JASS (2004) diskutiert. Bei dem Nachweis von Antikörpern werden sogenannte „Titer“ bestimmt. Titer geben die Mengen von Antikörpern bezogen auf Serumverdünnungsstufen an, die noch eine positive Reaktion mit dem Reaktionspartner (z. B. Agglutination, Präzipitation, Komplementbindung) hervorrufen. Noch ist unklar, wie sensitiv der *E.-cuniculi*-Antikörper-ELISA tatsächlich ist und ob geringe Antikörpermengen überhaupt angezeigt werden können, und ob es Kreuzreaktionen zwischen unterschiedlichen *E.-cuniculi*-Typen gibt. Bei einem kranken Kaninchen mit *E.-cuniculi*-typischer Symptomatik und negativem Test sollte entsprechend nicht nur eine ausführliche Ausschlussdiagnostik erfolgen, sondern ggf. auch die Antikörperbestimmung wiederholt werden. Bei einem gesunden Kaninchen schließt ein negativer Test das Vorhandensein von *E. cuniculi* aber weitgehend aus. Der Test kann also z. B. für das Management in Kaninchenbeständen und -zuchten eingesetzt werden. In einem geschlossenen, *E.-cuniculi*-freien Bestand sollte jedes neue Kaninchen und jeder Rammler, der zum Decken verwendet wird, vorher getestet werden.

Der **zweite Teil der Studie** sollte klären, ob es Unterschiede in Signalement und labordiagnostischen Parametern zwischen Kaninchen mit pathologisch-anatomisch nachgewiesener Enzephalitozoonose und gesunden Kaninchen gibt und ob diese Unterschiede zur Diagnose der Krankheit beim lebenden Tier herangezogen werden könnten. Kaninchen mit **bewiesener Enzephalitozoonose** zeigten in dieser Studie signifikante Abweichungen ($p < 0,05$) im **Signalement** in Bezug auf **Alter** und **Gewicht** von klinisch **gesunden Kaninchen**.

Studienkaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose waren signifikant leichter und älter als die klinisch gesunden Vergleichskaninchen. Laut KEEBLE und SHAW (2006) und MEYER-BRECKWOLDT (1996) ist das Vorhandensein von *E.-cuniculi*-Antikörpern bei Kaninchen alters- und geschlechtsunabhängig. Abweichungen im Signalement zwischen an Enzephalitozoonose erkrankten Tieren und gesunden Tieren wurden aber nicht untersucht. Die Enzephalitozoonose ist eine Krankheit mit chronischem, oft schleichendem Verlauf, die oft viele Jahre klinisch inapparent verlaufen kann (COX et al., 1979), was das höhere Alter der Tiere mit klinisch-manifester Enzephalitozoonose erklärt. So waren in der Studie von EWRINGMANN und GÖBEL (1999) alle Kaninchen mit Zeichen einer Niereninsuffizienz älter als vier Jahre. Die Manifestation v. a. in Nieren und ZNS führt je nach Ausprägung zur Verschlechterung des Allgemeinbefindens und somit zu reduzierter Futteraufnahme mit nachfolgendem Gewichtsverlust (HARTCOURT & HOLLOWAY, 2003) und somit niedrigerem Gewicht gegenüber den gesunden Vergleichstieren. Da chronische Krankheiten mit dem Alter zunehmen und Gewichtsverlust ein unspezifisches Symptom für viele Krankheiten ist, können diese Unterschiede jedoch nicht zur Diagnosestellung der Enzephalitozoonose herangezogen werden, sie können die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer klinisch manifesten Enzephalitozoonose aber unterstützen. Bei der Geschlechtsverteilung konnte kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) zwischen den Gruppen festgestellt werden. Dieses deckte sich auch mit den Ergebnissen anderer Studien (KEEBLE & SHAW, 2002).

Bei den **labordiagnostischen Parametern** zeigten die **Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose** im Vergleich mit den *Encephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-negativen, **gesunden Kaninchen** eine signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Erythrozyten- und Lymphozytenzahl, eine niedrigere Konzentration von Hämoglobin und Hämatokrit, eine erhöhte Zahl der Leukozyten, stabkerniger Granulozyten und Thrombozyten, eine erhöhte Aktivität der Enzyme AST, AP, GLDH, CK, eine erhöhte Konzentration von Eiweiß, Harnstoff, Kreatinin und eine erniedrigte Konzentration von Albumin, Kalium und Calcium. Es gibt in der Literatur bisher nur Angaben über labordiagnostische Parameterveränderungen bei Kaninchen mit vermeintlich verdächtiger Enzephalitozoonose. So waren in der Studie von EWRINGMANN und GÖBEL (1999) bei den *E.-cuniculi*-Antikörper-

positiven Tieren mit Niereninsuffizienz folgende Parameter signifikant gegenüber den Antikörper-positiv gesunden Kaninchen verändert: höhere Konzentrationen von Harnstoff, Kreatinin und Kalium, höhere Leukozytenzahl, höhere Aktivität von GOT und GLD, niedrigere Konzentrationen von Hämoglobin, Hämatokrit und Natrium und niedrigere Erythrozytenzahl. In keiner anderen Studie wurde bis jetzt labordiagnostische Parameterveränderungen von Kaninchen mit pathohistologisch bewiesener Enzephalitozoonose beschrieben. Die labordiagnostischen Befunde bei Enzephalitozoonose sind abhängig von der Lokalisation und Menge der Schädigung der entsprechenden Organe. Abfall von Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration können in dieser Studie zum einen auf die verminderte Erythropoetinbildung bei Nierenbeteiligung zurückgeführt (KRAFT et al., 2005) werden und zum anderen auf die bei chronischen Krankheiten häufig vorkommende Tendenz zur chronisch, milden, aregenerativen Anämie (KRAFT et al., 2005). Die erhöhte Leukozytenzahl ist Ausdruck der häufigen bakteriellen Sekundärinfektion. Die meisten Unterschiede zwischen den Gruppen waren zwar signifikant, die Medianwerte der Parameter lagen aber überwiegend im Referenzbereich, sind somit nicht von klinischer Relevanz und für eine alleinige Diagnosestellung daher nicht verwertbar.

Über dem Referenzbereich lagen in der vorliegenden Studie bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose nur die Mediane der Harnstoff- und CK-Konzentration. Die **Harnstoff**-Konzentration ist abhängig von prärenalen, renalen und postrenalen Komponenten. Die prärenale Komponente ist bei der Enzephalitozoonose von Bedeutung, wenn die Tiere bedingt durch Anorexie dehydrieren und es so zu einer Anreicherung der harnpflichtigen Stoffe kommt. Die Nahrungsabhängigkeit der Harnstoff-Konzentration spielt beim Herbivoren keine Rolle; ähnlich wie beim Fleischfresser kann eine isolierte Erhöhung der Harnstoff-Konzentration aber auch eine Folge von Magen-Darm-Blutungen sein, die auch bei erregerbedingten Darmschädigungen auftreten können. Eine renale Erhöhung der Harnstoff-Konzentration tritt bei Enzephalitozoonose vor allem im Rahmen der fortschreitenden Schädigung der Nieren auf. Typischerweise steigen bei einer renalen Beeinflussung aber die Konzentrationen von Harnstoff und Kreatinin an. Der Medianwert des Kreatinins war im Gruppenvergleich signifikant erhöht, lag aber innerhalb des Referenzbereichs. Dass die Enzephalitozoonose nur zu einer prärenalen isolierten Erhöhung der Harnstoff-

Konzentration führt, ist unwahrscheinlich, da nachgewiesen ist, dass die Nierenbeteiligung in den vielen Fällen früher oder später mit einer manifesten Einschränkung der Nierenfunktion einhergeht und somit die Ausscheidung aller harnpflichtigen Stoffe eingeschränkt ist. Es stellt sich somit die Frage, ob das Verhältnis der harnpflichtigen Stoffe beim Kaninchen anders ist als bei Hund und Katze und die Kreatinin-Konzentration somit weniger aussagekräftig ist. Alternativ wäre es möglich, dass die Messung der Kreatinin-Konzentration beim Kaninchen möglicherweise weniger sensitiv ist oder der verwendete Referenzbereich für die Kreatinin-Konzentration möglicherweise zu weit ist und der Median der Kreatinin-Konzentration daher noch im Referenzbereich ist. Fragen die weitere Untersuchungen erfordern.

Die **CK** katalysiert die Übertragung einer Phosphorylgruppe von Kreatinphosphat auf Adenosindiphosphat (ADP), wobei Adenosintriphosphat(ATP) entsteht, das zur Aufrechterhaltung der Kontraktionsfähigkeit von Muskelzellen benötigt wird (STRYER, 1999). Die Skelettmuskulatur enthält hohe Mengen an CK, die bei Zellschädigung (PARENT, 2006) und bei hoher körperlicher Belastung ins Blut gelangt (KRAFT et al., 2005). Die erhöhte Aktivität der CK bei Kaninchen mit Enzephalitozoonose entsteht also typischerweise durch Muskeltraumata, die bei Tieren mit Vestibularsyndrom z. B. durch das Rollen auftreten können. Da Kaninchen mit anderen Formen von Muskelschädigungen, z. B. durch spontane Traumata, bei Stürzen und Verletzungen, Infektionen oder physiologische hohe Muskelaktivitäten wie beim Deckakt, aber sogar deutlich höhere CK-Konzentrationen zeigen können, ist auch die CK-Aktivität allein betrachtet nicht diagnostisch für die Enzephalitozoonose. Da die CK-Aktivität bei Kaninchen mit Enzephalitozoonose nach den Ergebnissen dieser Studie nur geringgradig über dem Referenzbereich liegt, kann diese eher im Rahmen der Ausschlussdiagnostik verwendet werden. So sprechen CK-Aktivitäten, die mehr als doppelt- bis dreifach über dem Referenzbereich liegen (< 2000 IU/l) eher für Traumata oder ungewohnte massive Muskelbewegungen (z. B. Deckakt) als für eine Enzephalitozoonose (HEIN & HARTMANN, 2001).

Der **dritte Teil der Studie** sollte klären, ob es bei Kaninchen mit **bewiesener Enzephalitozoonose** und Kaninchen mit **Enzephalitozoonose-Verdacht** (*E.-cuniculi*-Antikörper positiv oder negativ) Unterschiede in Signalement,

Symptomen und labordiagnostischen Parametern gibt, die für die *in-vivo*-Diagnosestellung der Enzephalitozoonose herangezogen werden können. In Bezug auf das **Signalement** wurden im Vergleich von Gewichts-, Geschlechts- und Altersverteilung der Tiere der drei Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p < 0,05$) festgestellt. Das Signalement des Tieres ist also bei der Diagnosestellung nicht hilfreich.

Da die **klinische Symptomatik** Einschlusskriterium für die Studie war, kann hier nicht von Bedeutung sein, ob die Tiere klinische Symptome aus den Problemkomplexen ZNS, Nieren und Auge zeigen, sondern welche Symptome in welchen Gruppen überwiegen. Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest zeigten vor allem typische neurologische Enzephalitozoonose-Symptome, wie Vestibularsyndrom, Paresen oder die Kombination aus beiden Symptomen, Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest dagegen häufiger abweichende neurologische Symptome, wie Seitenlage, Somnolenz, Kopftremor und Anfälle. Azotämie wurde häufiger bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (66 % (19/29)) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (46 % (12/26)) festgestellt. Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (38 % (8/21)) zeigten häufiger das Symptom Polyurie/Polydipsie. Symptome des Problemkomplexes Auge wurde bei den Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (14 % (17/122)) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (11 % (16/144)) prozentual ähnlich häufig beobachtet, aber nur bei insgesamt 4% (3/97) der Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest. Die Uveitis, und hier speziell die phakoklastische Uveitis, gilt als eines der Leitsymptome der Enzephalitozoonose (KÜNZEL et al., 2009). Es sollte nicht überbewertet werden, dass zwei der drei *E.-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen mit Augenveränderungen eine Uveitis hatten, da fraglich ist, ob die Augen der Tiere untersucht wurden, weil auf Grund anderer Symptome der Verdacht auf Enzephalitozoonose bestand oder umgekehrt. Kombinationen der typischen klinischen Symptome (neurologische Störungen, Niereninsuffizienz und Augenveränderung) wurden in dieser Studie bei 26 % der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, bei 15 % der Kaninchen mit

Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest beobachtet und bei 3 % der Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest. Grund für das häufige Auftreten von Symptomkombinationen bei Enzephalitozoonose ist die hämatogene Verteilung der Erreger im Körper. Gut durchblutete Organe, wie Nieren und ZNS, sind besonders stark betroffen, so dass es häufig zu mehreren Symptomen gleichzeitig kommt. Bei den *E.-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen konnten in 53 % (51/97) der Fälle Krankheiten, wie Otitis, Trauma und Urolithiasis etc., als Ursache für die verdächtige Symptomatik gefunden werden. Keine dieser Krankheiten betrifft mehrere Organe gleichzeitig. Das gemeinsame Vorkommen von mehreren typischen Symptomen spricht also eher für das Vorliegen einer Enzephalitozoonose als für andere Differentialdiagnosen, ist aber wiederum nicht beweisend.

Bei den **labordiagnostischen Parametern** zeigten sich signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in allen Gruppenvergleichen. Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose hatten gegenüber den anderen Gruppen u. a. signifikant höhere Leukozytenzahlen, eine höhere CK-Aktivität und eine erhöhte Harnstoff-Konzentration. Wie im Vergleich von bewiesenen und gesunden Kaninchen bereits herausgestellt, gibt es keine labordiagnostischen Parameter, die ausschließlich bei einer Enzephalitozoonose vorkommen. Jeder dieser Parameter kann durch die Lokalisation der Veränderung und die Schwere der Krankheit erklärt werden und ist so ebenfalls wieder nicht zur Diagnosestellung geeignet. Eine ausführliche Ausschlussdiagnostik ist daher immer unumgänglich.

Abschließend kann zu dieser Studie gesagt werden: Auf Grund typischer ZNS-, Nieren- und/oder Augen-Problemen kann Verdacht auf eine klinisch manifeste Enzephalitozoonose gestellt werden, nicht aber die Diagnose. Auch Signalement und labordiagnostische Untersuchungen ermöglichen dies nicht. Der *E.-cuniculi*-Antikörpernachweis, der mit einer Sensitivität von 96 % sehr gut ist, kann eine Infektion mit *E. cuniculi* im negativen Fall bei einem gesunden Tier mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen und ist so wertvoll v. a. im Monitoring von Beständen. Im positiven Fall beweist er das Vorliegen einer Infektion mit *E. cuniculi* relativ sicher, nicht aber die klinische Manifestation. Da nicht jede Infektion auch zu klinischen Symptomen führt, sondern oft lebenslang klinisch inapparent verlaufen kann, und auf der anderen Seite auch Tiere mit bewiesener

Enzephalitozoonose andere Krankheiten haben, die vergleichbare Symptome und labordiagnostische Veränderungen hervorrufen können, spielt auch bei positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest die Ausschlussdiagnostik die entscheidende Rolle. Die Urin-PCR ist im positiven Fall beweisend für eine Ausscheidung von Erregern und somit wahrscheinlich eine klinische Manifestation, die mit dem Zugrundegehen von Tubuluszellen einhergehen kann, aber leider in ca. 50 % der Fälle falsch-negativ. Die Verdachtsdiagnose klinisch manifeste Enzephalitozoonose sollte entsprechend nur gestellt werden, wenn ein Kaninchen typische klinische und labordiagnostische Veränderungen zeigt, es *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv ist und die umfangreiche Ausschlussdiagnostik (Differentialblutbild, Serumparameter inkl. CK, ggf. Bulla-Röntgen etc.) keinen Hinweis auf eine andere Ursache der klinischen Symptome gibt. Unabhängig von der Therapie der zugrundeliegenden Ursache der klinischen Symptome sollte bei *E.-cuniculi*-Antikörper-positiven Kaninchen auch immer eine Therapie gegen *E. cuniculi* mit Fenbendazol (SIEG et al., 2010) durchgeführt werden, da *E. cuniculi* bisher nicht aus dem Körper eliminierbar ist und es bei Immunsuppression im Rahmen anderer Krankheiten auch zu einer Aktivierung der Enzephalitozoonose kommen kann. Da es nach wie vor keine sichere Möglichkeit der *in-vivo*-Diagnostik der Enzephalitozoonose gibt, bleibt die postmortale, pathohistologische Untersuchung vorläufig auch weiterhin „Goldstandard“ zur eindeutigen Diagnosestellung der Enzephalitozoonose.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Studie war die retrospektive Auswertung von Daten von Kaninchenpatienten mit bewiesener Enzephalitozoonose, Enzephalitozoonose-Verdacht und gesunden Kaninchen in Bezug auf Signalement, klinische Symptome und labordiagnostische Parameter. Es wurden drei verschiedene Fragestellungen bearbeitet.

Der erste Teil der Studie untersuchte die Antikörperprävalenz bei Kaninchen in Bayern, die Sensitivität der *E.-cuniculi*-Antikörperbestimmung und ihre Bedeutung im Rahmen der Diagnosestellung der Enzephalitozoonose bei lebenden Kaninchen. 773 gesunde und kranke Kaninchen wurden auf Antikörper gegen Enzephalitozoon(*E.*) *cuniculi* getestet. Bei kranken Kaninchen waren 48 % (266/555) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Kranke Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose waren in 96 % (91/95) der Fälle *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv, kranke *E.-cuniculi*-verdächtige Kaninchen in 60 % (144/214) und Kaninchen mit unspezifischen Symptomen nur in 14 % (31/219). Bei den gesunden Kaninchen waren 18 % (39/218) *E.-cuniculi*-Antikörper-positiv. Die Sensitivität der *E.-cuniculi*-Antikörperbestimmung betrug 96 %. Der *E.-cuniculi*-Antikörpertest ist somit ein sensitiver Test, um eine Infektion mit *E. cuniculi* zu beweisen, nicht aber eine klinisch manifeste Enzephalitozoonose.

Der zweite Teil der Studie prüfte, ob Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose Unterschiede gegenüber gesunden Kaninchen im Signalement und in labordiagnostischen Parametern aufwiesen, die als diagnostisches Mittel zur Diagnose der Enzephalitozoonose genutzt werden könnten. In diesen Teil der Studie wurden 122 Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose und 179 klinisch gesunde, *E.-cuniculi*-Antikörper-negative Kaninchen eingeschlossen. Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose waren signifikant ($p < 0,05$) leichter und älter als gesunde Kaninchen. Beim Vergleich der labordiagnostischen Parameter der beiden Gruppen ergaben sich für folgende Parameter signifikante Unterschiede: Zahl der Erythrozyten, Leukozyten, stabkernigen neutrophilen Granulozyten, Thrombozyten und Lymphozyten, Aktivitäten der Enzyme AST, AP, GLDH, CK, Konzentrationen des Hämoglobins, Hämatokrits, Eiweißes, Albumins, Harnstoffes, Kreatinins,

Kaliums und Calciums. Allerdings lagen nur die Medianwerte der Harnstoffkonzentration und der Creatininkinaseaktivität bei den Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose über dem Referenzbereich und sind somit von klinischer Bedeutung.

Der dritte Teil der Studie prüfte, ob es bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht (*E.-cuniculi*-Antikörper-positive und –negative Kaninchen) signifikante Unterschiede in Bezug auf Signalement, klinische Symptome und labordiagnostische Parameter gibt, die zur Diagnose der Enzephalitozoonose herangezogen werden könnten. In Bezug auf die klinische Symptomatik ergab der Vergleich eine ähnliche Häufung der Enzephalitozoonose typischen Symptome in den drei Gruppen. Allerdings differierte die klinische Ausprägung der Symptome in den einzelnen Gruppen. Beim Vergleich der labordiagnostischen Parameter von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit den *E.-cuniculi*-Antikörper-positiven Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht zeigten die Tiere bei folgenden Parametern signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede: Zahl der Leukozyten und Thrombozyten, Aktivität des Enzyms CK und Konzentration des Harnstoffes. Beim Vergleich der labordiagnostischen Parameter von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose mit den *E.-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht zeigten die Tiere bei folgenden Parametern signifikante Unterschiede: Zahl der Erythrozyten und Leukozyten, Aktivität der Enzyme CK und ALT, Konzentrationen des Hämatokrits, Harnstoffes und Eiweißes. Bei den *E.-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht konnte bei 53 % (51/97) mittels Ausschlußdiagnostik eine andere Diagnose als Enzephalitozoonose gestellt werden. Otitis und Urolithiasis waren die häufigsten Differentialdiagnosen. Die Kombination von *E.-cuniculi*-Antikörpertestung und ausführlicher Ausschlußdiagnostik stellt somit eine akzeptable Möglichkeit der Verdachtsdiagnose einer klinisch manifesten Enzephalitozoonose am lebenden Tier dar.

VII. SUMMARY

The aim of this study was the retrospective analysis and interpretation of data collected from rabbits with confirmed encephalitozoonosis, rabbits with suspected encephalitozoonosis and healthy rabbits, hereby focusing on individual descriptions, clinical symptoms and laboratory parameters. Three different issues were raised.

The first part of the study investigated the *Encephalitozoon (E). cuniculi* antibody prevalence in Bavarian rabbits and its relevance for the diagnosis of encephalitozoonosis in rabbits. A total of 773 healthy and diseased rabbits were tested for *E. cuniculi* antibodies. In all of the diseased rabbits 48 % (266/555) had an antibody. While 96 % (91/95) of the rabbits with histologically diagnosed encephalitozoonosis were antibody positive. Of the rabbits with suspected encephalitozoonosis 60 % (144/214) had an *E. cuniculi* antibody. Of the healthy rabbits 18 % (39/218) were *E. cuniculi* antibody positive. The sensitivity of the *E. cuniculi* antibody test amounted to 96 %. The *E. cuniculi* antibody test is thus a sensitive tool for detecting infection with the parasite, but not for proving clinically manifest encephalitozoonosis.

The second part of the study examined whether rabbits with proven encephalitozoonosis displayed differences in the signalement and hematological and biochemical parameters compared with healthy rabbits, which might serve as a parameter for diagnosis of the disease. In the study 122 rabbits diagnosed with encephalitozoonosis and 179 healthy rabbits with a negative *E. cuniculi* antibody test were included. Rabbits with proven encephalitozoonosis had less weight and were older than the healthy rabbits. A comparison of the blood and biochemical parameters for both groups showed significant differences in the following values : red blood cell count, haemoglobin, haematocrit, platelets, white blood cell count, neutrophils, lymphocytes, AST, AP, GLDH, CK, protein, albumin, urea, creatinine, potassium and calcium. However, only the median of urea and creatine kinase in the rabbits with proven encephalitozoonosis exceeded the reference range and could thus be clinically relevant.

The third part of the study examined whether rabbits with proven encephalitozoonosis and rabbits with suspected encephalitozoonosis (both *E.*

cuniculi antibody positive and negative rabbits) showed significant differences with regard to signalement, symptoms as well as hematological and biochemical parameters, which could be used for the diagnosis of the disease. The comparison of clinical symptoms showed that the encephalitozoonosis like symptoms occurred in all in the rabbits proven to have the disease than in those suspected of the disease with similar frequencies. However, the severities of the symptoms varied in the individual groups. The following blood and biochemical parameters of rabbits proved to have the disease and rabbits suspected of the disease and with a positive *E. cuniculi* antibody result showed significant differences in the following values: platelets, white blood cell count, CK and urea. The following blood and biochemical parameters of rabbits with proven encephalitozoonosis and rabbits suspected of the disease but with a negative *E. cuniculi* antibody result were significantly different in the following values: RBC, haemoglobin, white blood cell count, ALT, CK, protein. In 53 % (51/97) of the rabbits with a negative *E.-cuniculi*-antibody result, but with suspected disease a different diagnosis was made for the *E. cuniculi* symptoms. The most common diagnoses were otitis and urolithiasis. Hence, the combination of antibody testing and ruling out differential diagnosis constitutes a valuable tool for the detection and diagnosis of clinically manifest encephalitozoonosis in living animals.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Akerstedt J. An indirect ELISA for detection of encephalitozoon cuniculi infection in farmed blue foxes (*Alopex lagopus*). *Acta Vet Scand* 2002; 43: 211-20.

Arnesen K, Nordstoga K. Ocular encephalitozoonosis (nosematosis) in blue foxes. *Polyarteritis nodosa and cataract. Acta Ophthalmol (Copenh)* 1977; 55: 641-51.

Asakura T, Nakamura S, Ohta M, Une Y, Furuya K. Genetically unique microsporidian encephalitozoon cuniculi strain type isolated from squirrel monkeys. *Parasitol Int* 2006; 55: 159-62.

Ashton N, Wirasinha PA. Encephalitozoonosis (nosematosis) of the cornea. *Br J Ophthalmol* 1973; 57: 669-74.

Ashton N, Cook C, Clegg F. Encephalitozoonosis (nosematosis) causing bilateral cataract in a rabbit. *Br J Ophthalmol* 1976; 60: 618-31.

Barker RJ. The nature of encephalitozoon brumpti coulson, 1924. *J Parasitol* 1974; 60: 542-4.

Beckwith C, Peterson N, Liu JJ, Shaddock JA. Dot enzyme-linked immunosorbent assay (dot ELISA) for antibodies to encephalitozoon cuniculi. *Lab Anim Sci* 1988; 38: 573-6.

Bergquist R, Waller T. human microsporidiosis--does it exist? *Lakartidningen* 1984; 81: 1944-6.

Bidre C, Pages M, Metenier G, Canning EU, Vivares CP. Evidence for the smallest nuclear genome (2.9 mb) in the microsporidium encephalitozoon cuniculi. *Mol Biochem Parasitol* 1995; 74: 229-31.

Bismanis JE. Detection of latent murine nosematosis and growth of nosema cuniculi in cell cultures. *Can J Microbiol* 1970; 16: 237-42.

Bjerkas I. Brain and spinal cord lesions in encephalitozoonosis in blue foxes. Transmission and scanning electron microscopic studies. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1987; 95: 269-79.

Bjerkas I. Brain and spinal cord lesions in encephalitozoonosis in mink. *Acta Vet*

Scand 1990; 31: 423-32.

Blazek K, Koczková I, Lávicka M, Vávra J, Stehlík M. Nosematosis (encephalitozoonosis) bei Karnivoren. In: Verhandlungsbericht des XIV. Intern. Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere. Wrocław (Breslau) 1972: 369-71.

Bjerkas I, Nesland JM. Brain and spinal cord lesions in encephalitozoonosis in the blue fox. *Acta Vet Scand* 1987; 28: 15-22.

Boot R, van Knapen F, Kruijt BC, Walvoort HC. Serological evidence for encephalitozoon cuniculi infection (nosemiasis) in gnotobiotic guineapigs. *Lab Anim* 1988; 22: 337-42.

Botha WS, van Dellen AF, Stewart CG. Canine encephalitozoonosis in south africa. *J S Afr Vet Assoc* 1979; 50: 135-44.

Botha WS, Dormehl IC, Goosen DJ. Evaluation of kidney function in dogs suffering from canine encephalitozoonosis by standard clinical pathological and radiopharmaceutical techniques. *J S Afr Vet Assoc* 1986; 57: 79-86.

Botha WS, Stewart CG, van Dellen AF. Observations on the pathology of experimental encephalitozoonosis in dogs. *J S Afr Vet Assoc* 1986; 57: 17-24.

Brown RJ, Hinkle DK, Trevethan WP, Kupper JL, McKee AE. Nosematosis in a squirrel monkey (*saimiri sciureus*). *J Med Primatol* 1973; 2: 114-23.

Buyukmihci N, Bellhorn RW, Hunziker J, Clinton J. Encephalitozoon (nosema) infection of the cornea in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1977; 171: 355-7.

Bywater JE, Kellett BS. Encephalitozoon cuniculi antibodies in a specific-pathogen-free rabbit unit. *Infect Immun* 1978; 21: 360-4.

Bywater JE, Kellett BS. Humoral immune response to natural infection with encephalitozoon cuniculi in rabbits. *Lab Anim* 1979; 13: 293-7.

Bywater JE, Kellett BS, Waller T. Encephalitozoon cuniculi antibodies in commercially-available rabbit antisera and serum reagents. *Lab Anim* 1980; 14: 87-9.

Cali A. Morphogenesis in the genus *Nosema*. In: 4th Int. Colloquium on Infect. Pathologie Maryland USA 1970; 43: 1-8.

Chalupsky J, Vavra J, Bedrnik P. Detection of antibodies to encephalitozoon cuniculi in rabbits by the indirect immunofluorescent antibody test. *Folia Parasitol (Praha)* 1973; 20: 281-4.

Chalupsky J, Vávra J, Bedrnik P. The indirect fluorescent antibody test for *Nosema cuniculi*. *J Protozool* 1971; 18: 47.

Chalupsky J, Vavra J, Bedrnik P. Encephalitozoonosis in laboratory animals - a serological survey. *Folia Parasitol (Praha)* 1979; 26: 1-8.

Chumakov MP, Viting AI, Konosh OV, Ashmarina EE. Cultivation of encephalitozoon (*nosema*) *cuniculi* microsporidia in cultures of human and mouse embryo fibroblasts. *Med Parazitol (Mosk)* 1970; 39: 643-7.

Cole JR, Jr., Sangster LT, Sulzer CR, Pursell AR, Ellinghausen HC. Infections with encephalitozoon *cuniculi* and leptospira interrogans, serovars grippotyphosa and ballum, in a kennel of foxhounds. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 435-7.

Cox JC, Pye D. Serodiagnosis of nosematosis by immunofluorescence using cell-culture-grown organisms. *Lab Anim* 1975; 9: 297-304.

Cox JC. Altered immune responsiveness associated with encephalitozoon *cuniculi* infection in rabbits. *Infect Immun* 1977; 15: 392-5.

Cox JC, Gallichio HA. An evaluation of indirect immunofluorescence in the serological diagnosis of nosema *cuniculi* infection. *Res Vet Sci* 1977; 22:50-2.

Cox JC, Gallichio HA, Pye D, Walden NB. Application of immunofluorescence to the establishment of an encephalitozoon *cuniculi*-free rabbit colony. *Lab Anim Sci* 1977; 27: 204-9.

Cox JC, Gallichio HA. Serological and histological studies on adult rabbits with recent, naturally acquired encephalitozoonosis. *Res Vet Sci* 1978; 24: 260-1.

Cox JC, Hamilton RC, Attwood HD. An investigation of the route and progression of encephalitozoon *cuniculi* infection in adult rabbits. *J Protozool* 1979; 26: 260-5.

Cox JC, Pye D, Edmonds JW, Shepherd R. An investigation of encephalitozoon *cuniculi* in the wild rabbit *oryctolagus cuniculus* in victoria, australia. *J Hyg (Lond)* 1980; 84: 295-300.

Cox JC, Ross J. A serological survey of encephalitozoon cuniculi infection in the wild rabbit in England and Scotland. *Res Vet Sci* 1980; 28: 396.

Csokai J, Gruber A, Künzel F, Tichy A, Joachim A. Encephalitozoonosis in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Pathohistological findings in animals with latent infection versus clinical manifestation. *Parasitol Res* 2009; 104: 629-35.

Csokai J, Joachim A, Gruber A, Tichy A, Pakozdy A, Künzel F. Diagnostic markers for encephalitozoonosis in pet rabbits. *Vet Parasitol* 2009; 163: 18-26.

Cutlip RC, Beall CW. Encephalitozoonosis in arctic lemmings. *Lab Anim Sci* 1989; 39: 331-3.

Cutlip RC, Dennis ED. Retrospective study of diseases in a captive lemming colony. *J Wildl Dis* 1993; 29: 620-2.

Deeb BJ, In: *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Quesenberry KE, Carpenter JW, eds. St. Louis: Saunders 2004: 13-24.

Deeb BJ, and Carpenter JW. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Quesenberry KE, Carpenter JW, eds. St. Louis: Saunders 2004; 13-24.

De Groote MA, Visvesvara G, Wilson ML, Pieniazek NJ, Slemenda SB, daSilva AJ, Leitch GJ, Bryan RT, Reves R. Polymerase chain reaction and culture confirmation of disseminated encephalitozoon cuniculi in a patient with AIDS: Successful therapy with albendazole. *J Infect Dis* 1995; 171: 1375-8.

Deplazes P, Mathis A, Baumgartner R, Tanner I, Weber R. Immunologic and molecular characteristics of encephalitozoon-like microsporidia isolated from humans and rabbits indicate that encephalitozoon cuniculi is a zoonotic parasite. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 557-9.

Desser SS, Hong H, Yang YJ. Ultrastructure of the development of a species of encephalitozoon cultured from the eye of an AIDS patient. *Parasitol Res* 1992; 78: 677-83.

Didier ES, Varner PW, Didier PJ, Aldras AM, Millichamp NJ, Murphey-Corb M, Bohm R, Shaddock JA. Experimental microsporidiosis in immunocompetent and immunodeficient mice and monkeys. *Folia Parasitol (Praha)* 1994; 41: 1-11.

Didier ES, Vossbrinck CR, Baker MD, Rogers LB, Bertucci DC, Shaddock JA. Identification and characterization of three encephalitozoon cuniculi strains.

Parasitology 1995; 111: 411-21.

Dipineto L, Rinaldi L, Santaniello A, Sensale M, Cuomo A, Calabria M, Menna LF, Fioretti A. Serological survey for antibodies to encephalitozoon cuniculi in pet rabbits in Italy. Zoonoses Public Health 2008; 55: 173-5.

Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P. In: Koproskopische Verfahren (Kotuntersuchung), Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Stuttgart: Enke, 2005; 474-81.

El Naas A, Levkut M, Revajova V, Levkutova M, Hipikova V, Letkova V. Immune response to encephalitozoon cuniculi infection in laboratory mice. Vet Parasitol 1999; 82: 137-43.

Enriquez FJ, Wagner G, Fragoso M, Ditrich O. Effects of an anti-exospore monoclonal antibody on microsporidial development in vitro. Parasitology 1998; 117: 515-20.

Eröksüz Y, Eröksüz H, Özer H, Cevik A, Ünver Ö. A survey of Encephalitozoon cuniculi infection in rabbit colonies in Elazığ, Turkey: pathomorphologic and serologic (carbonimmunoassay test) studies. Isr. J Vet Med 1999; 54: 73-77.

Ewringmann A, Göbel T. Untersuchung blutchemischer Parameter bei Heimtierkaninchen. Kleintierprax 1998; 43: 411-92.

Ewringmann A, Göbel T. Untersuchungen zur Klinik und Therapie der Encephalitozoonose beim Heimtierkaninchen. Kleintierprax 1999; 44: 357-72.

Feaga WP. Wry neck in rabbits. J Am Vet Med Assoc 1997; 210: 480.

Flatt RE, Jackson SJ. Renal nosematosis in young rabbits. Pathol Vet 1970; 7: 492-7.

Franssen FF, Lumeij JT, van Knapen F. Susceptibility of encephalitozoon cuniculi to several drugs in vitro. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1265-8.

Franzen C, Schwartz DA, Visvesvara GS, Muller A, Schwenk A, Salzberger B, Fatkenheuer G, Hartmann P, Mahrle G, Diehl V, et al. Immunologically confirmed disseminated, asymptomatic encephalitozoon cuniculi infection of the gastrointestinal tract in a patient with AIDS. Clin Infect Dis 1995; 21: 1480-4.

Franzen C, Muller A, Hegener P, Salzberger B, Hartmann P, Fatkenheuer G,

Diehl V, Schrappe M. Detection of microsporidia (*enterocytozoon bienewsi*) in intestinal biopsy specimens from human immunodeficiency virus-infected patients by pcr. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2294-6.

Franzen C, Schwartz DA, Visvesvara GS, Muller A, Schwenk A, Salzberger B, Fatkenheuer G, Hartmann P, Mahrle G, Diehl V, et al. Immunologically confirmed disseminated, asymptomatic *encephalitozoon cuniculi* infection of the gastrointestinal tract in a patient with aids. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 1480-4.

Franzen C, Muller A, Hartmann P, Hegener P, Schrappe M, Diehl V, Fatkenheuer G, Salzberger B. Polymerase chain reaction for diagnosis and species differentiation of microsporidia. *Folia Parasitol (Praha)* 1998; 45: 140-8.

Franzen C, Muller A, Hartmann P, Salzberger B. Cell invasion and intracellular fate of *encephalitozoon cuniculi* (microsporidia). *Parasitology* 2005; 130: 285-92.

Fromm M, Hierholzer K, Erhard MH, Kaspers B. Endokrine Funktionen. In: *Physiologie der Haustiere*. Engelhardt W, Breves G. Hrsg. Stuttgart: Hippokrates 2000; 282-4.

Fudge AM. Rabbit hematology. In: *Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets*. Fudge AM, ed. Philadelphia: Saunders 2000; 273-5.

Fuentealba IC, Mahoney NT, Shaddock JA, Harvill J, Wicher V, Wicher K. Hepatic lesions in rabbits infected with *encephalitozoon cuniculi* administered per rectum. *Vet Pathol* 1992; 29: 536-40.

Gannon J. The immunoperoxidase test diagnosis of *encephalitozoon cuniculi* in rabbits. *Lab Anim* 1978; 12: 125-7.

Gannon J. The course of infection of *encephalitozoon cuniculi* in immunodeficient and immunocompetent mice. *Lab Anim* 1980; 14: 189-92.

Gannon J. A survey of *encephalitozoon cuniculi* in laboratory animal colonies in the united kingdom. *Lab Anim* 1980; 14: 91-4.

Geck P. India-ink immunoreaction for the rapid detection of enteric pathogens. *Acta Microbiol* 1971; 18: 191-6.

Gentz EJ, Carpenter JW. Chapter 21. In: *Ferrets Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*, 2nd ed. Hillyer EV and Quesenberry KE, eds. WB

Saunders 1997; 220-26.

Giordano C, Weigt A, Vercelli A, Rondena M, Grilli G, Giudice C. Immunohistochemical identification of encephalitozoon cuniculi in phacoclastic uveitis in four rabbits. *Vet Ophthalmol* 2005; 8: 271-5.

Goodman DG, Garner FM. A comparison of methods for detecting *Nosema cuniculi* in rabbit urine. *Laboratory Animal Science* 1972; 22: 568-72.

Greenstein G, Drozdowicz CK, Garcia FG, Lewis LL. The incidence of encephalitozoon cuniculi in a commercial barrier-maintained rabbit breeding colony. *Lab Anim* 1991; 25: 287-90.

Gruber A, Pakozdy A, Weissenbock H, Csokai J, Künzel F. A retrospective study of neurological disease in 118 rabbits. *J Comp Pathol* 2009; 140: 31-7.

Hamilton RC, Cox JC. The ultrastructure of encephalitozoon cuniculi growing in renal tubules of rabbits. *Z Parasitenkd* 1981; 64: 271-8.

Harcourt-Brown FM, Holloway HK. Encephalitozoon cuniculi in pet rabbits. *Vet Rec* 2003; 152: 427-31.

Harcourt-Brown F. Radiographic signs of renal disease in rabbits. *Vet Rec* 2007; 160: 787-94.

Harper EJ, Hackett RM, Wilkinson J, Heaton PR. Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *JAVMA* 2003; 223: 1436-42.

Hein J, Hartmann K. Labordiagnostische Referenzbereiche bei Kaninchen *Tierärztl Prax* 2003; 31: 321-8.

Henriksen P. The prevalence of encephalitozoonosis in danish farmed foxes. *Nord Vet Med* 1986; 38): 167-72.

Hersteinsson P, Gunnarsson E, Hjartardottir S, Skirnisson K. Prevalence of encephalitozoon cuniculi antibodies in terrestrial mammals in iceland, 1986 to 1989. *J Wildl Dis* 1993; 29: 341-4.

Hollister WS, Canning EU, Viney M. Prevalence of antibodies to encephalitozoon cuniculi in stray dogs as determined by an ELISA. *Vet Rec* 1989; 124: 332-6.

Hollister WS, Canning EU, Willcox A. Evidence for widespread occurrence of

antibodies to encephalitozoon cuniculi (microspora) in man provided by ELISA and other serological tests. *Parasitol* 1991; 102: 33-43.

Horvath M, Levkut M, Balent P, Levkutova M, Hipikova V, Stefkovic M, Halanova M, Horvathova A. Pathological changes in rabbits infected with *Encephalitozoon cuniculi* rectally. *Helminthol* 1996; 33: 121-4.

Horvath M, Leng L, Stefkovic M, Revajova V, Halanova M. Lethal encephalitozoonosis in cyclophosphamide-treated rabbits. *Acta Vet Hung* 1999; 47: 85-93.

Huldt G, Waller T. Accidental nosematosis in mice with impaired immunological competence. *Acta Pathol Microbiol Scand Microbiol Immunol* 1974; 82: 451-2.

Hunt RD, King NW, Foster HL. Encephalitozoonosis: evidence of vertical transmission. *J Infect Dis* 1972; 126: 212-4.

Iino H. Attempt to grow *Encephalitozoon* in tissue cultures. *Keio Igaku* 1960; 37: 339-43.

Jass A, Matiasek K, Henke J, Kuchenhoff H, Hartmann K, Fischer A. Analysis of cerebrospinal fluid in healthy rabbits and rabbits with clinically suspected encephalitozoonosis. *Vet Rec* 2008; 162: 618-22.

Jordan CN, Dicristina JA, Lindsay DS. Activity of bleach, ethanol and two commercial disinfectants against spores of *encephalitozoon cuniculi*. *Vet Parasitol* 2006; 136: 343-6.

Jungheer E. Encephalitozoon encephalomyelitis in a rabbit. *J Am Vet Med Assoc* 1955; 127: 518.

Kasickova D, Sak B, Kvac M, Ditrich O. Detection of *encephalitozoon cuniculi* in a new host--cockateel (*nymphicus hollandicus*) using molecular methods. *Parasitol Res* 2007; 101: 1685-8.

Katinka MD, Duprat S, Cornillot E, Metenier G, Thomarat F, Prensier G, Barbe V, Peyretailade E, Brottier P, Wincker P, Delbac F, El Alaoui H, Peyret P, Saurin W, Gouy M, Weissenbach J, Vivares CP. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 2001; 414: 450-3.

Katiyar SK, Gordon VR, McLaughlin GL, Edlind TD. Antiprotozoal activities of

benzimidazoles and correlations with beta-tubulin sequence. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2086-90.

Keeble EJ. *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits. *Vet Rec* 2002; 151: 680.

Keeble EJ, Shaw DJ. Seroprevalence of antibodies to *encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the united kingdom. *Vet Rec* 2006; 158: 539-44.

Kellett BS, Bywater JE. The indirect india-ink immunoreaction for detection of antibodies to *encephalitozoon cuniculi* in rat and mouse serum. *Lab Anim* 1980; 14: 83-6.

Kemp RL, Kluge JP. *Encephalitozoon* sp. In the blue-masked lovebird, *agapornis personata* (reichenow): First confirmed report of microsporidan infection in birds. *J Protozool* 1975; 22: 489-91.

Keohane EM, Weiss LM. Characterization and function of the microsporidian polar tube: A review. *Folia Parasitol (Praha)* 1998; 45: 117-27.

Khan IA, Moretto M, Weiss LM. Immune response to *encephalitozoon cuniculi* infection. *Microbes Infect* 2001; 3: 401-5.

Khan IA, Schwartzman JD, Kasper LH, Moretto M. Cd8+ ctls are essential for protective immunity against *encephalitozoon cuniculi* infection. *J Immunol* 1999; 162: 6086-91.

Khanna RS, Iyer PK. A case of *Nosema cuniculi* infection in a goat. *Indian J Med Res* 1971; 59: 993.

Kraft W, Dürr UM, Füll M, Bostedt H, Heinritzi K. Harnapparat. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005; 186-219.

Kraft W, Dürr UM, Füll M, Bostedt H, Heinritzi K. Hämatologie. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005; 49-114.

Kraft W, Dürr UM, Füll M, Bostedt H, Heinritzi K. Serum-Protein. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005; 284-92.

Kraft W, Füll M, Bostedt H, Heinritzi K. Skelettmuskulatur, Knochen, Kalzium-,

Phosphor-, Magnesiumstoffwechsel. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005; 263-71.

Kötsche W, Gottschalk C. Krankheiten der Kaninchen und Hasen. Hrsg. Gustav Fischer Verlag, Jena 1990: 240-42.

Koudela B, Vitovec J, Kucerova Z, Ditrich O, Travnicek J. The severe combined immunodeficient mouse as a model for encephalitozoon cuniculi microsporidiosis. Folia Parasitol (Praha) 1993; 40: 279-86.

Koudela B, Kucerova S, Hudcovic T. Effect of low and high temperatures on infectivity of encephalitozoon cuniculi spores suspended in water. Folia Parasitol (Praha) 1999; 46: 171-4.

Kucken U, Dix B, Ludwig E, Ludwig HJ. Occurrence of protozoa in the ejaculate of insemination bulls (brief communication). Mh Vet Med 1990; 45: 92.

Kunstyr I, Lev L, Naumann S. Experimentelle und spontane Infektion mit Encephalitozoon cuniculi bei Kaninchen. Dtsch Tierärztl Wschr 1983; 90: 492.

Kunstyr I, Naumann S. Head tilt in rabbits caused by pasteurellosis and encephalitozoonosis. Lab Anim 1985; 19: 208-13.

Kunstyr I, Lev L, Naumann S. Humoral antibody response of rabbits to experimental infection with encephalitozoon cuniculi. Vet Parasitol 1986; 21: 223-32.

Künzel F, Gruber A, Tichy A, Edelhofer R, Nell B, Hassan J, Leschnik M, Thalhammer JG, Joachim A. Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits. Vet Parasitol 2008; 151: 115-24.

Künzel F, Joachim A. Encephalitozoonosis in rabbits. Parasitol Res 2009; 345-49.

Lainson R, Garnham PC, Killick-Kendrick R, Bird RG. Nosematosis, a microsporidial infection of rodents and other animals, including man. Br Med J 1964; 2: 470-2.

Lev L. Untersuchungen von experimentellen und spontanen Encephalitozoon cuniculi - Infektionen bei Kaninchen mit drei serologischen Methoden. Diss med vet. Hannover 1982.

Levaditi C NS, Schoen R. L'étiologie d'encéphalite. Les Comptes Rendus de

l'Académie des sciences 1923; 177: 985-8.

Levaditi C, Nicolau S, Schoen R. Brain lesions of the domestic rabbit. *J Exp Med* 1924; 39: 51.

Levaditi C, Nicolau S, Schoen R. L'étiologie de l'encéphalite épizootique du lapin dans ses rapports avec l'étude expérimentale de l'encéphalite léthargique *Encephalitozoon cuniculi*. N. sp. *Ann Inst Pasteur Paris* 1924; 38: 651-712.

Levkut M, Horvath M, Balent P, Levkutova M, Hipikova V, Letkova V. Catecholamines and encephalitozoonosis in rabbits. *Vet Parasitol* 1997; 73: 173-6.

Levkut M, Lesnik F, Balent P, Zajac V, Korim P, Slavikova K. Bovine leukemia virus-induced clinical signs and morphological changes of encephalitozoonosis in rabbits. *Folia Parasitol (Praha)* 1997; 44: 249-54.

Lyngset A. A survey of serum antibodies to encephalitozoon cuniculi in breeding rabbits and their young. *Lab Anim Sci* 1980; 30: 558-61.

Malherbe M, Hunday V. Encephalitozoon cuniculi infection of laboratory rabbits and mice in South Africa. *J S Afr Med Assoc* 1958; 29: 241-6.

Mathis A. Microsporidia: Emerging advances in understanding the basic biology of these unique organisms. *Int J Parasitol* 2000; 30: 795-804.

Mathis A, Akerstedt J, Tharaldsen J, Odegaard O, Deplazes P. Isolates of encephalitozoon cuniculi from farmed blue foxes (*Alopex lagopus*) from Norway differ from isolates from Swiss domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Parasitol Res* 1996; 82: 727-30.

Mathis A, Deplazes P, Kohler P, Eckert J. Pcr for detection and characterization of parasites (leishmania, echinococcus, microsporidia, giardia). *Schweiz Arch Tierheilkd* 1996; 138: 133-8.

Mathis A, Michel M, Kuster H, Muller C, Weber R, Deplazes P. Two encephalitozoon cuniculi strains of human origin are infectious to rabbits. *Parasitology* 1997; 114: 29-35.

Mathis A, Weber R, Deplazes P. Zoonotic potential of the microsporidia. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 423-45.

Matsubayshi H, Koike T, Mikata I, Takei H, Magiwaru S. A case of

- Encephalitozoon-like body infection in man. *Arch Pathol* 1959; 67: 181-7.
- Mc Cartney JE., Brain lesions of the domestic rabbit. *J Exp Med* 1923; 39: 51-61.
- Meiser J, Kinzel V, Jirovec O. Nosematosis as an accompanying infection of plasmacytoma ascites in syrian golden hamsters. *Pathol Microbiol (Basel)* 1971; 37: 249-60.
- Mertens RB, Didier ES, Fishbein MC, Bertucci DC, Rogers LB, Orenstein JM. Encephalitozoon cuniculi microsporidiosis: Infection of the brain, heart, kidneys, trachea, adrenal glands, and urinary bladder in a patient with aids. *Mod Pathol* 1997; 10: 68-77.
- Metenier G, Vivares CP. Molecular characteristics and physiology of microsporidia. *Microbes Infect* 2001; 3: 407-15.
- Mischke R. Hämostase. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2005; 115-44.
- Meyer-Breckwoldt A. Epidemiologische und klinische Untersuchungen zur Enzephalitozoonose beim Zwergkaninchen. *Diss med vet*, Hannover, 1996.
- Moretto M, Casciotti L, Durell B, Khan IA. Lack of cd4(+) t-cells does not affect induction of cd8(+) t-cell immunity against encephalitozoon cuniculi infection. *Infect Immun* 2000; 68: 6223-32.
- Muller-Doblies UU, Herzog K, Tanner I, Mathis A, Deplazes P. First isolation and characterisation of encephalitozoon cuniculi from a free-ranging rat (*rattus norvegicus*). *Vet Parasitol* 2002; 107: 279-85.
- Mohn SF, Odegaard OA. The indirect fluorescent antibody test (IFAT) for the detection of Nosema cuniculi antibodies in the blue fox (*Alopex lagopus*). *Acta Vet Scand* 1977; 18: 290-2.
- Mohn SF, Landsverk T, Nordstoga K. Encephalitozoonosis in the blue fox--morphological identification of the parasite. *Acta Pathol Microbiol Scand B* 1981; 89: 117-22.
- Nast R, Middleton DM, Wheler CL. Generalized encephalitozoonosis in a jersey wooly rabbit. *Can Vet J* 1996 ;37: 303-5.
- Nelson JB. Experimental transmission of a murine microsporidian in swiss mice. *J*

Bacteriol 1967; 94: 1340-5.

Nelson RW. Metabolic and Electrolyte Disorders. In: Small Animal Internal Medicine. Nelson RE, Couto CG, eds. St. Louis: Mosby 1998; 809-36.

Neuwirth E. Enzephalitozoonose. Diss med vet, Hannover, 1988.

Nordstoga K. Polyarteritis nodosa: General aspects and occurrence in domestic animals, particularly in association with nosematosis in blue foxes. Nord Vet Med 1976; 28: 51-8.

Nordstoga K, Mohn SF. Nosematosis (encephalitozoonosis) in a litter of blue foxes after intrauterine injection of nosema spores. Acta Vet Scand 1978; 19: 150-2.

Quesenberry K.E. Rabbits. In: Saunders Manual of small animal practice. Brichard S.J. and Sherding R.G. eds. Philadelphia: WB Saunders 1994; 1346.

Owen DG, Gannon J. Investigation into the transplacental transmission of encephalitozoon cuniculi in rabbits. Lab Anim 1980; 14:35-8.

Pakes SP, Shaddock JA, Olsen RG. A diagnostic skin test for encephalitozoonosis (nosematosis) in rabbits. Lab Anim Science 1972; 22: 870-7.

Pakes SP, Shaddock JA, Cali A. Fine structure of encephalitozoon cuniculi from rabbits, mice and hamsters. J Protozool 1975; 22: 481-8.

Pakes SP, Shaddock JA, Feldman DB, Moore JA. Comparison of tests for the diagnosis of spontaneous encephalitozoonosis in rabbits. Lab Anim Sci 1984; 34: 356-9.

Parent J. Neurologische Erkrankungen. In: Labordiagnostik in der Kleintierpraxis. Willard MD, Tvedten H, Hrsg. München: Urban & Fischer 2006: 397-408.

Pang VF, Shaddock JA. Susceptibility of cats, sheep, and swine to a rabbit isolate of encephalitozoon cuniculi. Am J Vet Res 1985; 46: 1071-7.

Persin M, Dousek J. Encephalitozoonosis in farm-bred arctic blue foxes (alopex lagopus). Vet Med (Praha) 1986; 31: 49-54.

Pinnolis M, Egbert PR, Font RL, Winter FC. Nosematosis of the cornea. Case report, including electron microscopic studies. Arch Ophthalmol 1981; 99: 1044-7.

- Pye D, Cox JC. Isolation of encephalitozoon cuniculi from urine samples. *Lab Anim* 1977; 11: 223-4.
- Reetz J. Naturally-acquired microsporidia (encephalitozoon cuniculi) infections in hens. *Tierärztl Prax* 1993; 21: 429-35.
- Reetz J. Natural transmission of microsporidia (encephalitozoon cuniculi) by way of the chicken egg. *Tierärztl Prax* 1994; 22: 147-50.
- Robinson JJ. Common infectious disease of laboratory rabbits questionably attributed to encephalitozoon cuniculi. *AMA Arch Pathol* 1954; 58: 71-84.
- Ronnebaumer K, Gross U, Bohne W. The nascent parasitophorous vacuole membrane of encephalitozoon cuniculi is formed by host cell lipids and contains pores which allow nutrient uptake. *Eukaryot Cell* 2008; 7: 1001-8.
- Scharmann W, Reblin L, Griem W. Infection of rabbits with encephalitozoon cuniculi. *Berl Munch Tierärztl Wochenschr* 1986; 99: 20-4.
- Schmidt EC, Shadduck JA. Murine encephalitozoonosis model for studying the host-parasite relationship of a chronic infection. *Infect Immun* 1983; 40: 936-42.
- Schwartz DA, Visvesvara GS, Diesenhouse MC, Weber R, Font RL, Wilson LA, Shadduck JA. *Nosema cuiculi*: In vitro isolation. *Science* 1969; 166: 516-7.
- Shadduck JA, Pakes SP. Encephalitozoonosis (nosematosis) and toxoplasmosis. *Am J Pathol* 1971; 64: 657-71.
- Shadduck JA, Polley MB. Some factors influencing the in vitro infectivity and replication of encephalitozoon cuniculi. *J Protozool* 1978; 25: 491-6.
- Shadduck JA, Geroulo MJ. A simple method for the detection of antibodies to encephalitozoon cuniculi in rabbits. *Lab Anim Sci* 1979; 29: 330-4.
- Shadduck JA, Watson WT, Pakes SP, Cali A. Animal infectivity of encephalitozoon cuniculi. *J Parasitol* 1979; 65: 123-9.
- Sieg J, Jass A, Fischer A, Hein J. Vergleich verschiedener Therapiemodelle zur Enzephalitozoonose bei Kaninchen. In: Abstracts der 18. Jahrestag der DVG-FG InnLab 2010. *Tierärztl Prax* 2010; 38: A16.
- Smith T, Florence L. Encephalitozoon cuniculi as a kidney parasite in the rabbit. *J Exp Med* 1925; 41: 25-35.

- Sobottka I, Albrecht H, Schafer H, Schottelius J, Visvesvara GS, Laufs R, Schwartz DA. Disseminated encephalitozoon (septata) intestinalis infection in a patient with aids: Novel diagnostic approaches and autopsy-confirmed parasitological cure following treatment with albendazole. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2948-52.
- Solli A, Sanson G, Fougner J. Nosematosis - a current disease in Norwegian fur farms. *Norsk Pelsdyrblad* 1994; 68: 10-1.
- Somvanshi R, Biswas JC, Shah NL, Lal H, Sharma RL. Spontaneous encephalitozoonosis in Angora rabbits. *Indian Vet J* 1994; 71: 369-99.
- Stewart CG, van Dellen AF, Botha WS. Canine encephalitozoonosis in kennels and the isolation of encephalitozoon in tissue culture. *J S Afr Vet Assoc* 1979; 50: 165-8.
- Stewart CG, Reyers F, Snyman H. The relationship in dogs between primary renal disease and antibodies to encephalitozoon cuniculi. *J S Afr Vet Assoc* 1988; 59: 19-21.
- Stryer L. Der Stoffwechsel; Konzepte und Grundmuster. In: Biochemie. Stryer L, ed. Heidelberg: Spektrum 1999c; 467-86.
- Suter C, Muller-Doblies UU, Hatt JM, Deplazes P. Prevention and treatment of encephalitozoon cuniculi infection in rabbits with fenbendazole. *Vet Rec* 2001; 148: 478-80.
- Takano S, Kondoh Y, Asai T, Mikawa S. Encephalitozoonosis in rabbits reared in Sorachi, Hokaido. *J Jpn Vet Med Assoc* 1993; 46: 143-6.
- Thomas C, Finn M, Twigg L, Deplazes P, Thompson RC. Microsporidia (encephalitozoon cuniculi) in wild rabbits in australia. *Aust Vet J* 1997; 75: 808-10.
- Van Dellen AF, Stewart CG, Botha WS. Studies of encephalitozoonosis in vervet monkeys (*cercopithecus pygerythrus*) orally inoculated with spores of encephalitozoon cuniculi isolated from dogs (*canis familiaris*). *Onderstepoort J Vet Res* 1989; 56: 1-22.
- Van Heerden J, Bainbridge N, Burroughs RE, Kriek NP. Distemper-like disease and encephalitozoonosis in wild dogs (*lycaon pictus*). *J Wildl Dis* 1989; 25: 70-5.

Van Rensburg IB, Volkmann DH, Soley JT, Stewart CG. Encephalitozoon infection in a still-born foal. *J S Afr Vet Assoc* 1991; 62: 130-2.

Vavra J, Blazek K. Nosematosis in carnivores. *J Parasitol* 1971; 57: 923-4.

Vavra J, Bedrník P, Cínatl J. Isolation and in vitro cultivation of the mammalian microsporidian encephalitozoon cuniculi. *Folia Parasitol (Praha)* 1972; 19: 349-54.

Von Müller D, Kücken U, Wagner C, Mokros M. Hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen bei Schlachtkaninchen. *Mh Vet-Med* 1990; 45: 792-796.

Vossbrinck CR, Baker MD, Didier ES, Debrunner-Vossbrinck BA, Shadduck JA. Ribosomal DNA sequences of encephalitozoon hellem and encephalitozoon cuniculi: Species identification and phylogenetic construction. *J Eukaryot Microbiol* 1993; 40: 354-62.

Wagner F. Einseitige Blindheit bei einem Kaninchen. *Tierärztl Prax* 2000; 28: 260-62.

Waller T. Growth of nosema cuniculi in established cell lines. *Lab Anim* 1975; 9: 61-8.

Waller T. The india-ink immunoreaction: A method for the rapid diagnosis of encephalitozoonosis. *Lab Anim* 1977; 11: 93-7.

Waller T, Morein B, Fabiansson E. Humoral immune response to infection with encephalitozoon cuniculi in rabbits. *Lab Anim* 1978; 12: 145-8.

Waller T. Sensitivity of encephalitozoon cuniculi to various temperatures, disinfectants and drugs. *Lab Anim* 1979; 13: 227-30.

Waller T, Bergquist NR. Rapid simultaneous diagnosis of toxoplasmosis and encephalitozoonosis in rabbits by carbon immunoassay. *Lab Anim Sci* 1982; 32: 515-7.

Wan CH, Franklin C, Riley LK, Hook RR, Jr., Besch-Williford C. Diagnostic exercise: Granulomatous encephalitis in guinea pigs. *Lab Anim Sci* 1996; 46: 228-30.

Wasson K, Peper RL. Mammalian microsporidiosis. *Vet Pathol* 2000; 37: 113-28.

Weiss LM. Microsporidia: Emerging pathogenic protists. *Acta Trop* 2001; 78: 89-102.

Weiss D, Tvedten H. Großes Blutbild und Knochenmarkuntersuchung. In: *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. Willard MD, Tvedten H, Hrsg. München: Urban & Fischer 2006; 13-42.

Weiss D, Tvedten H. Veränderungen des roten Blutbilds. In: *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. Willard MD, Tvedten H, Hrsg. München: Urban & Fischer 2006; 43-72

Wesonga HO, Munda M. Rabbit encephalitozoonosis in kenya. *Lab Anim* 1992; 26: 219-21.

Wicher V, Baughn RE, Fuentealba C, Shaddock JA, Abbruscato F, Wicher K. Enteric infection with an obligate intracellular parasite, encephalitozoon cuniculi, in an experimental model. *Infect Immun* 1991; 59: 2225-31.

Wilson JM. The biology of encephalitozoon cuniculi. *Med Biol* 1979; 57: 84-101.

Wilson JM. Encephalitozoon cuniculi in wild european rabbits and a fox. *Res Vet Sci* 1979; 26: 114.

Willard MD, Twedt DC. Lebererkrankungen. In: *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*. Willard MD, Tvedten H, Hrsg. München: Urban & Fischer 2006; 287-304.

Wodecki JJ. Linseninduzierte Uveitis bei einem Kaninchen. *Tierärztl Prax* 1994; 22: 498-501.

Wolfer J, Grahn B, Wilcock B, Percy D. Phacoclastic uveitis in the rabbit. *Proc Vet Comp Ophthalmol* 1993; 3: 92-7.

Wosu NJ, Olsen R, Shaddock JA, Koestner A, Pakes SP. Diagnosis of experimental encephalitozoonosis in rabbits by complement fixation. *J Infect Dis* 1977; 135: 944-8.

Wosu NJ, Shaddock JA, Pakes SP, Frenkel JK, Todd KS, Jr., Conroy JD. Diagnosis of encephalitozoonosis in experimentally infected rabbits by intradermal and immunofluorescence tests. *Lab Anim Sci* 1977; 27: 210-6.

Wright JH, Craighead EM. Infectious motor paralysis in young rabbits. *J Exp*

Med 1922; 36: 135-40.

Xu Y, Weiss LM. The microsporidian polar tube: A highly specialised invasion organelle. *Int J Parasitol* 2005; 35: 941-53.

Yost DH. Encephalitozoon infection in laboratory animals. *J Nat Cancer Inst* 1958; 29: 957-60.

Zeman DH, Baskin GB. Encephalitozoonosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Vet Pathol* 1985; 22: 24-31.

Zender HO, Arrigoni E, Eckert J, Kapanci Y. A case of encephalitozoon cuniculi peritonitis in a patient with aids. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 352-6

IX. ANHANG

1. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Heute gültige taxonomische Einordnung von <i>Encephalitozoon cuniculi</i> nach BARKER (1974) und WILSON (1979)	3
Tabelle 2:	Infektionsrouten mit <i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Antikörpernachweis (frühester und spätester Nachweistermin) (<i>i. z.</i> = <i>intrazerebral</i> ; <i>i. p.</i> = <i>intraperitoneal</i> ; <i>p. o.</i> = <i>per os</i> ; <i>i. t.</i> = <i>intratracheal</i> ; <i>i. v.</i> = <i>intravenös</i> ; <i>p. i.</i> = <i>post infectionem</i> ; * = letzte Untersuchung; Ø = keine Angaben)	11
Tabelle 3:	<i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Antikörperprävalenz bei Kaninchen weltweit	15
Tabelle 4:	<i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Verbreitung in Organen bei verschiedenen Tierarten	16
Tabelle 5:	Nachweisverfahren zur Diagnose der Enzephalitozoonose	23
Tabelle 6:	Anzüchtung von <i>Encephalitozoon cuniculi</i> in verschiedenen Zellen	27
Tabelle 7:	Gruppeneinteilung des untersuchten Kollektivs der Studie (Abkürzung = Abk., Anzahl = n, <i>Encephalitozoon cuniculi</i> = <i>E. cuniculi</i>)..	35
Tabelle 8:	<i>Encephalitozoon-cuniculi</i> -Antikörperprävalenz im Studienkollektiv (AK+ (n) = Anzahl (n) <i>E.-cuniculi</i> -Antikörper-positiver Kaninchen, AK+ (%) = <i>E.-cuniculi</i> -Antikörper-positiv Kaninchen in Prozent, n = Anzahl der Kaninchen)	39
Tabelle 9:	Vergleich der Mediane des Blutbildes und der Enzyme von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und gesunden, <i>E.-cuniculi</i> -Antikörper-negativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg., n = 179)	42
Tabelle 10:	Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes ZNS bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem <i>E.-cuniculi</i> -Antikörpertest (Gr.	

C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.) in Prozent (%).... 48

Tabelle 11: Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes Niere bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.) in Prozent (%).... 48

Tabelle 12: Vorkommen von Symptomen des Problemkomplexes Auge bei Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A), Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-pos.) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (Gr. C1-AK-neg.) 49

Tabelle 13: Vergleich der Mediane des Blutbildes und der Enzyme von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (C1-AK-neg., n = 97)..... 53

Tabelle 14: Vergleich der Mediane der Substrate und der Elektrolyte von Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gr. A, n = 122) und Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest (C1-AK-neg., n = 97)..... 53

2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Mikrosporidienspore nach BARKER (1974) und WILSON (1979) 4

Abbildung 2: Vermehrungszyklus *Encephalitozoon cuniculi* nach (FLATT & JACKSON, 1970; BARKER, 1974; WILSON, 1979) ((a) Einschleusung des Sporoplasmas über das Polarfilament; (b) Schizogoniezyklus; (c) Sporogoniezyklus; (d) Reifung der Sporen; (e) Ruptur der Wirtszellmembran und Freisetzung der Sporen) 6

Abbildung 3: Altersverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe B-AK-neg. = gesunde, *E.-cuniculi*-

AK-neg. Kaninchen, Median Gruppe A: 38 Monate, Median Gruppe B-AK-neg: 12 Monate) 40

Abbildung 4: Gewichtsverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe B-AK-neg. = gesunde, *E.-cuniculi*-AK-neg. Kaninchen, Median Gruppe A: 1,8 kg, Median Gruppe B-AK-neg.: 2,7 kg) 41

Abbildung 5: Vergleich der Creatinkinase-Aktivitäten der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gruppe A) und der gesunden, *Enzephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg.); Median Gruppe A: 1249, Median Gruppe Gruppe B-AK-neg.: 249) 44

Abbildung 6: Vergleich der Harnstoffkonzentrationen der Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose (Gruppe A) und der gesunden, *Enzephalitozoon-cuniculi*-Antikörper-negativen Kaninchen (Gruppe B-AK-neg.); (Median Gruppe A: 8,9, Median Gruppe B-AK-neg.: 5,5) 44

Abbildung 7: Altersverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe C1-AK-pos. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, Gruppe C1-AK-neg. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest; $p = 0,515$; $0,215$ Median Gruppe A: 38 Monate, Median Gruppe C1-AK-pos.: 38 Monate, Gruppe C1-AK-neg.: 36 Monate) 46

Abbildung 8: Gewichtsverteilung in den Gruppen (Gruppe A = Kaninchen mit bewiesener Enzephalitozoonose, Gruppe C1-AK-pos. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und positivem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, Gruppe C1-AK-neg. = Kaninchen mit Enzephalitozoonose-Verdacht und negativem *E.-cuniculi*-Antikörpertest, $p = 0,916$; $0,743$; Median Gruppe A: 1,8 kg, Median Gruppe C1-AK-pos.: 1,8 kg, Median Gruppe C1-AK-neg: 1,9 kg) 47

X. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Hartmann für die Überlassung des Themas, ihre wissenschaftliche Anleitung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank Frau Dr. Hein, ohne deren freundliche Hilfe und Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein Dank gilt auch Dr. Carola Sauter-Louis, die mir mit Rat und Tat in allen statistischen Fragen zur Seite stand.

Bei meiner Familie möchte ich mich herzlichst bedanken, die mich in jeder Situation mit vollem Einsatz begleitet, unterstützt und ermutigt haben.

Mein Dank gilt auch meinen Freunden (speziell Jessica Klauke und Andrea Wuck), die immer für mich da waren.