

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Walter Hermanns

# **Feline Infektiöse Peritonitis**

## **Histologische und immunhistologische Untersuchungen**

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

von

Orwah Al Milli  
aus Hama / Syrien

München 2012

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

Dekan: Univ.- Prof. Dr. J. Braun  
Referent: Univ.- Prof. Dr. W. Hermanns  
Korreferent: Univ.- Prof. Dr. K. Hartmann

Tag der Promotion: 21.07.2012

Der Seele meines Vaters, der dieses gern miterlebt hätte,  
meiner Mutter, die viele Opfer für mich erbracht hat,  
meinen Geschwistern  
und  
meiner Frau Ryma, die mir immer zur Seite stand,  
Syrien und den Märtyrern



---

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
2.1	Übersicht über die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP)	3
2.1.1	Hypothesen zum Auftreten des FIP Virus	4
2.1.2	Feline Coronaviren und Mutationen	5
2.1.3	Orale Toleranz und FIP-Entstehung	7
2.1.4	Zirkulierendes virulentes / avirulentes FCoV	8
2.2	Eigenschaften von Coronaviren	8
2.3	Epidemiologie der FIP	11
2.3.1	Tierart / Rasse	11
2.3.2	Alter	11
2.3.3	Geschlecht	12
2.3.4	Haltungsart	12
2.3.5	Jahreszeit	12
2.3.6	Ausscheidung und Übertragung	12
2.3.7	Immunstatus	13
2.3.8.	Einfluß von Begleitkrankheiten und anderen Stressoren	13
2.4	Pathogenese der FIP	14
2.4.1	Tropismus für Makrophagen	14
2.4.2	Virusstrategien zur Flucht vor dem Immunsystem	14
2.4.3	Die Antigendrift	15
2.4.4	Nicht-neutralisierende Antikörper und antikörperabhängige Verstärkung	16
2.4.5	Immunkomplexe und Komplement	16
2.4.6	Die Rolle der Virämie bei der FIP-Entwicklung	18
2.4.7	Aufnahme des FCoV in Zellen	18
2.4.8	Arthus-Reaktion	18
2.4.9	Die Rolle von Zytokinen	19
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>21</b>
3.1	Material	21
3.2	Methoden	22
3.2.1	Einbettungsverfahren für Paraffinschnitte	22

---

3.2.2	Herstellung von Paraffinschnitten	22
3.2.3	Färbungen für Paraffinschnitte	23
3.2.3.1	Hämalaun-Eosin-Färbung	23
3.2.3.2	Giemsa-Färbung	23
3.2.4	Einbettungsverfahren und Schnittherstellung für Kunststoffeinbettung	23
3.2.5	Färbung für die Kunststoffeinbettung	24
3.2.5.1	Hämatoxylin-Eosin-Phloxin-Färbung	24
3.2.5.2	Giemsa-Färbung	25
3.2.6	Einleitung für die Immunhistochemie (IHC)	25
3.2.6.1	Vorbehandlung der Schnitte	26
3.2.6.2	Grundlagen der Avidin-Biotin-Komplex-Methode	27
3.2.6.3	Protokoll für die Immunhistochemie	28
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>31</b>
4.1	Makroskopische Befunde bei den untersuchten Tieren	31
4.2	Histologische Befunde bei den untersuchten Tieren	33
4.3	Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung	37
4.4	Organ-bezogene Verteilung der Läsionen und des FIPV-Antigens	39
4.5	Tier-bezogene Verteilung der Läsionen und des FIPV-Antigens	47
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>51</b>
5.1	Die immunhistologische Verteilung des FCoV- Antigens in den untersuchten Katzen	54
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>61</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>63</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	

---

## 1 Einleitung

Die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) ist eine seit rund 50 Jahren bekannte, häufig vorkommende virale Infektionskrankheit bei Katzen. Trotz zahlreicher Untersuchungen ist es bis heute nicht gelungen, die Pathogenese dieser Krankheit aufzuklären; das betrifft sowohl die Entstehung des pathogenen FIP-Virus (FIPV) als auch die Entstehung der in der Regel zum Tode führenden Veränderungen im betroffenen Tier.

Zusätzlich zu diesen Einschränkungen mangelt es an Verfahren, die Krankheit zuverlässig am lebenden Patienten zu diagnostizieren, dieses gilt einmal für deren Anfangsstadium, aber auch für bestimmte Verlaufsformen.

Als Goldstandard für die Diagnostik der FIP gilt immer noch die histologische Untersuchung veränderter Gewebe im Rahmen der Obduktion. Welche Organe oder Gewebe jedoch beim einzelnen Tier jeweils verändert sind ist nicht vorherzusagen. Aus diesem Grund ist auch die Untersuchung bioptisch gewonnenen Gewebes vom Patienten mit Einschränkungen verbunden, solange keine zuverlässigen Daten über die statistische Verteilung der Veränderungen in den einzelnen Organen vorliegen.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, bei einem größeren Kollektiv von Katzen das Vorkommen histologischer Veränderungen in einem großen Spektrum von Organen bzw. Geweben zu untersuchen. Gleichzeitig sollte die Zuverlässigkeit des immunhistologischen Erregernachweises im Vergleich mit dem histologischen Nachweis der Erkrankung ermittelt werden.



## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Übersicht über die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP)

Im Jahre 1963 wurden erstmals klinische Zeichen und Läsionen bei Katzen unter dem Namen „chronische fibrinöse Peritonitis“ von Holzworth beschrieben (Holzworth 1963). Wolfe und Griesemer untersuchten dann 1966 in einer Studie bei insgesamt 16 Katzen mit Aszites und fibrinöser Peritonitis die charakteristischen makroskopischen und histologischen Alterationen und nannten das Krankheitsbild „Feline Infektiöse Peritonitis“; allerdings konnten die Autoren das verursachende Agens nicht identifizieren, obwohl ihnen die Übertragung der Krankheit gelungen war.

Zook und Mitarbeiter (1968) fanden virale Partikel in Serosadeckzellen der Bauchhöhle bei experimentell infizierten Katzen im Elektronenmikroskop, konnten aber das Virus nicht näher charakterisieren. Über entsprechende Befunde bei spontan an FIP erkrankten Katzen berichten Ward und Mitarbeiter (1968).

Die Ähnlichkeit der viralen Partikel mit Coronaviren wurde dann von Ward (1970) beschrieben. Der Autor fand Viruspartikel in Makrophagen in der Peripherie nekrotischer Herde in Netz, Milz und Leber (Ward 1970). Im Jahr 1972 beobachteten Montali und Strandberg, dass neben der bis dahin bekannten - später exsudativ genannten Form - noch eine zweite, sogenannte extraperitoneale granulomatöse Form der FIP existiert. Die erste Beschreibung der FIP bei Katzen in Deutschland stammt von Tuch und Mitarbeitern aus dem Jahr 1974.

Erste immunzytologische Untersuchungen führte Pedersen (1976a) an Peritonealzellkulturen aus experimentell infizierten Katzen durch; der Autor betont, dass es sich bei den positiv reagierenden Zellen ausschließlich um Makrophagen-ähnliche Zellen handelt.

Die Verwandtschaft des FIP-Virus mit Coronaviren von Hunden (Canines Coronavirus, CCV) und Schweinen (Transmissible Gastroenteritis-Virus, TGEV) wurde von Pedersen und Mitarbeiter (1978) beobachtet.

Ein zweites felines Coronavirus konnte aus Katzen mit einer milden, transienten Enteritis isoliert werden, es wird als felines enterales Coronavirus (FECV) bezeichnet (Pedersen et al. 1981); den Autoren gelang es bei experimentellen Infektionen allerdings nicht, das Bild der FIP zu induzieren. Obwohl sich FECV und FIPV antigene-tisch sehr ähnlich sind, ist ihre Pathogenität eindeutig unterschiedlich (Pedersen et al. 1984). Das feline enterale Coronavirus infiziert selektiv die apikalen Enterozyten

der Darmzotten, und zwar vom kaudalen Teil des Duodenums bis zum terminalen Ileum. Es kann zur Ablösung der Enterozyten an den Spitzen der Darmzotten kommen, gefolgt von Zottenatrophie und Zottenfusionen (Pedersen et al. 1981). In jüngster Zeit (Kipar et al. 2010) konnte nach experimenteller Infektion von 30 SPF-Katzen mit einem avirulenten Typ I FCoV mittels RT-PCR gezeigt werden, dass nicht nur die Enterozyten infiziert sind, sondern zahlreiche weitere Organe Virus RNA aufweisen und dieses in Abwesenheit einer Virämie. So war einerseits der gesamte Darmtrakt positiv, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß: Colon (15,3 %), Ileum (7,7 %), Jejunum (6,6 %) und Duodenum (4,9 %). Über den Darm hinaus waren in abnehmender Häufigkeit positiv Leber (11,5 %), Mesenterial-Lymphknoten (10,4 %), Thymus (7,1 %), Niere (6,6 %). Mittels Immunhistologie konnte Virusantigen zusätzlich zu den Enterozyten in Sinusmakrophagen in Mesenterial-Lymphknoten und in intravasalen Makrophagen der Lunge nachgewiesen werden.

### **2.1.1 Hypothesen zum Auftreten des FIP Virus**

Es ist bislang nicht sicher geklärt, woher das Virus der Felinen infektiösen Peritonitis stammt und weshalb das Krankheitsbild plötzlich Ende der 50iger Jahre des vergangenen Jahrhunderts aufgetreten ist; dazu gibt es mindestens drei mögliche Erklärungen:

Erstens könnten sich Coronaviren vom Schwein in der zweiten Jahrhunderthälfte so verändert haben, dass sie Katzen infizieren können. So ist es bemerkenswert, dass das FIPV im gleichen Jahrzehnt wie die Erstbeschreibung der Transmissiblen Gastroenteritis (TGE) bei Schweinen in Nordamerika aufgetreten ist (Haelterman und Hutchings 1956).

Das FIPV ist mit dem Virus der TGE und dem Caninen Coronavirus verwandt (Pedersen et al. 1978), unterscheidet sich aber genomisch (Motokawa et al. 1996). Allerdings können Rekombinanten zwischen den drei Viren vorkommen (Herrewegh et al. 1998; Wesley 1999; Benetka et al. 2006). Mindestens ein Stamm des CCV kann eine milde Enteritis bei Katzen auslösen und außerdem die Infektion mit FIPV verstärken, was auf eine größere Ähnlichkeit mit felinen Coronaviren hindeuten könnte (McArdle et al. 1992).

Zweitens hätte das FIPV durch eine Mutation des FECV entstanden sein können, begünstigt durch die intra- und inter-Spezies-Mutabilität der Coronaviren im Allgemeinen und des FCoV im Besonderen (Pedersen 2009). Die Mutation des häufigen FECV könnte während der Virusreplikation im Gastrointestinaltrakt entstehen (Pedersen et al. 1981).

Eine dritte Möglichkeit könnte durch Änderungen in der Katzenzucht in der jüngeren Zeit erklärt werden. Die Anzahl der Hauskatzen hat nach dem Zweiten Weltkrieg stark zugenommen, die Reinzucht und Katzenpensionen sind immer populärer geworden; große Katzenhaltungen insbesondere mit Jungtieren sind dafür bekannt, dass sie die Erkrankung an FECV und FIPV begünstigen (Pedersen 2009).

### **2.1.2 Feline Coronaviren und Mutationen**

Die Ähnlichkeit des FECV mit dem FIPV hat dazu geführt, dass man das FECV als das Vorläufervirus des FIPV im einzelnen Tier angesehen hat und dass man frühzeitig versucht hat, Unterschiede im Genom der beiden Biotypen zu finden, die deren unterschiedliche Pathogenität erklären können.

In einer der ersten Studien konnte gezeigt werden, dass Kulturstämme des FECV Deletionen im offenen Leserahmen 7b (open reading frame, ORF) besitzen, die in FIPV nicht nachzuweisen sind, dass aber Isolate aus dem Kot von Katzen mit einer FECV-Infektion diese Deletion nicht aufweisen, ebensowenig wie die Isolate von FIPV (Herrewegh et al. 1995a). Ebenfalls keinen Unterschied im ORF 7b konnte bei zwei Katzen, die eine sechsjährige symptomlose FIV-Infektion aufwiesen, experimentell mit FECV infiziert worden waren und 8 bzw. 10 Wochen später an einer typischen FIP erkrankt waren beim Vergleich des FIPV mit dem ursprünglichen FECV nachgewiesen werden (Poland et al. 1996).

Vennema und Mitarbeiter (1998) haben Paare von FECV und FIPV sequenziert, die einerseits von Katzen aus der gleichen Umgebung (Katzenheimen) stammten und andererseits von Katzen aus geographisch entfernteren Orten, in der Annahme, daß Unterschiede im Genom zwischen den beiden Biotypen bei Katzen aus dem gleichen Umfeld eher Hinweise auf die für das FIPV entscheidende Mutation liefern. Es konnte gezeigt werden, dass die Viruspaare bei Tieren aus einer Haltung näher miteinander verwandt sind als diejenigen von räumlich voneinander entfernt lebenden Katzen, was auf eine gemeinsame Abstammung von FIPV und FECV hinweist. Die Autoren fanden bei den FIPV Mutationen im ORF 3c bei 4 von 6 Isolaten und / oder im ORF 7b bei 3 von 6 Isolaten; eine Ergänzung der Untersuchung um weitere 7 FIPV-Isolate ergab Mutationen im ORF 3c bei insgesamt 11 von 13 FIPV. In allen Fällen handelte es sich um unterschiedlich umfangreiche Deletionen bei den FIPV; die Autoren gehen davon aus, dass es sich tatsächlich um Deletionen und nicht um Insertionen im FECV handelt. Die Untersuchung hatte allerdings klar gezeigt, dass es nicht eine einzige definierte Mutation gibt, die ein FIPV aus einem FECV entstehen läßt.

Deletionen im ORF 7a konnten von Kennedy und Mitarbeitern (2001) bei einer Kolonie von Perserkatzen mit hoher Inzidenz von FIP (12 Fälle von FIP in zwei Würfen in einem Zeitraum von 2 Jahren) nachgewiesen werden.

In einer neueren Studie (Chang et al. 2010) wurde das 3c-Gen des FECV bei 27 klinisch gesunden Katzen und des FIPV bei 28 Tieren mit pathomorphologisch bestätigter FIP sequenziert. Dabei erwies sich das 3c-Gen ausnahmslos bei allen FECV-Isolaten als völlig unverändert (es kodiert für ein aus 238 Aminosäuren bestehendes Protein), was die Autoren dahingehend interpretieren, dass ein intaktes 3c-Gen für die Replikation des FECV in den Enterozyten erforderlich ist. Von den 28 FIPV-Isolaten hatten 8 einen unveränderten ORF 3c, die übrigen 20 Isolate hingegen ganz unterschiedliche Aberrationen (Deletionen, Insertionen, nonsense Mutationen). Bei 11 von 17 Katzen konnte im Kot keine FCoV-RNA nachgewiesen werden, was als Terminierung der Vermehrung von FCoV im Darm bei diesen Tieren interpretiert wird. Der Sequenzvergleiche des 3c-Gens von FECV und FIPV bei einzelnen Katzen sowie bei den Katzen untereinander ergab, dass die Sequenz des FECV größere Ähnlichkeit mit der Sequenz von FECV von Katzen aus der Umgebung aufweist als mit dem FIPV. Dieses wird als Hinweis darauf interpretiert, dass das FECV in vielen Fällen mit dem Auftreten des FIPV eliminiert worden ist und später, nach Ausbruch der FIP, eine erneute Infektion des Darmes mit einem FECV aus der Umgebung stattgefunden hat.

Die Fähigkeit des FIPV Makrophagen zu infizieren ist ein wichtiger Faktor in der Pathogenese der FIP. Bereits Ward (1970) hatte das FIPV bei seinen ultrastrukturellen Untersuchungen in Makrophagen innerhalb der typischen Läsionen gefunden. Die Entstehung des pathogenen FIPV aus avirulenten FECV soll mit einem Wandel im Tropismus der Viren, von Enterozyten hin zu Blutmonozyten, einhergehen. Die Fähigkeit in Monozyten / Makrophagen replizieren zu können, ist wiederum Voraussetzung für die generalisierte Ausbreitung des FIPV im Körper.

Rottier und Mitarbeiter (2005) haben durch die Etablierung von Rekombinanten zwischen dem FECV und FIPV mit anschließender Infektion von felines Makrophagenkulturen festgestellt, dass der Makrophagen-Tropismus im S-Gen lokalisiert ist, und zwar in der Domäne, die für die Fusion des Virus mit der Membran der Wirtszelle verantwortlich ist. Damit konnten die Autoren zeigen, dass die Gründe für den Tropismus für Makrophagen am ehesten auf der Ebene des Eintritts des Virus in die Zelle und nicht bei den nachfolgenden Schritten der Replikation, wie Transkription oder Assemblierung des Virus liegt.

Im Rahmen der Entwicklung eines Impfstoffes gegen FIP haben Haijema und Mitarbeiter (2004) Deletionsmutanten des FIPV erstellt, denen die Gruppen-spezifischen Gene 3abc oder / und 7ab fehlen. Die Deletionen haben keinen Einfluß auf die Vermehrung der Viren in der Zellkultur. Experimentelle Infektionen mit den Deletionsmutanten 3abc oder 7ab lösen keine FIP aus, induzieren aber die Bildung Virusneutralisierender Antikörper und schützen vor einer Challenge-Infektion mit undeletiertem FIPV.

Die bisher mitgeteilten Ergebnisse deuten darauf hin, dass nicht eine Mutation in einem einzelnen Gen für die Entstehung der FIP verantwortlich zu sein scheint, sondern dass Mutationen im viralen Spike-Gen und in den Gruppen-spezifischen Genen 3c und / oder 7b in Betracht gezogen werden müssen (Vennema et al. 1998; Rottier et al. 2005; Chang et al. 2010).

Die Mutationstheorie der Entstehung des FIPV aus dem apathogenen FECV wurde erstmals von Dye und Siddell (2007) in Frage gestellt. Die Autoren haben Virus aus dem Darm (FECV) und aus der Leber (FIPV) einer spontan an FIP erkrankten Katze sequenziert und dabei keinerlei Unterschiede in den untersuchten 6 offenen Leserahmen (die Strukturgene S, E, M und N sowie die akzessorischen Gene 3 und 7) zwischen den beiden Biotypen gefunden. Es wird betont, dass es sich bei dem untersuchten Viruspaar um ein aktuelles Feldisolat handelt und nicht um einen Laborstamm aus den 70iger Jahren und dass es sich um ein Typ I Virus und nicht um ein häufiger experimentell verwendetes, aber im Feld seltener vorkommendes Typ II Virus gehandelt hat. Die Arbeit stellt die landläufige sogenannte „internal mutation theory“ ausdrücklich infrage.

Dieser Ansicht widerspricht Pedersen (2009), da beide Biotypen umfangreiche Mutationen im ORF 3c und 7b aufweisen, wie sie so nur in FIPV und nicht im FECV vorkommen; außerdem berichtet der Autor, dass er kürzlich FCoV aus dem Kot FIP kranker Katzen isoliert hat, die mehr dem FIPV im Gewebe als FECV ähneln.

### **2.1.3 Orale Toleranz und FIP-Entstehung**

Als orale Toleranz wird die Unterdrückung einer Immunantwort auf bestimmte Antigene, die im Magen-Darm-Trakt vorkommen, bezeichnet (Brandtzaeg, 1989). Diese Toleranz stellt einen Schutzmechanismus der Schleimhaut-Immunantwort dar, indem die Immunantwort auf ubiquitäre Antigene unterdrückt wird, um so eine effektive Abwehr pathogener Antigene zu ermöglichen. Evermann und Mitarbeiter (1991) nehmen an, dass auch die orale Toleranz für die Kontrolle des Virus im Gastrointestinaltrakt wichtig ist; wenn die orale Toleranz herabgesetzt wird, kann sich das aus

einem FECV im Darm entstandene FIPV generalisiert ausbreiten und u.a. durch eine immunvermittelte Vaskulitis zum Tod führen.

#### **2.1.4 Zirkulierendes virulentes / avirulentes FCoV**

In einer phylogenetischen Studie bei insgesamt 56 Katzen (Brown et al. 2009), von denen 8 an FIP erkrankt waren und 48 Tiere ohne Symptome mit FCoV infiziert waren, wurden virale Sequenzen aus Genabschnitten für ein Membranprotein, das Nichtstrukturprotein 7b, das Spike-Nichtstrukturprotein 3 und die Polymerase-1-alpha amplifiziert und sequenziert. Dabei ergaben sich deutliche verwandtschaftliche Unterschiede in den Genen für das Membranprotein und das Nichtstrukturprotein 7b zwischen den FIPV- und den symptomfreien FECV-infizierten Katzen. Dieses monophyletische Verwandtschaftsmuster interpretieren die Autoren als einen Hinweis darauf, dass es in Katzenpopulationen nebeneinander vorhandene FIPV- und FECV-Stämme gibt. Der Ausbruch von FIP ist dann auf eine denovo-Infektion mit einem entsprechend virulenten FIPV zurückzuführen und nicht auf eine interne Mutation eines FECV. Eine genauere Aussage zu einem möglichen Pathomechanismus für die Entstehung der FIP können die Autoren nicht machen, sie vermuten aber, dass insbesondere Veränderungen im Membranprotein eine Rolle spielen könnten.

Eine aktuelle zusammenfassende Gegenüberstellung der verschiedenen Erklärungsmodelle für das Auftreten von FIP haben kürzlich Myrrha und Mitarbeiter (2011) geliefert.

## **2.2 Eigenschaften von Coronaviren**

Die Familie Coronaviridae beinhaltet die Gattungen *Coronavirus* und *Torovirus* und bildet zusammen mit der Familie der Arteriviridae die Ordnung der Nidovirales (De Vries et al. 1997). Anhand genomischer Unterschiede (in den sog. akzessorischen Genen) werden Coronaviren in 3 Gruppen eingeordnet (Tabelle 1) (De Vries et al. 1997).

In der Gruppe I finden sich das Feline Infektiöse Peritonitis Virus, das Transmissible Gastroenteritis Virus des Schweines (TGEV), das canine Coronavirus (CCoV) sowie das humane Coronavirus 229 E (HCV 229E). Auf die enge Antigenverwandtschaft dieser Viren weisen u.a. Pedersen et al. (1976a, 1978) und Horzinek et al. (1982) hin.

## Literaturübersicht

Order:	Nidovirales						
Family:	Arteriviridae			Coronaviridae			
Genus:	<i>Arterivirus</i>		<i>Torovirus</i>		<i>Coronavirus</i>		
Species:	Equine arteritis virus	EAV	Equine torovirus	ETV	Transmissible gastroenteritis virus	TGEV	I
	Porcine reproductive and respiratory syndrome virus	PRRSV	Bovine torovirus	BoTV	Feline coronavirus	FCoV	
	Lactate dehydrogenase-elevating virus	LDV	Porcine torovirus	PoTV	Canine coronavirus	CCV	
	Simian hemorrhagic fever virus	SHFV			Human coronavirus	HCV 229E	
					Porcine epidemic diarrhea virus	PEDV	
					Mouse hepatitis virus	MHV	II
					Bovine coronavirus	BCV	
					Human coronavirus	HCV OC43	
					Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus	HEV	
					Sialoacryoadenitis virus	SADV	
					Turkey coronavirus	TCV	III
					Infectious bronchitis virus	IBV	

Tabelle 1: Übersicht über die Ordnung der Nidovirales (De Vries et al. 1997)

Anhand des Verhaltens in der Zellkultur und der antigenetischen Verwandtschaft mit dem TGEV und dem CCoV können die feline Coronaviren (FECV und FIPV) in die Typen I und II unterteilt werden (Pedersen et al. 1984). Dabei weisen die Typ II FCoV eine größere antigenetische Verwandtschaft mit dem TGEV und dem CCoV auf. Die FCoV werden ferner in zwei Biotypen eingeteilt, das nahezu apathogene feline enterische Coronavirus (FECV) und das pathogene feline infektiöse Peritonitis Virus (FIPV) (Pedersen et al. 1981).

Coronaviren sind sphärische, 80 - 220 nm große umhüllte Viren, die umgeben werden von 20 nm großen, keulenförmigen Stacheln oder Peplomeren (De Vries et al. 1997). Die Hauptproteine der Gattung Coronavirus sind das Nukleokapsidprotein N und mehrere Envelop-Proteine: das S-Protein (Spikeprotein), das M-Protein (triple-spanning membrane protein) und das Transmembranprotein E (Lai 1990; De Vries et al. 1997). Das Genom besteht aus einer infektiösen positiven 27 - 32 kb großen Einzelstrang-RNA mit einem polyadenylierten 3'- und einem „capped“ 5'-Ende (De Vries et al. 1997).

Das Genom der Coronaviren besitzt mehrere offene Leserahmen (open reading frames, ORF) bzw. Gene. Das FCoV und das CCoV haben darüber hinaus zusätzliche ORF (De Groot et al. 1988; Vennema et al. 1992).

Das Genom des FCoV weist wahrscheinlich 11 Gene auf: zwei nicht-Struktur-Gene für die Replikase, vier Struktur-Gene für Proteine von Spikes, Hülle, Membran und Nukleokapsid sowie die fünf akzessorischen (Gruppen-spezifischen) Gene 3a, 3b, 3c und 7a und 7b (Pedersen 2009).

Die Gruppen-spezifischen Gene der FCoV treten in zwei Clustern auf, einerseits die Gene 3a, 3b und 3c (befinden sich zwischen dem S- und dem E-Gen) und die Gene 7a und 7b (am 3'-Ende des viralen Genoms). Gruppen-spezifische Gene befinden sich in jeder der vier Gruppen von Coronaviren (das SARS-Coronavirus als Gruppe 4), obwohl sich sowohl ihre Struktur als auch die Lokalisation zwischen den Gruppen unterscheiden (Abbildung 1). Für keines der Gruppen-spezifischen Genprodukte wurde eine Funktion gefunden (Haijema et al. 2004).

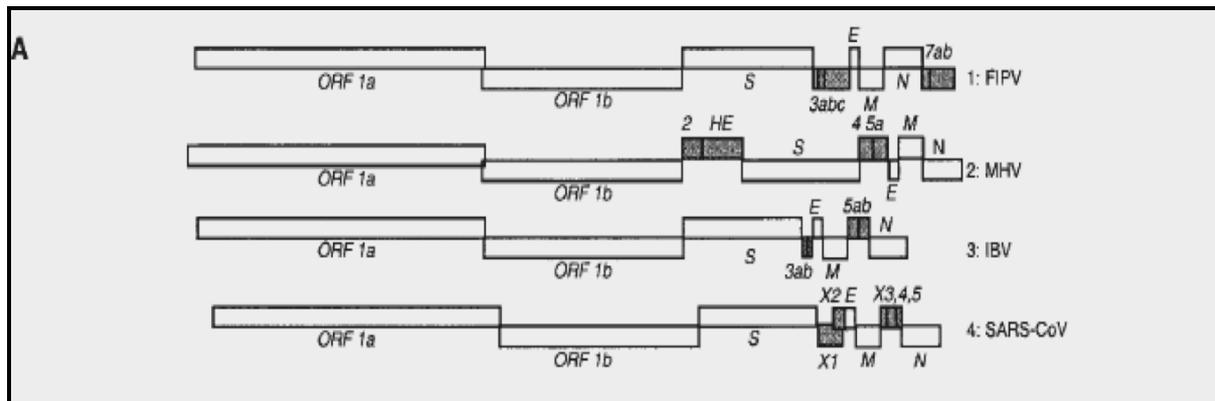


Abbildung 1: Genomische Organisation der Gruppen-spezifischen Gene der Coronaviren (Haijema et al. 2004)

Fiscus und Teramoto konnten mit Hilfe eines umfangreichen Panels monoklonaler Antikörper sieben FCoV-Isolate zwei antigenetischen Gruppen zuordnen; in der Gruppe 1 finden sich die Isolate FIPV-DF2, FIPV-UCD-1, FIPV-UCD-4, FIPV-TN406 und FIPV-79-1146; diese Isolate sind zumeist virulent für Katzen. Die Gruppe 2 besteht aus dem Isolat FIPV-UCD-2, das avirulent für Katzen ist. Das Isolat FECV-79-1683 teilt einige Epitope mit den virulenten FIPV-Stämmen und mit dem avirulenten FIPV-UCD-2-Stamm. Der wesentliche antigenetische Unterschied zwischen beiden Gruppen liegt im S-Protein E2 (Fiscus und Teramoto, 1987a und b; De Groot et al. 1989).

Zahlreiche andere Untersucher verwendeten ebenfalls Sammlungen monoklonaler Antikörper, um Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den FCoV und anderen Coronaviren der Gruppe I aufzuzeigen, u.a. Hohdatsu und Mitarbeiter (1991a und b). Dem gleichen Zweck dienten Sequenzanalysen von Coronavirus-Isolaten, u.a. von Motokawa und Mitarbeiter (1996).

Das Vorkommen von Antikörpern gegen Typ II FCoV untersuchten Hohdatsu und Mitarbeiter (1992) bei insgesamt 1079 Katzen in Japan; alle 42 an FIP erkrankte Katzen, 21,3 % der Katzen mit „chronischen Krankheiten“ und 14,6 % der klinisch gesunden Katzen wiesen entsprechende Antikörper auf. Im Gegensatz dazu fanden Shiba und Mitarbeiter (2007) ebenfalls in Japan, dass Antikörper gegen das Typ I FCoV bei 49 von 50 (98 %) untersuchten Katzen vorkommen.

### **2.3 Epidemiologie der FIP**

Serologische Studien sowie die Auswertung einschlägiger Literatur durch Horzinek und Osterhaus haben bereits 1979 eine weltweite Verbreitung der FIP nahe gelegt.

#### **2.3.1 Tierart / Rasse**

Neben der Hauskatzen sind auch andere Feliden anfällig für eine FCoV Infektion, u.a. Europäische Wildkatze (*Felis sylvestris*) (Watt et al. 1993), Serval (*Felis serval*) (Juan-Sallés et al. 1998), Leopard (*Panthera pardus*) (Tuch et al. 1974) und Gepard (*Acinonyx jubatus*) (Pfeifer et al. 1983). Bei Katzen wird eine Rassedisposition beschrieben für Abessinier-, Bengal-, Birma-, Himalaya- und Ragdoll-Katzen, während Burma-, Manx-, Perser- und Siam-Katzen ein geringeres Erkrankungsrisiko haben; außerdem sind Mischlingskatzen weniger häufig im Vergleich mit den empfänglichen reinrassigen Katzen betroffen (Pesteanu-Somogyi et al. 2006).

#### **2.3.2 Alter**

Am häufigsten an FIP erkranken und versterben junge Katzen im Alter von 4 Monaten bis 2 Jahre (Pedersen 1976b; Foley et al. 1997b; Addie und Jarrett 1992). Prinzipiell können Katzen jedoch in jedem Alter erkranken, wobei Erkrankungen jenseits des 5. Lebensjahres selten sind (Pedersen 2009). Infektionen mit FCoV vor der 10. Lebenswoche sind ebenfalls selten, was auf eine bestehende passive maternale Immunität zurückgeführt wird (Foley et al. 1997a). Walter und Rudolph (1989) haben die Altersverteilung der verschiedenen histopathologischen Bilder (exsudative, granulomatöse und gemischte Form) untersucht und keinen signifikanten Einfluß des Alters gefunden.

Die Gründe für die Altersdisposition sind nicht geklärt; offenkundig finden Infektion mit und hochgradige Vermehrung und Ausscheidung von FECV bereits im jungen Alter, ab 10. Lebenswoche (Harpold et al. 1999) bzw. mit 7 bis 18 Monaten (Foley et al. 1997a) statt, was die Wahrscheinlichkeit der Entstehung des mutierten FIPV erhöht; ein noch nicht voll ausgereiftes Immunsystem könnte darüber hinaus die Ausbreitung des FIPV im Körper des infizierten Tieres begünstigen (Pedersen et al. 2008).

### **2.3.3** Geschlecht

Ein Einfluß des Geschlechts auf die Erkrankung an FIP ließ sich statisch nicht absichern (Walter und Rudolph 1989; Foley et al. 1997b; Pesteanu-Somogyi et al. 2006).

### **2.3.4** Haltungsart

Die Prävalenz einer FECV-Infektion liegt bei einzeln gehaltenen Katzen nur bei etwa 20%, in größeren Katzenhaltungen wie Mehrkatzenhaushalten, Tierheimen und Katzenzuchten können 80 bis 90% der Tiere betroffen sein (Pedersen 1976b; Foley et al. 1997a; Horzinek und Osterhaus 1979; Pedersen et al. 1981).

### **2.3.5** Jahreszeit

Während ein Einfluß der Jahreszeit auf die Ausscheidung von FCoV mit dem Kot nicht nachzuweisen ist (Foley et al. 1997a; Harpold et al. 1999), treten Todesfälle durch FIP häufiger im Herbst und Winter auf (Foley et al. 1997b).

### **2.3.6** Ausscheidung und Übertragung

Für die Betrachtung des Übertragungsmodus der FCoV darf die zugrundegelegte Hypothese zur Entstehung der FIP - „in-vivo-Mutations-Hypothese“ versus „zirkulierendes-virulentes-avirulentes-FCoV-Hypothese“ (Brown et al. 2009) - nicht unberücksichtigt bleiben. Geht man davon aus, dass für die Übertragung nur das FECV eine Rolle spielt (in-vivo-Mutations-Hypothese), so muß man zwangsläufig von einem fäkal-oralen Übertragungsmodus ausgehen, wie ihn u.a. Pedersen und Mitarbeiter (2008) sowie Kipar und Mitarbeiter (2010) beschrieben haben. Sollten aber pathogene FCoV eine Rolle bei der Entstehung der FIP zukommen (zirkulierendes-virulentes-avirulentes-FCoV-Hypothese), so sind auch andere Ausscheidungswege für das FIPV in Betracht zu ziehen, wie der häufig ebenfalls hochgradig veränderte Atmungs- oder Harntrakt (Walter und Rudolph 1989). Virusausscheidung über den Oropharynx nach experimenteller parenteraler Infektion beschreiben Stoddart und Mitarbeiter (1988); und Hardy und Hurvitz (1971) können FIP bei einer von drei Empfängerkatzen mit Harn von an FIP erkrankten Katzen auslösen.

Durch experimentelle Infektion von SPF-Katzen in einem Alter von 10 Wochen bis zu 13 Jahren wurde gezeigt, daß die Ausscheidung des FECV bei jungen Katzen (2 – 4 Monate) am höchsten ist, gefolgt von alten Katzen (8 – 13 Jahre); die geringste Menge an Virus wird von mittelalten Katzen (2 – 8 Jahre) ausgeschieden. Große Mengen an Virus wurden für eine Dauer zwischen 2 und 10 Monaten ausgeschieden, um dann in eines von drei Ausscheidungsmustern überzugehen, dauerhafte Ausscheidung, Sistieren der Ausscheidung oder intermittierende Ausscheidung (Pedersen et al. 2008).

### **2.3.7 Immunstatus**

Die Serum-Antikörpertiter und Ausscheidung von FCoV sind nicht signifikant miteinander korreliert (Harpold et al. 1999).

Einen Einfluß des Antikörperstatus bei experimentellen Infektionen sehen Weiss und Scott (1981a) sowie Pedersen und Boyle (1980); so ist der Krankheitsverlauf bei Infektion seropositiver Katzen fulminanter und alle Tiere reagieren gleich empfindlich; die Infektion seronegativer Katzen ist weniger erfolgreich und der Krankheitsverlauf entspricht dem bei spontaner Infektion; seronegative Katzen zeigen bei Gabe von Hyperimmenserum erkrankter Katzen vor der Infektion das gleiche Bild wie die seropositiven Tiere.

Die Höhe des Antikörpertiters und Virusausscheidung sind miteinander gekoppelt, so weisen Tiere, die hochgradig Virus ausscheiden, signifikant höhere Titer (über 1:100) auf als Katzen, die nach experimenteller Infektion bereits wieder aufgehört haben, Virus auszuscheiden (1:25 oder niedriger) (Pedersen et al. 2008).

### **2.3.8 Einfluß von Begleitkrankheiten und anderen Stressoren**

Ohne Einfluß auf die Rate an FIP in größeren Katzenhaltungen blieben die Erkrankung an FeLV, Herpes- und Calicivirus-Infektionen, Dermatomykosen oder Harnwegsinfektionen (Foley et al. 1997b). Eine gleichzeitige Infektion mit dem Felinen Leukosevirus trat in den 70iger und 80iger Jahren des vergangenen Jahrhunderts bei einem Drittel bis zur Hälfte der Fälle von FIP auf (Petersen 2009). Der Vergleich einer experimentellen Infektion mit einem FECV bei Katzen mit einer seit längerer Zeit bestehenden FIV-Infektion und ohne eine solche ergab, dass die fäkale Ausscheidung bei den FIV-infizierten Katzen höhergradiger ist und längere Zeit anhält, was als Hinweis auf eine eingeschränkte Immunabwehr interpretiert wurde (Poland et al. 1996).

Foley und Mitarbeiter (1997a) sowie Pedersen und Mitarbeiter (2008) finden keinen Einfluß von Geburt oder Laktation auf die Virussausscheidung.

### **2.4. Pathogenese der FIP**

Eine ganze Reihe sehr unterschiedlicher Faktoren spielt für die Pathogenese der FIP eine Rolle; einzelne Faktoren sollen deshalb im Zusammenhang aufgeführt werden. Es ist davon auszugehen, dass es noch weitere Faktoren gibt, die ebenfalls von Bedeutung sein können.

#### **2.4.1 Tropismus für Makrophagen**

Die Infektion von Monozyten und Makrophagen wurde als das wichtigste pathogene-tische Ereignis für die Entstehung einer FIP betrachtet. Das mutierte Virus hat einen neuen Tropismus erworben, um sich intensiv in Monozyten und Makrophagen vermehren zu können (Stoddart und Scott 1989). Es herrschte die Auffassung, dass die Replikation des FECV auf die reife Enterozyten beschränkt sei (Pedersen et al. 1981). In der Zwischenzeit ist klar geworden, dass es neben der enteralen Infektion auch zu einer Infektion von Makrophagen kommt, und dass Virus in Organen mit zahlreichen Makrophagen auch bei klinisch gesunden Katzen nachgewiesen werden können (Meli et al. 2004).

Rottier und Mitarbeiter (2005) haben gefunden, dass die FIPV-Spike-Proteine die Determinanten für eine effiziente Infektion davon Makrophagen sind. Interessanterweise liegt diese Eigenschaft nicht im aminoterminalen, rezeptorbindenden Teil des S-Proteins sondern im membran-nahen Anteil der Ektodomäne; die Bedeutung dieser Tatsache ist bislang unklar.

#### **2.4.2 Virusstrategien zur Flucht vor dem Immunsystem**

Es wird angenommen, dass die Invasion von Makrophagen eine entscheidende Rolle bei der FIP spielt, da sich das Virus dort permanent vermehrt ohne effektiv vom Immunsystem eliminiert werden zu können (Poncelet et al. 2008) und dieses in Anwesenheit von hohen Antikörper-Titern (Cornelissen et al. 2007).

Die letztgenannten Autoren haben Makrophagen aus Körperhöhlenergüssen und entzündetem Gewebe isoliert und in Suspension immunzytologisch FIPV, MHC-Klasse-I-Antigen und ein myelomonozytäres Antigen dargestellt, was auch den Nachweis von FIPV und MHC-Klasse-I-Antigen auf der Zelloberfläche ermöglichte. Es konnte gezeigt werden, dass die Makrophagen FIPV enthalten und MHC-Klasse-

I-Antigen auf ihrer Oberfläche exprimieren, FIPV-Antigen war allerdings mit dem gewählten Verfahren nicht auf der Zelloberfläche nachweisbar. Cornelissen und Mitarbeiter schliessen daraus, dass eine Antikörper-abhängige Elimination (komplement- oder zellabhängig) infizierter Makrophagen möglicherweise unterbunden ist; sie können aber nicht ausschliessen, dass zytotoxische T-Lymphozyten die virusinfizierten Makrophagen eliminieren können, da die Sensitivität der Immunzytochemie nicht ausreicht, um eine Beladung von MHC-Klasse-I-Antigen mit Viruskomponenten auszuschliessen (Cornelissen et al. 2007). Diese Daten sind mit Beobachtungen von Dewerchin und Mitarbeitern (2005) vereinbar, die nach in-vitro-Infektion von Monozyten aus Katzen verschiedener Herkunft mit FECV und mit FIPV ebenfalls nur bei rund 50% der infizierten Monozyten Virusantigen (S- und M-Proteine, aber keine N-Proteine) auf der Zelloberfläche mit konfokaler Lasermikroskopie finden konnten. Einen höheren Anteil von Zellen mit Expression von Virusantigen auf der Zelloberfläche haben hingegen Jacobse-Geels und Horzinek (1983) in einer permanenten Makrophagen-ähnlichen Zelllinie beschrieben.

Einen anderen Mechanismus der Immunevasion beschreiben Dewerchin und Mitarbeiter (2006), die zeigen konnten, dass mit FECV oder FIPV infizierte Monozyten virale Proteine auf der Zelloberfläche exprimieren, die durch Zugabe von polyklonalen Antikörpern gegen FCoV bzw. von monoklonalen Antikörpern gegen das Spike- oder Membranprotein in sehr kurzer Zeit internalisiert werden. Damit können sich virusinfizierte Zellen der Immunüberwachung entziehen. Die Internalisierung der Virusproteine ist weder von Clathrin noch von Caveolae oder Rafts abhängig, Aktin, Dynamin, Rho-GTPasen, Phosphatasen und Thyrosinkinasen spielen keine Rolle, es handelt sich vermutlich um einen neuen, bislang nicht beschriebenen Internalisierungsmechanismus (Dewerchin et al. 2008). Die Autoren können ferner zeigen, dass der intrazelluläre Weg über frühe und späte Endosomen führt, aber keine Verbindung zu Lysosomen zustande kommt; damit unterbleibt die Degradation der Proteine, eine Beladung von MHC-Klasse-I-Antigen kann damit unterbunden werden.

### **2.4.3 Die Antigendrift**

Welche Rolle eine mögliche Antigendrift im Rahmen der Entstehung der FIP spielt ist unklar. Poncelet und Mitarbeiter (2008) haben Entzündungsherde im Gehirn immunhistologisch unter Verwendung von zwei monoklonalen Antikörpern untersucht, wobei die Antikörper unterschiedliche Epitope im Nukleokapsidprotein des FIPV erfassen. In Doppelfärbungen mit einem Marker für myelomonozytäre Zellen (MAC 387) konnten sie zeigen, dass es zwei Populationen von Makrophagen gibt, die entweder Virusmaterial mit beiden Epitopen oder nur dem einen von beiden enthalten.

Welche Relevanz der Nachweis von zwei Virusvarianten innerhalb einer einzigen Läsion haben könnte, ist der Publikation nicht zu entnehmen.

### **2.4.4 Nicht-neutralisierende Antikörper und antikörperabhängige Verstärkung**

Antikörper vermögen das Virus zwar *in vitro* zu neutralisieren (z.B. seine Infektiosität für die Kulturzellen zu vermindern), aber sie scheinen die Krankheit *in vivo* zu verstärken, ein Phänomen, welches als antikörperabhängige Verstärkung (antibody-dependent enhancement, ADE) bezeichnet wird (Pedersen und Boyle 1980; Weiss und Scott 1981c). Antikörper erleichtern nach Bildung von Virus-Antikörper-Komplexen oder Virus-Antikörper-Komplement-Komplexen die Aufnahme des Virus in nicht infizierte Monozyten / Makrophagen über den Fc- oder auch Komplement-Rezeptor und können so die Anzahl von infizierten Zellen und von produziertem Virus erhöhen. Dass ein solches Enhancement auch unter Feldbedingungen herrscht, wird von Addie und Mitarbeitern (1995) angezweifelt.

FCoV-Antikörper können aber nicht nur die Virusvermehrung begünstigen, sie sind sehr wahrscheinlich auch an der Entstehung der entzündlichen Veränderungen beteiligt, wie der histologische Nachweis von FCoV-Antikörper-produzierenden Plasmazellen in Entzündungsherden, die gleichzeitig Virusantigen-haltige Makrophagen beherbergen, nahelegt (Kipar et al. 1998).

### **2.4.5 Immunkomplexe und Komplement**

Die Aktivierung der Komplementsystems im Rahmen einer Bildung Antigen-Antikörper-Komplement-Komplexen könnte eine Rolle bei der Entstehung der entzündlichen Prozess spielen. Nach Entwicklung von Antikörpern gegen felines Komplement C3 konnten Jacobse-Geels und Mitarbeiter (1980) C3 und IgG im glomerulären Mesangium von Nieren bei an FIP erkrankten Katzen nachweisen; allerdings berichten die Autoren nicht über den Nachweis von viralem Antigen in der gleichen Lokalisation. Die Beteiligung des Komplementsystems an der Entwicklung der FIP haben Jacobse-Geels et al. (1982) durch die Messung von C3 (hämolytische Aktivität), FCoV-Antikörpern und dem Nachweis von Immunkomplexen mittels eines C1q-Bindungsassays bei experimentell infizierten Katzen gezeigt. Die Bildung von Antikörpern begann 8 bis 13 Tage vor dem Tod der Tiere, anfangs begleitet von einer Zunahme der Komplementkonzentration, die dann in eine Komplementdepletion überging, als Hinweis auf einen Komplementverbrauch in Immunkomplexen.

Dass das Auftreten von FCoV-Immunkomplexen nicht notwendigerweise mit der Entwicklung einer FIP einhergeht, konnten Kipar und Mitarbeiter (1999) bei Katzen zeigen, die über einen langen Zeitraum FIPV ausgesetzt gewesen sind, eine aus-

geprägte Immunantwort gegen das FIPV mit Bildung von Immunkomplexen etabliert hatten, aber trotzdem keine FIP entwickelten.

### **2.4.6 Die Rolle der Virämie bei der FIP-Entwicklung**

Der Nachweis von FCoV-Antigen in intravasalen Leukozyten und in den Läsionen der Vaskulitis deutet darauf hin, dass infizierte Monozyten die Entwicklung von FIP Läsionen vermitteln (Weiss und Scott 1981b). Pedersen und Mitarbeiter (1981) waren der Meinung, dass das apathogene FECV auf den Darmtrakt beschränkt bleibt und nur die generalisierte Infektion mit der Entwicklung einer FIP einhergeht.

Dass bei FCoV-infizierten klinisch gesunden Katzen mittels RT-PCR FCoV-RNA im Plasma bei einem größeren Anteil von Tieren (73% von 41 Katzen) nachgewiesen werden kann, haben bereits Herrewegh und Mitarbeiter (1995b) und auch Gunn-Moore und Mitarbeiter (1998a) gezeigt, ein Befund, der von Simons und Mitarbeitern (2005) noch einmal durch die Untersuchung einer großen Anzahl von Katzen (23 von 424 Tiere) bestätigt werden konnte. In den Untersuchungen von Meli und Mitarbeitern (2004) wurde FCoV-RNA in einer Reihe von extraintestinalen Organen (Mesenterial-Lymphknoten, Leber, Niere, Milz) bei gesunden Katzen gefunden. Daraus ergibt sich, dass die Entwicklung der FIP keine zwingende Folge der generalisierten Ausbreitung des FCoV ist.

Laut Kipar und Mitarbeiter (2005), die FIP als eine durch Monozyten getriggerte Krankheit bezeichnen, ist die Menge an FCoV im Stadium der FIP so groß, dass FCoV-Genom, -Protein und sogar komplette Virionen in den Makrophagen der Läsionen nachweisbar sind. Dieses zeigt, dass es einen quantitativen Unterschied im Ausmaß der Monozyten-Infektion zwischen gesunden Katzen und Katzen mit FIP gibt.

Die nahezu ausschließlich Venen betreffende Vaskulitis ist anscheinend mit einer hohen Monozyten-assoziierten Virämie assoziiert, und weil die Läsionen in verschiedenen Stadien der Entwicklung vorliegen, ist es wahrscheinlich, dass Katzen einer wiederkehrenden Monozyten-assoziierten Virämie unterliegen, mit der Entwicklung von neuen Läsionen in jeder neuen virämischen Phase (Kipar et al. 2005).

Ein möglicher Ausgangspunkt für Monozyten mit einem hohen Virusgehalt, am Übergang von gesunden FCoV-Trägern zu Katzen mit FIP, könnten Organe mit spezialisierten ortständigen Makrophagen sein. Diskutiert werden, neben den den Darm drainierenden Mesenterial-Lymphknoten, vor allem die Von Kupffer-Zellen der Leber und die intravasalen Monozyten in der Lunge (Kipar et al. 2010).

### 2.4.7 Aufnahme des FCoV in Zellen

Die Aufnahme von FCoV in Monozyten haben van Hamme und Mitarbeiter (2007) untersucht. Dabei konnten sie einen quantitativen Unterschied in der Aufnahme von Typ I und Typ II FCoV feststellen. Die Aufnahme erfolgt durch Endozytose der Viruspartikel und nicht durch deren Fusion mit der Zellmembran. Über die Natur des Rezeptors auf den Monozyten wird keine Aussage gemacht.

Einige Mitglieder der Gruppe 1 der Coronaviren (TGEV, FCoV, humanes Coronavirus 229E) nutzen die Aminopeptidase N (APN), eine Zelloberflächen-Metalloprotease, als Rezeptor (Delmas et al. 1992; Yeager et al. 1992; Tresnan et al. 1996). Die menschliche APN vermittelt nur die Infektion mit HCV 229E, während Schweine APN nur die TGEV-Infektion vermittelt. Im Gegensatz dazu zeigt die feline APN diese Spezies-Spezifität nicht, sie dient nicht nur für FECV und FIPV, sondern auch für TGEV, HCV 229E und das CCV als Rezeptor. Die APN wird sowohl auf Makrophagen als auch Enterozyten exprimiert, unterschiedliche Zelltropismen von FECV bzw. FIPV können also nicht auf das unterschiedliche Vorkommen des Rezeptors zurückgeführt werden (Tresnan et al. 1996). Die feline APN der Enterozyten soll nur als Rezeptor für Typ-II-FIPV nicht aber für Typ-I-FIPV dienen (Hohdatsu et al. 1998).

### 2.4.8 Arthus-Reaktion

Der morphologische Charakter der häufig gefäßbezogenen Läsionen bei der FIP wurde bereits frühzeitig als Arthus-Reaktion interpretiert (Weiss und Scott 1981a).

Generell kann es zu Entzündungen von Gefäßen unter Vermittlung von Antikörpern und Komplement oder durch T-Lymphozyten kommen. Die Antikörper-vermittelten Formen werden den Überempfindlichkeitsreaktionen vom Typ III zugeordnet; dabei kann die lokale Immunkomplexbildung (Typ Arthus-Reaktion) von der Ablagerung zirkulierender Immunkomplexe (Typ Serumkrankheit) unterschieden werden. Im Falle der Arthus-Reaktion müsste das virale Antigen in der Gefäßwand abgelagert sein (z.B. durch eine lokale Virusproduktion), Antikörper und Komplement lagern sich dann in der Gefäßwand an und lösen eine Entzündung, u.a. durch Anlockung von neutrophilen Granulozyten, aus. Dieser Typ der Vaskulitis spielt sich häufig in kleinen bis mittelgroßen Arterien ab. Im Falle der zirkulierenden Immunkomplexe muss eine Reihe von Vorbedingungen erfüllt sein, damit es zu deren Ablagerung mit anschließender Aktivierung des Komplementsystems kommt; diese Form der Vaskulitis spielt sich häufig in der Glomerula der Niere ab.

Es wurden FCoV-Antigen, Immunglobulin G und Komplement C3 gemeinsam in entzündlichen Herden nachgewiesen (Pedersen und Boyle 1980; Weiss und Scott 1981c), ein direkter Gefäßbezug wurde dabei allerdings nicht beschrieben.

Der Nachweis von zirkulierenden Immunkomplexen wurde von mehreren Untersuchern erbracht (Jacobse-Geels et al. 1980; Kipar et al. 1999); allerdings wird eine Glomerulonephritis nur sehr selten bei der FIP beobachtet

Eine sehr ausführliche Diskussion der Gefäßveränderungen geben Kipar und Mitarbeiter (2005). Die zelluläre Zusammensetzung und die Verteilung der Vaskulitis bei FIP unterscheiden sich deutlich von allen immunvermittelten Vaskulitiden, die bei Mensch und Tier beschrieben sind, aus den folgenden Gründen: 1. Beteiligung von kleinen und mittleren Venen statt postkapillären Venolen sowie das Fehlen einer arteriellen Beteiligung. 2. Keine Dominanz der neutrophilen Granulozyten, bei der FIP stellen die Neutrophilen nach Auffassung der Autoren nur eine Minderheit der infiltrierenden Zellen dar. 3. Bei der älteren vaskulitischen Prozessen findet man eine Zone von B-Lymphozyten um die granulomatöse Infiltration herum, aber keine lymphozytären perivaskulären Infiltrate ("cuffing"), die die initiale leukozytoklastische Entzündung bei einer Immunkomplex-Vaskulitis ersetzen. 4. Das Fehlen von Hinweisen auf einen direkten Angriff auf die Gefäßwand und der Mangel an T-Zellen in den Infiltraten, wie dies z. B. bei akuten Transplantatabstoßung gesehen wird. 5. Schließlich gibt es bislang keine Hinweise auf eine direkte Infektion der Gefäßendothelzellen durch FCoV.

### **2.4.9 Die Rolle von Zytokinen**

Zytokine und andere Entzündungsmediatoren, die vor allem von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten freigesetzt werden, können zweifellos den Charakter und das Ausmass der Läsionen bestimmen (Pedersen 2009).

Eine der ersten Arbeiten, die Interleukine bei Katzen mit FIP bestimmt haben stammt von Goitsuka und Mitarbeiter (1987), die die Freisetzung einer Thymozyten-Proliferations-promovierenden Aktivität (IL-1) aus Peritonealexsudatzellen von Katzen mit FIP gemessen haben und eine erhöhte spontane Abgabe IL-1 feststellen konnten. In einer Folgearbeit verwendete die gleiche Arbeitsgruppe Kulturen von Alveolarmakrophagen von gesunden Katzen, die sie mit FIPV infizierten und konnten ebenfalls eine vermehrte Freisetzung von IL-1 beobachten (Goitsuka et al. 1988). IL-1 $\alpha$ -mRNA wurde mittels in-situ-Hybridisierung in den Makrophagen zahlreicher verschiedener Entzündungsherde bei an FIP erkrankten Katzen dargestellt (Hasegawa und Hasegawa 1991).

Das für die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten entscheidende IL-6 wurde in erhöhten Konzentrationen im Peritonealexsudat und im Serum von an FIP erkrankten Katzen nachgewiesen, dabei überstieg die Konzentration im Exsudat die Serumkonzentration deutlich (Goitsuka et al. 1990).

Die Expression zahlreicher Zytokine haben Gunn-Moore und Mitarbeiter (1998b) bei experimentell infizierten Katzen mittels RT-PCR in den Rundzellen des Blutes untersucht; mit Ausbruch der FIP zeigte sich ein unveränderter IL-6-Spiegel, während IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 und IFN- $\gamma$  deutlich abnahmen. Ebenfalls nach experimenteller Infektion haben Kiss und Mitarbeiter (2004) Zytokine an den Rundzellen des Blutes bestimmt; die Spiegel an IL-4, IL-6 und IL-18 waren unverändert, die Zunahme an IL-10 gering, IFN- $\gamma$  war vermindert, TNF- $\alpha$  erhöht während Änderungen im IL-12-Spiegel vom verwendeten Virusstamm abhängig waren.

Mittels RT-PCR wurde die mRNA von IL-4, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  in Zellen aus Mesenterial- und Mediastinallymphknoten sowie der Milz untersucht; bei den an FIP erkrankten Katzen fand sich eine vermehrte Expression von IL-12, verminderte Expression von IL-4 und IL-12 sowie eine unveränderte Expression von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  (Dean et al. 2003). Eine mäßige Aufregulierung von IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-18 und TNF- $\alpha$  fanden Foley und Mitarbeiter (2003) in Gehirnläsionen bei an FIP erkrankten Katzen mit Gehirnbeteiligung und eine sehr hohe Aufregulierung bei Tieren mit einer generalisierten FIP. Die Makrophagen in den FIP Läsionen

Eine vermehrte Expression von TNF- $\alpha$  mRNA finden Takano und Mitarbeiter (2007a) in den adhären Zellen des Bauchhöhlenergusses von an FIP erkrankten Katzen und diskutieren die Rolle von TNF- $\alpha$  für die gesteigerte Apoptose von Lymphozyten. In einer Folgestudie zeigen die Autoren, dass in FIPV infizierten Alveolar-Makrophagen sowohl der Expression von TNF- $\alpha$  gesteigert ist als auch die Expression der Aminopeptidase N, dem Rezeptor für das FIPV (Takano und Mitarbeiter (2007b).

Sowohl intravasale Monozyten als auch Makrophagen in den perivaskulären Entzündungsherden zeigen immunhistologisch eine vermehrte Expression von IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  (Kipar et al. 2005).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Material

Das in dieser Arbeit untersuchte Material setzte sich aus zwei unterschiedlichen Gruppen von Katzen mit einer Erkrankung an Feliner Infektiöser Peritonitis zusammen.

1. Im Rahmen eines Impfstoffversuchs geimpfte und anschließend einer Challenge-Infektion unterzogene Tiere aus dem Jahr 1999; das Material von 19 Tieren wurde dem Institut für Tierpathologie von Prof. Dr. U. Truyen zur Untersuchung überlassen.

2. Von 16 Katzen mit einer spontanen FIP die verstorben oder euthanasiert worden waren aus dem Zeitraum zwischen 2008 und 2012. Ein Teil der Tiere gelangte im Rahmen einer Kooperation mit der Medizinischen Kleintierklinik der Tierärztlichen Fakultät zur Sektion.

Von allen Tieren wurden Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Ernährungszustand und eventuelle Grunderkrankungen detailliert festgestellt (Tabelle im Anhang).

Proben für die histologische Untersuchung wurden von folgenden Organen entnommen: Leber, Milz, Niere, Herz, Lunge, Trachea, Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum, Caecum, Colon, Pankreas, Thymus, Tonsille, Zunge, Ln. mesenterialis, Ln. retropharyngeus, Ln. popliteus, Ln. pancreaticoduodenalis, Grosshirn, Kleinhirn, Auge, Membrana synovialis.

Die Gewebe wurden direkt nach der Entnahme für 24 Stunden in 4%-igem Paraformaldehyd bei Raumtemperatur auf einem Taumler (siehe Anhang) fixiert.

Danach erfolgte das Zuschneiden der Gewebe und das Verbringen in Einbettungskassetten. Von allen oben genannten Organen wurden Proben sowohl in Paraffin, für die Immunhistochemie, als auch in Kunststoff eingebettet.

Für die histopathologische und immunhistologische Auswertung sind die Veränderungen in folgenden Bestandteilen untersucht worden:

Leber, Leberserosa, Milz, Milzserosa, Milzband, Pankreas, Pankreasserosa, Pankreasband, Magenfundus, Serosa des Magenfundus, Mesenterium des Magenfundus, Magenpylorus, Serosa des Magenpylorus, Mesenterium des Magenpylorus, Duodenum, Serosa des Duodenums, Mesenterium des Duodenums, Jejunum, Serosa des Jejunums, Mesenterium des Jejunums, Ileum, Mesenterium des Ileums, Serosa des Ileums, Colon, Serosa des Colons, Mesenterium des Colons, Caecum, Serosa des Caecums, Mesenterium des Caecums, Ln. mesenterialis, Serosa des Ln. mesenterialis, Mesenterium des Ln. mesenterialis, Ln. pancreaticoduodenalis, Serosa des Ln. pancreaticoduodenalis, Niere, Lunge, Pleura pulmonalis, Trachea, Myokard, Endokard, Epikard, Thymus (Brustteil), Serosa des Thymus, Zunge, Tonsillen, L.n. retropharyngeus, Membrana synovialis, Ln. popliteus, Großhirn, Meningen des Großhirns, Kleinhirn, Meningen des Kleinhirns, Auge.

### **3.2 Methoden**

#### **3.2.1 Einbettungsverfahren für Paraffinschnitte**

Ein Einbettungsautomat wurde zum Entwässern und Überführen der Proben in Paraffin verwendet (Autotechnikon, Histomaster Modell 2050/Di, Bavimed, Birkenau):

Spülen 30 min mit Aqua dest.

2 x 1,5 h 70 %-iges Äthanol

2 x 1,5 h 96 %-iges Äthanol

2 x 1,5 h 100 %-iges Äthanol

2 x 30 min Xylol (SAV LP, Flintsbach a. Inn)

1,5 h Xylol 2h Paraffin 60°C (Sherwood Medical, St. Louis, USA)

3 h Paraffin 60 °C

#### **3.2.2 Herstellung von Paraffinschnitten**

Ausgießen der Proben in Paraffinblöcke in einer Ausgießstation (TBS 88 Paraffin Embedding, Medite Medizintechnik, Burgdorf).

Herstellung von ca. 4 - 5 µm dicken Schnitten mit einem Rotationsmikrotom (HM 315, Mikrom, Walldorf) anschließend die Schnitte auf einem Wasserbad strecken (Daglef Patz, Wankendorf).

Aufziehen der Schnitte auf beschichtete Objektträger (76x26 mm, Starfrost, Engelbrecht, Edermünde, Nr. 11250) danach für mindestens 24h bei 40°C im Trockenschrank (Memmert, Schwabach) trocknen lassen.

Die Entparaffinierung der Schnitte erfolgte durch eine ca. 15 minütige Inkubation in Xylol und die Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe (100 %-, 96 %- und 70%-iges Äthanol, Aqua dest.).

Anschließend wurden die Schnitte mit Hämalaun-Eosin-Färbung (HE) sowie nach Giemsa gefärbt.

### **3.2.3 Färbungen für Paraffinschnitte**

#### **3.2.3.1 Hämalaun-Eosin-Färbung**

5 min Mayers Hämalaun (Applichem, Darmstadt, A0884)

4 min Wässern in fließendem Leitungswasser

4 mal Eintauchen in 1 %-ige Eosin-Lösung (Anhang)

Spülen mit Aqua dest.

Dehydrierung in der aufsteigenden Alkoholreihe (70 %-, 96 %- und 100 %-iges Äthanol, jeweils ca. 3 sec )

In Xylol Verbringen

Eindecken mit Coverquick® (Labonord, Mönchengladbach)

#### **3.2.3.2 Giemsa-Färbung**

1 h in Giemsa-Gebrauchslösung (Anhang) im Wasserbad bei 65°C

Spülen in Aqua dest.

1 sec in 0,5 %-iger Essigsäure (Anhang) bis zum Farbumschlag von blau nach rot differenzieren

2 sec 96 %-iges Äthanol

2 x 2 sec 100 %-iges Äthanol

In Xylol Verbringen

Eindecken mit Coverquick® (Labonord, Mönchengladbach)

#### **3.2.4 Einbettungsverfahren und Schnittherstellung für Kunststoffeinbettung**

Verbringen der Probe im Anschluß an die Fixierung für drei Stunden in eine Spülflüssigkeit (Anhang)

Entwässerung in einem Einbettungsautomaten (Citadel 1000, Shandon GmbH, Frankfurt) nach wie folgt :

2 x 1 h 30 %-iges Äthanol

2 x 1 h 50 %-iges Äthanol

2 x 2 h 70 %-iges Äthanol

2 x 2 h 96 %-iges Äthanol

2 x 3 h 96 %-iges Äthanol

Verbringen der Proben für 24 h bei 4°C auf einem Taumler (Modell 4010, Köttermann, Häningsen) in ein 1:1 Kunststoffmonomergemisch aus Methacrylsäure-2-hydroxyäthylester (GMA, Fluka-Nr. 64170) und Methacrylsäuremethylester (MMA, Fluka-Nr. 64200) .

Die Inkubation im Einbettungsmedium (Lösung A, Anhang) wird für mindestens 4 h bei Raumtemperatur durchgeführt.

Dach erfolgt das Verbringen in der Proben im Einbettungsmedium (Lösung A) in luftdicht zu verschliessenden Polyäthylen-Probenbehältern (LDPE mit Schnappdeckel, Diagonal, Münster); dem Einbettungsmedium wird N,N-Dimethylanilin (Merck, Darmstadt, Nr. 803060) zum Starten der Polymerisation hinzugegeben (Lösung B, Anhang).

Die Probengefäße werden um Ableiten der Polymerisationswärme in ein Wasserbad im Kühlschrank bei 4 °C verbracht. Nach Entnehmen auspolymerisierten Blöcke der aus den Probengefäßen und Trimmen der Blöcke folgt das Schneiden mit einem sogenannten Hartschnittmikrotom (HM 360, Mikrom, Walldorf) mit speziellen Hartmetallmessern. Es schliessen sich das Aufziehen auf Objektträger und die Färbungen mit Hämatoxylin-Eosin-Phloxin und nach Giemsa an.

### **3.2.5 Färbung für die Kunststoffeinbettung**

#### **3.2.5.1 Hämatoxylin-Eosin-Phloxin-Färbung**

5 min Färben in saurem Hämalaun nach Mayer (Merck, Darmstadt, Nr. 1.09249)

10 min Wässern in fließendem Leitungswasser

2 sec Differenzieren in 1 %-igem HCl-Alkohol (Anhang)

10 min Wässern in fließendem Leitungswasser

Trocknen erst zwischen Fließpapier, dann auf der Heizplatte (OTS 40, Medite Medizintechnik, Burgdorf) bei 60 °C  
20 min Eosin-Phloxin-Gebrauchslösung (Anhang)  
Spülen in Aqua dest. 2x2 sec  
Trocknen erst zwischen Fließpapier, dann auf der Heizplatte bei 60 °C  
2 sec Xylol 2  
Eindecken in Eukitt

### **3.2.5.2** Giemsa-Färbung

1,5 h Giemsa-Gebrauchslösung (Anhang) im Wasserbad bei 65 °C  
2 sec Phosphat-Puffer (Anhang)  
Differenzieren 2x2 sec in 0,5 %-iger Essigsäure (Anhang)  
Spülen 2 sec in Aqua dest.  
Trocknen erst zwischen Fließpapier, dann auf der Heizplatte bei 60 °C  
2 sec Xylol  
Eindecken in Eukitt

### **3.2.6** Einleitung für die Immunhistochemie (IHC)

Die Immunhistochemie (IHC) ist ein Verfahren, mit dem die Lokalisation von Antigenen in Zellen oder Gewebeschnitten mittels eines gegen das jeweilige Antigen gerichteten Antikörpers, an den unterschiedliche Markersysteme gekoppelt sind, sichtbar gemacht wird. Wurden früher Fluoreszenzfarbstoffe (vor allem Fluorescein-isothiocyanat, FITC) benutzt, so verwendet man heute Enzyme zur Markierung; durch eine enzymhistochemische Reaktion entsteht ein Farbstoffniederschlag, der dann die Bindung des Antikörpers anzeigt.

Es gibt drei Verfahren zum immunhistochemischen Nachweis von Antigenen im Gewebe:

1. Die direkte Methode: es wird ein Antikörper verwendet, der selbst mit dem Marker gekoppelt ist (Einschritt-Verfahren), als Marker wird meistens auch heute noch FITC verwendet; Vorteil: schnelle Verfügbarkeit der Präparate; Nachteile: jeder einzelne Antikörper muß gekoppelt werden, geringe Sensitivität, ein spezielles Mikroskop ist erforderlich, die Präparate bleichen beim Betrachten aus, sie sind nicht dauerhaft einzudecken und damit zu archivieren.

2. Die indirekte Methode: es kommen zwei Antikörper zur Anwendung: der unmarkierte Primärantikörper, der mit dem Antigen reagiert und der markierten Sekundärantikörper, der gegen den Primärantikörper gerichtet ist; Vorteile: wenn alle Primärantikörper aus einer Spezies stammen wird nur ein einziger Sekundärantikörper benötigt; Nachteil: suboptimale Sensitivität.

3. Mehrschrittmethoden: es kommen drei Komponenten zur Anwendung: der unmarkierte Primärantikörper, der mit dem Antigen reagiert, ein sog. Brückenantikörper, der mit dem Nachweisreagenz reagiert und das Nachweisreagenz, bei dem es sich entweder um den sog. Peroxidase-anti-Peroxidase-Komplex- (PAP) oder um das Avidin-Biotin-Komplex- (ABC) Verfahren handelt; beim ABC-Verfahren ist der Brückenantikörper mit Biotin gekoppelt, der ABC-Komplex hingegen meist mit dem Enzym Meerrettich-Peroxidase; Vorteile: hohe Sensitivität; Nachteile: größerer / längerer Arbeitsaufwand, höhere Kosten.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde eine Mehrschrittmethode nach dem ABC-Verfahren, unter Verwendung von Streptavidin und mit dem Enzym Peroxidase angewendet.

### **3.2.6.1 Vorbehandlungen der Schnitte**

Der monoklonale Antikörper hat eine Affinität zu einem definierten Epitop des Proteins / Glykoproteins, das durch seine Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur gekennzeichnet ist. Die Epitope der Proteine werden häufig bei der Fixierung der Gewebe verändert und können dann vom Antikörper nicht mehr erkannt werden, sie sind maskiert (Bell et al. 1987; Ramos-Vara 2005).

Verantwortlich für die Veränderungen der Konformation der Epitope ist die Bildung von Quervernetzungen durch das zur Fixation benutzte Formaldehyd, Bindungen sowohl innerhalb des Proteins als auch zwischen verschiedenen Proteinen (Boenisch 2003). Das Aufbrechen dieser Vernetzungen bezeichnet man als Demaskierung der Antigene. Es erfolgt vielfach durch die Behandlung mit Enzymen oder mit Hitze (Cattoretti et al. 1993; Pileri et al. 1997; Ramos-Vara 2005).

Am meisten verbreitet ist das sogenannte Hitze-induzierte-Epitop-Retrieval (HIER), bei dem die Schnitte für eine unterschiedlich lange Zeit einer unterschiedlich großen

Hitze ausgesetzt werden. Eine wichtige Rolle für den Erfolg von HIER spielt die Zusammensetzung, insbesondere aber auch der pH-Wert, der das Gewebe umgebenden Flüssigkeit (Sprich 2006).

Die enzymatische Vorbehandlung beruht auf dem proteolytischen Andau der Proteine im Schnitt. Dafür wird eine Vorbehandlung der entparaffinierten Schnitte mit Proteasen wie Trypsin, Pepsin oder Pronase beschrieben (Battifora und Kopinski 1986; Ramos-Vara 2005).

Je nach Art der später geplanten Sichtbarmachung der Antigen-Antikörper-Bindung muss die Antikörperinkubation von verschiedenen „Blockierungsschritten“ begleitet werden. Dient Peroxidase als Markersystem so muß die endogene Peroxidase (in Granulozyten und Erythrozyten) blockiert werden, was meistens durch Wasserstoffperoxid in Methanol geschieht.

Meistens erfolgt auch eine Inkubation der Schnitte mit einem Normalserum (von der Tierspezies, von der der Sekundärantikörper stammt), um unspezifische Bindungsstelle zu blockieren und damit Proteininteraktionen zu reduzieren.

Inkubationszeit, Inkubationstemperatur und optimale Antikörpertiter hängen voneinander ab. Typische Inkubationsverfahren sind die Inkubation bei 4°C über Nacht, die Inkubation bei Raumtemperatur für zwei Stunden oder bei 30° bis 37° für eine halbe Stunde. Generell gilt, dass längere Inkubationszeiten deutlich unpraktischer sind, dafür aber gerade bei niedrig-affinen Antikörpern weniger unspezifische Hintergrundfärbungen erzeugen (Sprich 2006).

### **3.2.6.2 Grundlagen der Avidin-Biotin-Komplex-Methode**

Die Avidin-Biotin-Komplex-Methode (ABC-Methode) wird aufgrund der hohen Sensitivität gern in der Immunhistochemie verwendet. Diese Technik basiert auf der hohen Affinität des Glykoproteins Avidin (heute wird es häufig durch Streptavidin ersetzt) zum Biotin, einem Vitamin. Avidin besitzt vier Bindungsstellen für Biotin. Aufgrund der molekularen Ausrichtung dieser Bindungsstellen binden jedoch tatsächlich weniger als 4 Biotinmoleküle, so dass mindestens eine Bindungsstelle für den biotinylierten Sekundärantikörper frei bleibt.

Die sehr hohe Sensitivität macht die (Strept)Avidin-Biotin-Methode attraktiver als die PAP- oder APAAP-Methode.

Die grundsätzliche Abfolge der Immunhistochemie lautet:

1. Unkonjugierter Primärantikörper
2. Biotin-gekoppelter Sekundärantikörper
3. (Strept)Avidin-Biotin-Enzymkomplex (Herstellung nach Firmenangabe)
4. enzymhistochemische Reaktion in einer Substrat-Chromogen-Lösung

### **3.2.6.3** Protokoll für die Immunhistochemie

- Trocknung der Schnitte im Trockenschrank (Memmert, Schwabach) bei 37 ° C
- Entparaffinierung der Schnitte ca. 15 min mit Xylol
- Rehydrierung der Schnitte in einer absteigenden Alkoholreihe (2 x 100%-iges, 2 x 96%-iges, 2 x 70%-iges Äthanol, 2 x Aqua dest.)
- Blockierung der endogenen Peroxidase ca. 10 min in 1%-igem Wasserstoffperoxid
- Spülen für 10 min in TBS (Tris Buffer Saline), pH 7,6 (Anhang)
- Inkubation mit Proteinase-K (Dako, S 3020) 10 min bei Raumtemperatur
- Spülen ca. 10 min in TBS (Tris Buffer Saline), pH 7,6
- Absättigung von elektrostatischen Ladungen im Gewebe und damit Verminderung unspezifischer Anfärbung mit Ziegennormalserum (MP Biomedicals, USA Nr. 092939149), Verdünnung 1:10, ca. 30 min
- Inkubation mit dem Primärantikörper Mäuse-anti-Felines-Coronavirus (FIP) (Ab D Serotec: MCA 2194) Verdünnung 1:400 für 1 h bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer
- Spülen in TBS, pH 7,6, ca.10 min
- Inkubation mit dem Sekundärantikörper (biotinylierter-Ziege-anti-Maus-Ig, Dako, Glostrup, Dänemark, E0433), Verdünnung 1:200, für 1 h bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer
- Spülen in TBS, pH 7,6, ca.10 min
- Inkubation mit Peroxidase markiertem Avidin-Biotin-Komplex (Vector, Peterborough, UK, Nr. Pk-6,100), für 30 min bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer
- Spülen in TBS, pH 7,6, ca.10 min
- Zugabe der Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB)-Gebrauchslösung (Anhang), für 5 min bei Raumtemperatur

- Spülen in fließendem Leitungswasser, 5 min
- Gegenfärbung mit Mayers Hämalaun (Applichem, Darmstadt, A0884), circa 1 min
- Spülen in fließendem Leitungswasser, ca. 5 min
- Dehydrierung in der aufsteigenden Alkoholreihe (1 x 70%-iges, 2 x 96%-iges, 2 x 100%-iges Äthanol)
- Einstellen der Schnitte in Xylol
- Eindecken mit Eukitt



## 4 Ergebnisse

Das Alter, Geschlecht, Körpergewicht sowie der Ernährungszustand aller Tiere sind tabellarisch im Anhang aufgeführt.

Die Befunde, die in dieser Arbeit zum histologischen bzw. immunhistologischen Nachweis des Vorliegens einer FIP dienten, finden sich in Tabelle 2.

Tabelle 2: Befunde für die Diagnose einer Felinen Infektiösen Peritonitis

<b>Makroskopische Befunde</b>	<b>Mikroskopische Befunde</b>	<b>Immunhistologische Befunde</b>
FIP-typische Ergüsse in Körperhöhlen	Fibrinöse Serositis und / oder Fibrininsudation im Parenchym der Organe	Nachweis zahlreicher positiver Zellen in den Läsionen
Fibrinbeläge auf den serösen Häuten	Nekroseherde im Parenchym der Organe	Nachweis einzelner positiver Zellen
kleine oder größere helle Herde in den untersuchten Organen	Entzündung unter Beteiligung von Plasmazellen, Makrophagen, Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten	keine positive Reaktion, aber typische makroskopische und / oder mikroskopische Befunde

### 4.1 Makroskopische Befunde bei den untersuchten Tieren

Prinzipiell können alle Organe durch die in Tabelle 2 aufgeführten Befunden verändert sein, typischerweise treten Veränderungen aber immer nur an einzelnen Organen auf.

Die makroskopischen Veränderungen, die bei unseren Fällen zu beobachten gewesen sind, sollen zusammenfassend dargestellt werden. Diese Veränderungen lassen sich einer oder mehreren von insgesamt vier verschiedenen makroskopischen Bildern zuordnen (Abbildung 2), dieses sind im einzelnen:

**Ergüsse** in Bauch- und / oder Brusthöhle, gelegentlich auch im Herzbeutel; die unterschiedlich umfangreichen Ergüsse sind klar, bernsteinfarben, leicht viskös und deshalb fadenziehend, teilweise finden sich Fibrinbeimengungen in Form gelierender

Massen. Der Erguss kann in Bauch- oder Brusthöhle 100-150 ml und im Herzbeutel 10 ml umfassen.

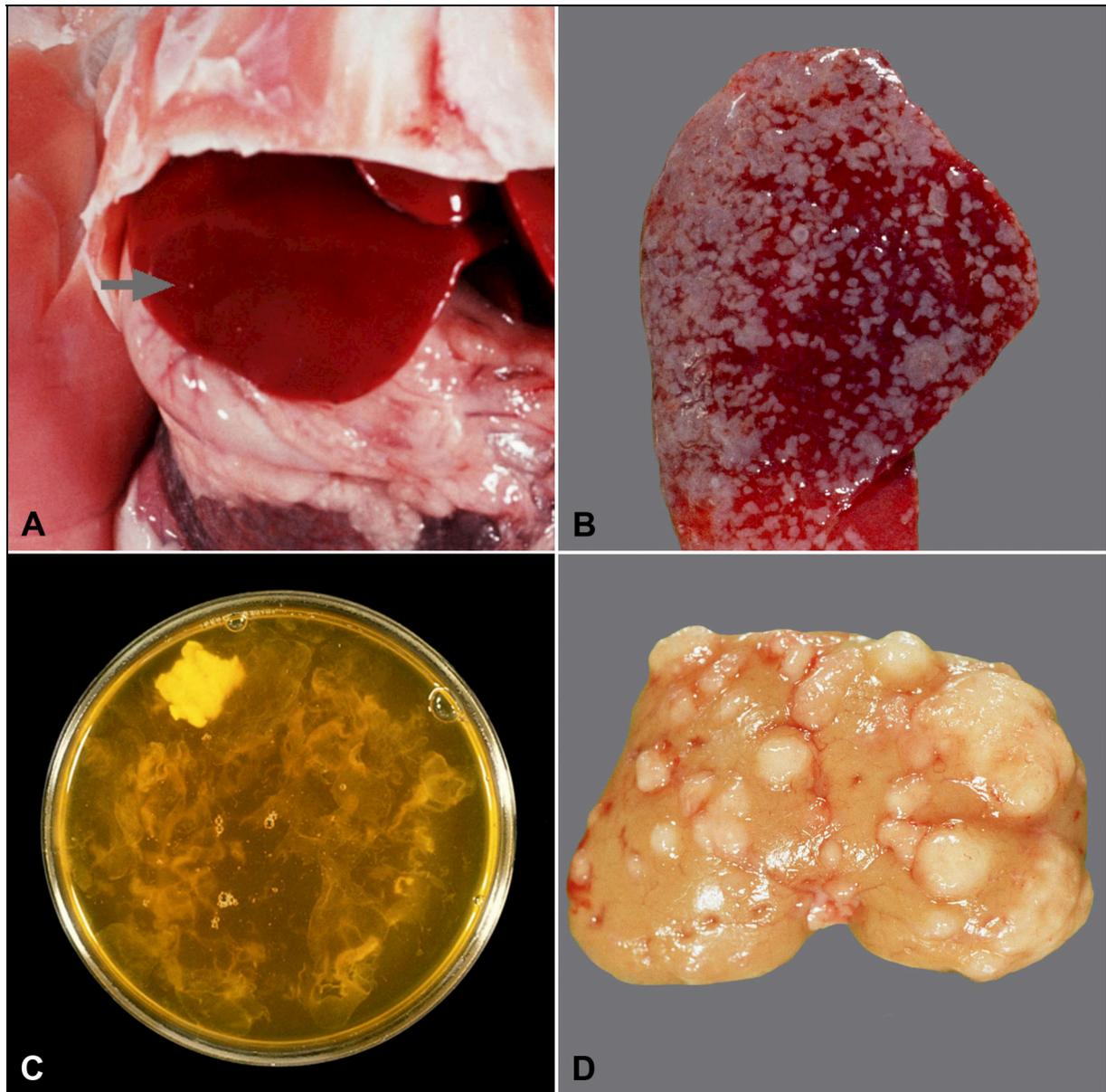


Abbildung 2: Die vier verschiedenen makroskopischen Grundveränderungen bei der Felinen Infektiösen Peritonitis, A: kleine weiße Herde im Parenchym von Organen, B: fibrinöse Herde auf serösen Häuten, C: Ergüsse in Körperhöhlen, D: große weiße Herde im Parenchym von Organen

**Fibrinauflagerungen** auf den parietalen Blättern von Bauch-, Brust- und Herzbeutelhöhle, auf den mesothelialen Aufhängestrukturen der einzelnen Organe (Bänder) sowie auf den serösen Häuten der Organe (viszerales Blatt): Leber, Milz, Magen,

Darm, Pankreas, Ln. mesenterialis, Ln. pancreaticoduodenalis, Lunge, Thymus, Myokard; außerdem auf den Meningen des Gehirns. Die Auflagerungen können als kleine, etwa 1 - 2 mm im Durchmesser große weißliche, leicht erhabene Plaques oder als größere, meist durch Konfluieren kleiner Herde entstandene Beläge auftreten.

**Weißliche Herde** kommen in zwei unterschiedlichen Größen vor:

**a.** Miliare, 1 bis 2 mm im Durchmesser große Herde in zahlreichen Organen wie Leber, Milz, Darm, Lunge, Pankreas, Lymphknoten, Mesenterium, Netz, aber auch im vorderen Augensegment und in den Meningen.

**b.** Größere, konfluierende, erhabene, teils tief in das Parenchym reichende Herde, die insbesondere in der Rinde der Niere, aber auch in anderen Organen wie Leber, Lunge, Darm, Lymphknoten auftreten können.

Die okulare Form der FIP ist makroskopisch oft nur als Rötung der Iris und einen Fibrinschleier in der vorderen Augenkammer, als Hinweise auf eine Uveitis, zu erkennen. In einem Fall wurde fibrinöse Periorchitis beobachtet.

### **4.2 Histologische Befunde bei den untersuchten Tieren**

Im Bereich der serösen Häute (Bauch-, Brust- Herzbeutelhöhle) fand sich eine fibrinöse Entzündung unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Lymphozyten. Die Serosadeckzellen waren im Bereich der Entzündung nicht mehr zu erkennen, die Organkapsel nur noch in unterschiedlichem Umfang erhalten (Abbildung 3).

Unter diesen Herden konnten regelmäßig bandförmige Infiltrate, in denen Plasmazellen dominierten, beobachtet werden (Abbildung 4).

In den Meningen von Groß- und Kleinhirn traten gleichartige Entzündungen mit Fibrininsudation unter herdförmiger Einbeziehung des angrenzenden Hirnparenchyms in die Entzündungszellinfiltration auf.

Im Parenchym der Organe (u.a. Leber, Milz, Darm, Niere, Lunge, Pankreas, Lymphknoten) waren die häufigsten Veränderungen Nekroseherde mit

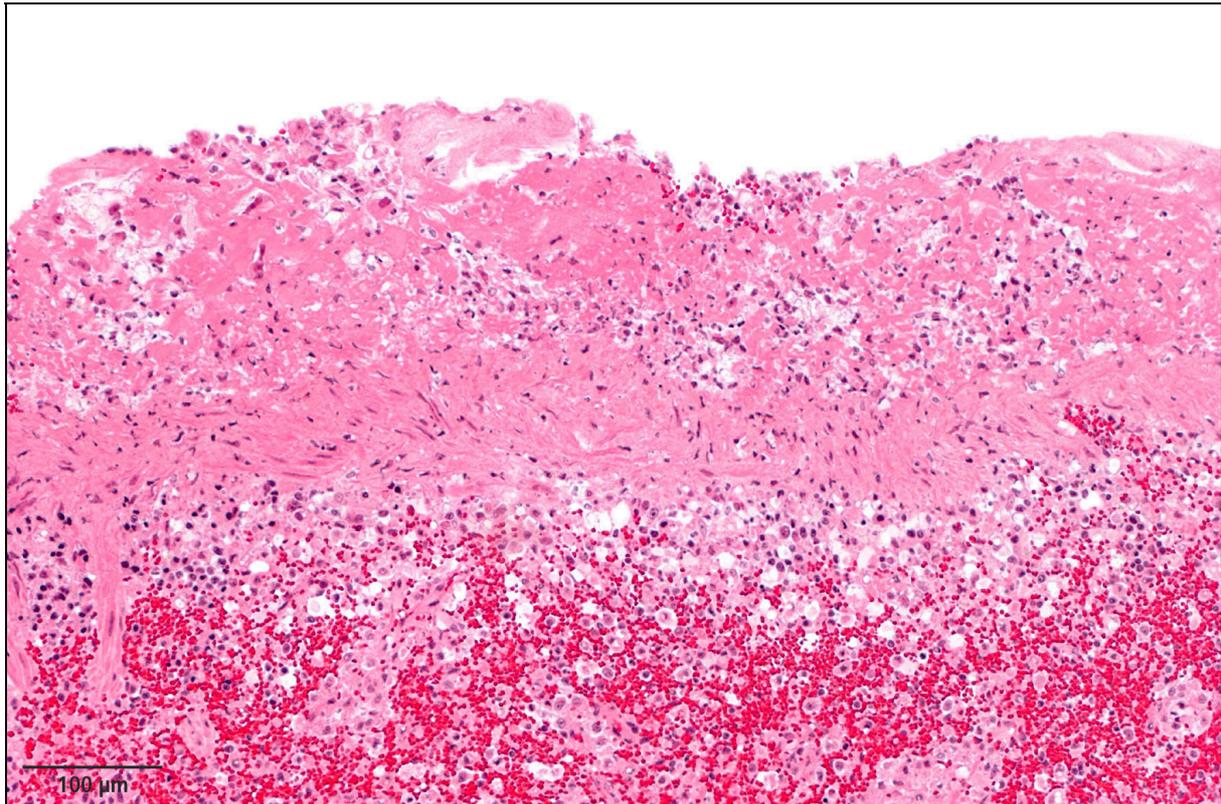


Abbildung 3: Fibrinöse Entzündung der Serosa der Milz; Serosadeckzellen sind nicht zu erkennen, wohl aber die Kapsel der Milz. Kunststoff, HE, Tier 373/10

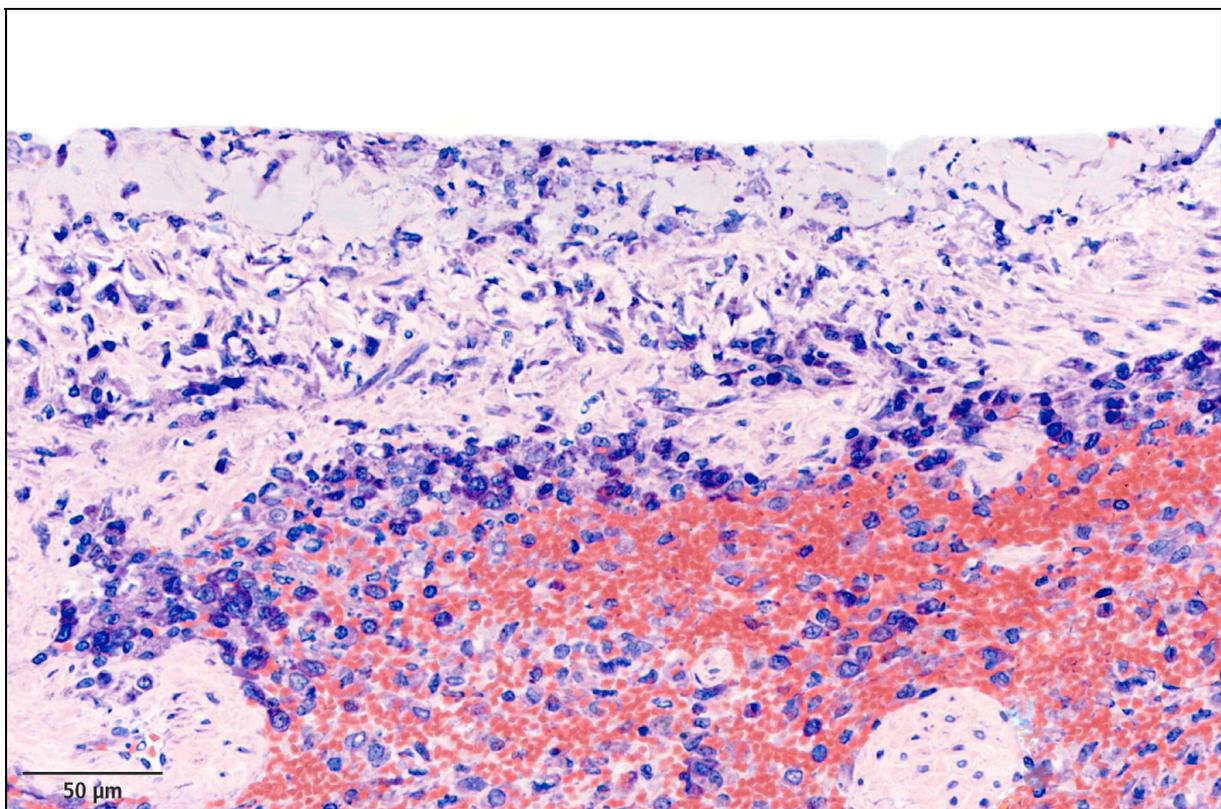


Abbildung 4: Die gleiche Lokalisation wie in Abbildung 3; die subkapsulär findet sich ein schmales Band von Plasmazellen. Kunststoff, Giemsa, Tier 373/10

Fibrininsudation und einer entzündlichen Infiltrationen unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Lymphozyten im Randbereich.

Daneben gab es zahlreiche andere Formen der Entzündung; in der Lunge konnten herdförmig die Kapillaren der Alveolarsepten mit zerfallenden Zellen angehäuft sein (Abbildung 5); in der Niere fanden sich gelegentlich Herde, die ganz überwiegend aus Plasmazellen und Lymphozyten unter geringgradiger Beteiligung von neutrophilen Granulozyten bestand (Abbildung 6).

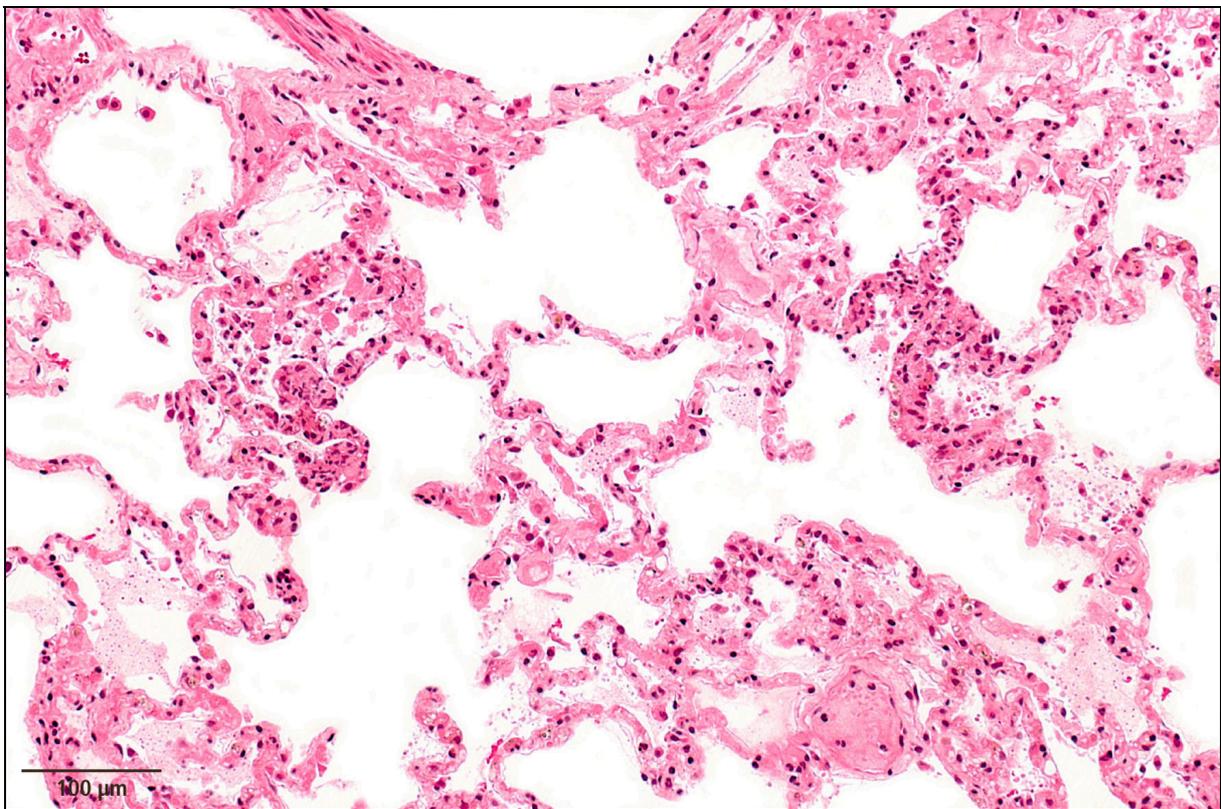


Abbildung 5: Lunge mit herdförmigen Veränderungen; die alveolären Kapillaren sind angefüllt mit zerfallenden Entzündungszellen. Kunststoff, HE, Tier 216/10

Im Auge betreffen die entzündlichen Veränderungen zahlreiche Strukturen. So fanden sich Zellinfiltrate in Sklera, Filtrationswinkel, Irisbasis, Ziliarkörper und Chorioidea unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Lymphozyten (Abbildung 7). Exsudative Retinaablösung mit Hypertrophie des retinalen Pigmentepithels wurden ebenfalls gesehen.

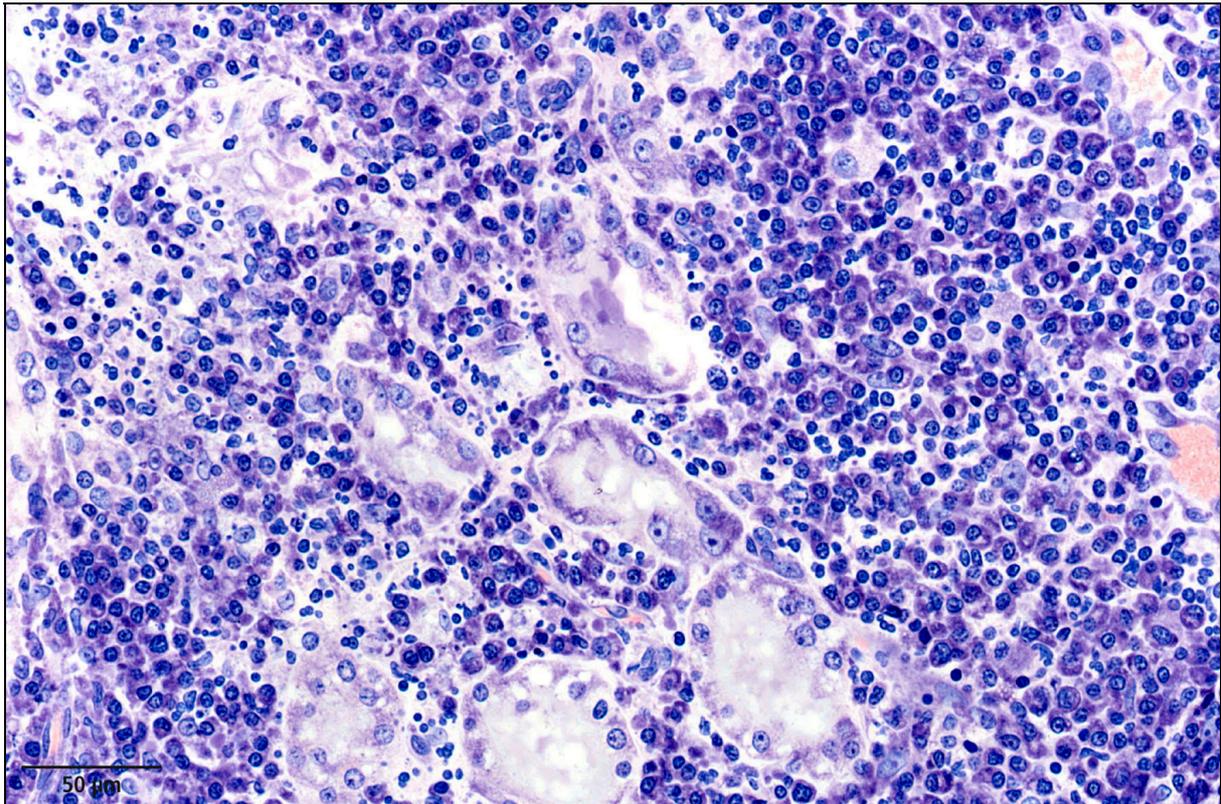


Abbildung 6: Herd in der Nierenrinde, es dominieren Plasmazellen, daneben treten aber auch neutrophile Granulozyten. Kunststoff, Giemsa, Tier 165/10

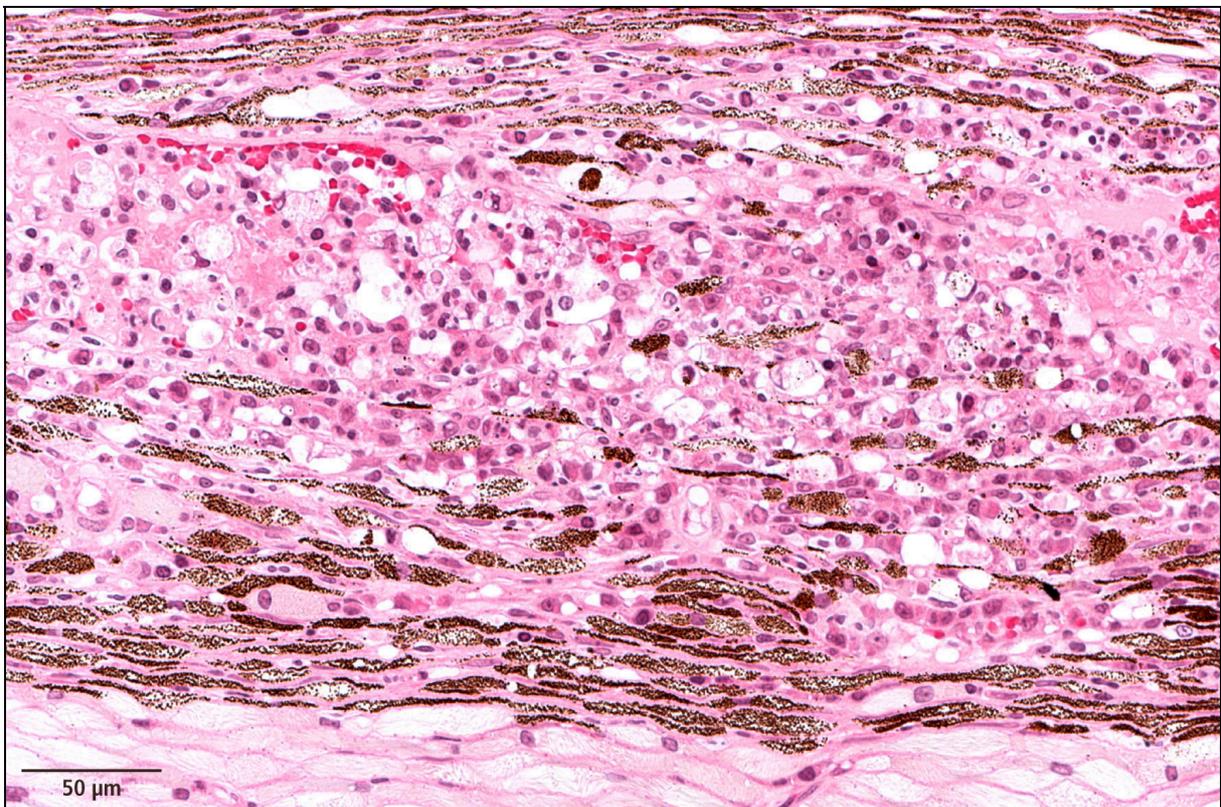


Abbildung 7: Entzündung der Chorioidea mit neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen. Kunststoff, HE, Tier 165/10

Ein Tier zeigte eine disseminierte intravasale Koagulopathie (Tier 320/10), bei einem anderen traten die typischen FIP-Läsionen nur in den lymphatischen Geweben auf (Tier 373/99).

### 4.3 Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung

Ein positives Ergebnis der immunhistologischen Reaktion auf FIPV-Antigen stellte sich als ein braunes feingranuliertes Signal im Zytoplasma von Makrophagen dar (Abbildung 8).

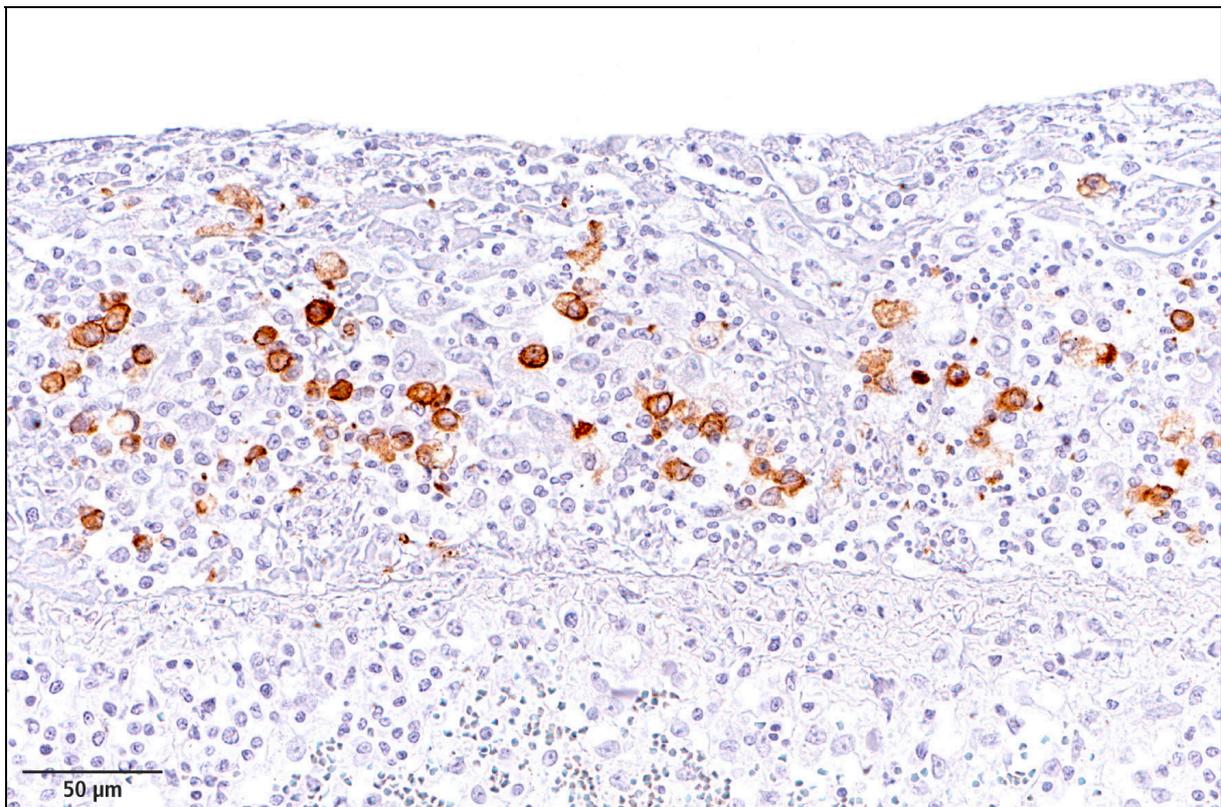


Abbildung 8: Immunhistochemischer Nachweis von FIPV-Antigen in Makrophagen im Bereich einer fibrinösen Perisplenitis. Tier 373/10

Die positiven Zellen traten einzeln, gruppenweise oder zahlreich auf, im Exsudat, auf den serösen Häuten, in den Entzündungsherden innerhalb des Parenchyms der Organe oder in bandförmigen Läsionen unterhalb der Serosa oder Kapsel von Organen.

In Herden mit zerfallenden Zellen ist die Natur der Antigen-haltigen Zelle nicht immer gut zu erkennen (Abbildung 9).

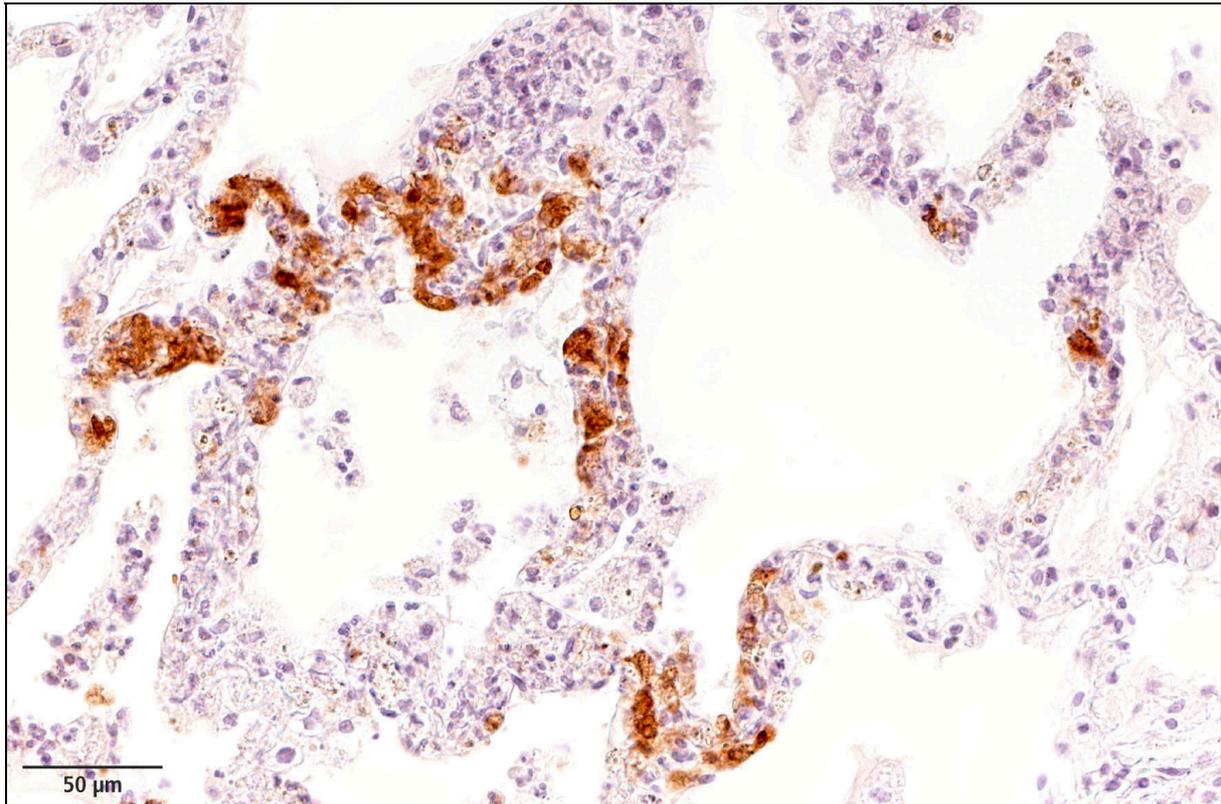


Abbildung 9: Immunhistochemischer Nachweis von FIPV-Antigenen in den Entzündungsherden innerhalb der alveolären Kapillaren (siehe Abbildung 5); der Zerfall der Entzündungszellen macht die Erkennung von Makrophagen schwierig. Tier 216/10

Unspezifischen Reaktionen kamen selten vor. Dabei konnte es sich um ein braunes scholliges Pigment in Makrophagen oder vereinzelt um eine unspezifische Anfärbung des Hintergrundes handeln. Deshalb wurden Zellen nur dann als positiv bewertet, wenn sie braunes feingranuliertes Signal zeigten. Hämosiderin wurde im Zweifelsfall durch eine Eisenfärbung ausgeschlossen.

Für FIP typische Läsionen reagierten nicht in allen Fällen immunhistologisch positiv. Außerdem konnten Geweben, die in der immunhistologischen Untersuchung Makrophagen mit FCoV-Antigenen enthielten, bei der histologischen Untersuchung keine FIP-spezifischen Läsionen aufweisen.

In einem Fall hatte die Leber keine histologischen FIP-Läsionen, die immunhistologische Untersuchung zeigte jedoch eine positive Reaktion in Von Kupffer-Zellen der Leber.

Sonstige Veränderungen und Bemerkungen sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

#### 4.4 Organ-bezogene Verteilung der Läsionen und des FIPV-Antigens

Die zentrale Aufgabe der Doktorarbeit war es, das Verteilungsmuster der Läsionen und des immunhistologisch nachweisbaren FIPV-Antigens in einem großen Spektrum von Organen / Geweben zu ermitteln. Dazu wurden bei insgesamt 35 Tieren mit FIP jeweils 26 Organe / Gewebe an jeweils 53 Lokalisationen untersucht. Da ein umfangreiches Material aus einem Impfversuch im Institut vorlag, wurde dieses in die Untersuchung einbezogen und im Vergleich mit dem Material aus spontan erkrankten Katzen ausgewertet. Die histologischen und immunhistologischen Ergebnisse aller Lokalisationen von allen Tieren sind tabellarisch im Anhang aufgeführt.

Aus dieser Untersuchung soll eine Empfehlung abgeleitet werden, welches oder welche Organe bei Patienten mit der größten diagnostischen Sicherheit zu biopsieren sind. Außerdem sollte die Sensitivität der Routinehistologie mit dem immunhistochemischen FIPV-Antigen-Nachweis verglichen werden.

Es werden die histologischen sowie die immunhistologischen Untersuchungsbefunde von den einzelnen Lokalisationen für die Tiere des Impfversuchs in Tabelle 3 und für die spontan an FIP erkrankten Katzen in Tabelle 4 zusammengefasst. Lokalisationen mit einem fraglichen Befund wurden für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt (Tabelle 9).

Tabelle 3: Häufigkeiten der für die FIP typischen histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für FIPV-Antigen in den einzelnen Lokalisationen bei den experimentell geimpften Tieren

<b>Lokalisation</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>	<b>Lokalisation</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>
Leber	13	10	Caecum	13	8
Leber Serosa	9	7	Caecum Serosa	13	8
Milz	11	10	Caecum Mesenterium	7	5
Milz Serosa	14	11	Ln. mesenterialis	12	11
Milz Band	3	1	Ln. mesent. Serosa	7	6
Pankreas	4	3	Ln. mesent. Mesenterium	7	6
Pankreas Serosa	4	2	Ln. pancreaticoduodenalis	7	4
Pankreas Band	4	3	Ln. pancreat. Serosa	4	3
Magen Fundus	1	1	Niere	2	2
Magen Fundus Serosa	2	2	Lunge	7	6

## Ergebnisse

Magen Fundus Mesenterium	2	2	Pleura pulmonalis	8	8
Magen Pylorus	4	3	Trachea	0	0
Magen Pylorus Serosa	7	5	Myokard	0	0
Magen Pylorus Mesenterium	5	4	Endokard	1	0
Duodenum	5	4	Epikard	2	2
Duodenum Serosa	7	6	Thymus (Brustteil)	4	4
Duodenum Mesenterium	5	5	Thymus Serosa	10	4
Jejunum	6	4	Zunge	0	0
Jejunum Serosa	7	4	Tonsille	2	2
Jejunum Mesenterium	4	3	Ln. retropharyngeus	6	6
Ileum	6	2	Membrana synovialis	0	0
Ileum Serosa	5	1	Ln. popliteus	8	4
Ileum Mesenterium	3	2	Großhirn	1	0
Colon	6	5	Großhirn Meningen	1	0
Colon Serosa	7	5	Kleinhirn	0	0
Colon Mesenterium	5	3	Kleinhirn Meningen	1	0
			Auge	0	0

Die Katzen aus dem Impfversuch zeigten histologisch charakteristische Veränderungen in zahlreichen Organen. Die typischen FIP-Veränderungen kamen bei einigen Tieren in bis zu 30 Lokalisationen vor. Alle Tiere dieser Gruppe wiesen typischen FIP-Veränderungen in mindestens 4 Lokalisationen auf.

Bei den Katzen des Impfversuchs wiesen die Milzserosa (n = 14) am häufigsten FIP-typische Veränderungen auf, gefolgt von: Leber, Caecum, Serosa des Caecums (n = 13), Ln. mesenterialis (n = 12) Milzparenchym (n = 11), Thymus-Serosa (n = 10), Leber-Serosa (n = 9). Dagegen zeigten Trachea, Myokard, Zunge, Auge, Kleinhirn (Parenchym), Membrana synovialis in keinem Fall histologische Veränderungen.

FIP-Antigen konnte bei allen Tieren in mindestens 2 Lokalisationen nachgewiesen werden. Bei 7 Katzen befanden sich die Antigene in über 15 Lokalisationen.

Am häufigsten reagierten Ln. mesenterialis und Milz-Serosa positiv (n = 11), gefolgt von Milz und Leber (n = 10), Caecum, Caecum-Serosa und Pleura pulmonalis (n = 8). Die Gewebe von Trachea, Myokard, Endokard, Zunge, Auge, Gehirn, Membrana synovialis reagierte in keinem Fall immunhistologisch positiv.

## Ergebnisse

Tabelle 4: Häufigkeiten der für die FIP typischen histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für FIPV-Antigen in den einzelnen Lokalisationen bei den spontan infizierten Tieren:

<b>Lokalisation</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>	<b>Lokalisation</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>
Leber	9	4	Caecum	4	3
Leber Serosa	11	7	Caecum Serosa	4	3
Milz	4	4	Caecum Mesenterium	1	0
Milz Serosa	8	4	Ln. mesenterialis	9	7
Milz Band	1	0	Ln. mesent. Serosa	4	1
Pankreas	3	3	Ln. mesent. Mesenterium	3	2
Pankreas Serosa	5	3	Ln. pancreaticoduodenalis	5	7
Pankreas Band	2	1	Ln. pancreat. Serosa	7	1
Magen Fundus	0	2	Niere	7	7
Magen Fundus Serosa	3	2	Lunge	7	7
Magen Fundus Mesenterium	4	3	Pleura pulmonalis	6	4
Magen Pylorus	1	1	Trachea	0	0
Magen Pylorus Serosa	3	2	Myokard	2	0
Magen Pylorus Mesenterium	1	1	Endokard	0	0
Duodenum	3	2	Epikard	0	0
Duodenum Serosa	5	4	Thymus (Brustteil)	3	4
Duodenum Mesenterium	3	1	Thymus Serosa	4	2
Jejunum	4	2	Zunge	0	0
Jejunum Serosa	6	3	Tonsille	1	1
Jejunum Mesenterium	0	0	Ln. retropharyngeus	5	7
Ileum	4	4	Membrana synovialis	0	0
Ileum Serosa	3	0	Ln. popliteus	2	3
Ileum Mesenterium	2	1	Großhirn	1	0
Colon	4	4	Großhirn Meningen	2	2
Colon Serosa	6	4	Kleinhirn	1	0
Colon Mesenterium	4	1	Kleinhirn Meningen	2	1
			Auge	5	7

Alle spontan infizierten Katzen dieser Gruppe wiesen histologisch charakteristische Veränderungen in verschiedenen Organen auf. Sie wiesen für FIP typische Veränderungen in mindestens 4 Lokalisationen auf. Keine Katze in dieser Gruppe zeigte mehr als 21 Lokalisationen mit typischen FIP-Veränderungen.

In dieser Gruppe wiesen die Leberserosa (n = 11) am häufigsten FIP-typische Veränderungen auf, gefolgt von Leberparenchym und Ln. mesenterialis (n = 9), Milz-Serosa (n = 8), Lunge, Niere und Serosa des Ln. pancreaticoduodenalis (n = 7). Bei keinem der Tiere traten histologische Veränderungen in Trachea, Endokard, Epikard, Zunge, Membrana synovialis, Magen Fundus oder Mesenterium des Jejunums auf.

Bei 15 von 16 Katzen (93,8%) konnte FIP-Antigen in mindestens 2 Lokalisationen nachgewiesen werden. Bei 3 Katzen fand sich Antigen in mehr als 15 Lokalisationen. Das Tier Nummer 24/10 reagierte hingegen in keiner Lokalisation immunhistologisch positiv, obwohl es FIP-typische Veränderungen in 7 Lokalisationen aufwies.

Am häufigsten reagierten Niere, Lunge, Leberserosa, Ln. pancreaticoduodenalis, Ln. mesenterialis, Ln. retropharyngeus und Auge positiv (n = 7), gefolgt von Pleura pulmonalis, Thymus, Milz, Milz-Serosa, Ileum, Colon, Serosa des Colons, Serosa des Duodenum bei 4 Tieren.

FIPV-Antigen konnte dagegen bei keinem der spontan an FIP erkrankten Tier in Trachea, Myokard, Endokard, Epikard, Zunge, Membrana synovialis, Großhirn (Parenchym), Kleinhirn (Parenchym), Mesenterium des Caecum, Mesenterium des Jejunum, Serosa des Ileums und Milzband nachgewiesen werden.

Faßt man die Impftiere und die spontan an FIP erkrankten Tiere zusammen, so konnten bei allen Tieren in mindestens 4 Lokalisationen typische histologische Veränderungen beobachtet werden. Insgesamt 34 der 35 der untersuchten Tiere (97,1%) wiesen in mindestens 2 Lokalisationen ein positives immunhistologisches Ergebnis auf.

Bei allen 35 untersuchten Tiere waren Trachea, Zunge und Membrana synovialis histologisch unverändert, und Myokard, Endokard, Klein- und Großhirn reagierten in keinem Fall immunhistologisch positiv.

Der prozentuale Anteil der Lokalisationen mit histologischen Veränderungen bzw. immunhistologisch nachgewiesenem FIPV-Antigen findet sich in den Tabellen 5 und 6 (in den Schnitten fehlende Lokalisationen wurden bei der Berechnung berücksichtigt).

## Ergebnisse

Tabelle 5: Prozentuale Anteile der für die FIP typischen histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für FIPV-Antigen in den einzelnen Lokalisationen bei den experimentell geimpften Tieren

<b>Lokalisation</b>	<b>HE %</b>	<b>IP %</b>	<b>Lokalisation</b>	<b>HE %</b>	<b>IP %</b>
Leber	68,4	52,6	Caecum	68,4	42,1
Leber Serosa	47,3	36,8	Caecum Serosa	68,4	42,1
Milz	57,8	52,6	Caecum Mesenterium	36,8	26,3
Milz Serosa	73,6	57,8	Ln. mesenterialis	63,1	57,8
Milz Band	16,6	5,5	Ln. mesent. Serosa	36,8	31,5
Pankreas	22,2	15,7	Ln. mesent. Mesenterium	36,8	31,5
Niere	21	10,5	Ln. pancreaticoduodenalis	38,8	22,2
Pankreas Band	21	15,7	Ln. pancreat. Serosa	22,2	16,6
Magen Fundus	5,2	5,2	Niere	10,5	10,5
Magen Fundus Serosa	10,5	10,5	Lunge	36,8	31,5
Magen Fundus Mesenterium	10,5	10,5	Pleura pulmonalis	42,1	42,1
Magen Pylorus	21	15,7	Trachea	0	0
Magen Pylorus Serosa	36,8	26,3	Myokard	0	0
Magen Pylorus Mesenterium	26,3	21	Endokard	5,2	0
Duodenum	26,3	21	Epikard	10,5	10,5
Duodenum Serosa	36,8	31,5	Thymus (Brustteil)	22,2	21
Duodenum Mesenterium	26,3	26,3	Thymus Serosa	55,5	21
Jejunum	31,5	21	Zunge	0	0
Jejunum Serosa	36,8	21	Tonsille	13,3	12,5
Jejunum Mesenterium	22,2	16,6	Ln. retropharyngeus	31,5	31,5
Ileum	50	11,7	Membrana synovialis	0	0
Ileum Serosa	35,7	5,8	Ln. popliteus	44,4	22,2
Ileum Mesenterium	17,6	11,7	Großhirn	5,2	0
Colon	31,5	26,3	Großhirn Meningen	5,2	0
Colon Serosa	36,8	26,3	Kleinhirn	0	0
Colon Mesenterium	27,7	16,6	Kleinhirn Meningen	5,2	0
			Auge	0	0

## Ergebnisse

Tabelle 6: Prozentuale Anteile der für die FIP typischen histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für FIPV-Antigen in den einzelnen Lokalisationen bei den spontan infizierten Tieren

<b>Lokalisation</b>	<b>HE %</b>	<b>IP %</b>	<b>Lokalisation</b>	<b>HE %</b>	<b>IP %</b>
Leber	56,2	25	Caecum	25	18,7
Leber Serosa	68,7	43,7	Caecum Serosa	25	18,7
Milz	25	25	Caecum Mesenterium	25	0
Milz Serosa	50	25	Ln. mesenterialis	56,2	43,7
Milz Band	20	0	Ln. mesent. Serosa	26,6	6,6
Pankreas	18,7	18,7	Ln. mesent. Mesenterium	33,3	22,2
Pankreas Serosa	31,2	18,7	Ln. pancreaticoduodenalis	31,2	43,7
Pankreas Band	20	10	Ln. pancreat. Serosa	43,7	6,2
Magen Fundus	0	12,5	Niere	43,7	43,7
Magen Fundus Serosa	18,7	12,5	Lunge	43,7	43,7
Magen Fundus Mesenterium	66,6	50	Pleura pulmonalis	37,7	25
Magen Pylorus	6,2	6,2	Trachea	0	0
Magen Pylorus Serosa	18,7	12,5	Myokard	12,5	0
Magen Pylorus Mesenterium	7,1	7,1	Endokard	0	0
Duodenum	18,7	12,5	Epikard	0	0
Duodenum Serosa	31,2	25	Thymus (Brustteil)	33,3	40
Duodenum Mesenterium	37,5	12,5	Thymus Serosa	33,3	15,8
Jejunum	25	12,5	Zunge	0	0
Jejunum Serosa	37,5	18,7	Tonsille	6,6	6,6
Jejunum Mesenterium	0	0	Ln. retropharyngeus	35,7	50
Ileum	26,6	25	Membrana synovialis	0	0
Ileum Serosa	20	0	Ln. popliteus	13,3	21,4
Ileum Mesenterium	33,3	14,2	Großhirn	6,6	0
Colon	25	25	Großhirn Meningen	13,3	13,3
Colon Serosa	37,5	25	Kleinhirn	6,6	0
Colon Mesenterium	50	12,5	Kleinhirn Meningen	13,3	6,6
			Auge	31,2	43,7

Um die Vergleichbarkeit mit Daten der Literatur zu gewährleisten wurden die positiven histologischen sowie die immunhistologischen Befunde auf die einzelnen Organe bezogen, unabhängig davon, welche der einzelnen Lokalisationen positiv gewesen ist (Tabelle 7).

## Ergebnisse

Tabelle 7: Häufigkeit der histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für die Organe bei den experimentell geimpften und spontan infizierten Tieren

Organ	Häufigkeiten bei geimpften Tieren (n = 19)		Häufigkeiten bei spontan infizierten Tieren (n = 16)	
	HE	IP	HE	IP
Leber	13	10	11	7
Milz	14	11	8	4
Pankreas	4	3	5	3
Magen	7	5	4	3
Darm	13	8	6	4
Ln. mesenterialis	12	11	9	7
Ln. pancreaticoduodenalis	7	4	7	7
Niere	2	2	7	7
Lunge	8	8	7	7
Trachea	0	0	0	0
Herz	2	2	2	0
Thymus	10	4	4	4
Zunge	0	0	0	0
Tonsille	2	2	1	1
Ln. retropharyngeus	6	6	5	7
Membrana synovialis	0	0	0	0
Ln. popliteus	8	4	2	3
Gehirn	1	0	2	2
Auge	0	0	5	7

Bei den 19 geimpften Katzen wies die Milz (n = 14) am häufigsten FIP-typische Veränderungen auf, gefolgt von Leber und Darm (n = 13), Ln. mesenterialis (n = 12), Thymus (n = 10), Lunge und Ln. popliteus (n = 8), Magen und Ln. pancreaticoduodenalis (n = 7), Ln. retropharyngeus (n = 6), Pankreas (n = 4), Niere, Herz, Tonsille (n = 2), Gehirn (n = 1).

Immunhistologisch fand sich FIPV-Antigen am häufigsten in Milz und Ln. mesenterialis (n = 11) gefolgt von Leber (n = 10), Darm und Lunge (n = 8), Ln. retropharyngeus (n = 6), Magen (n = 5), Ln. pancreaticoduodenalis, Ln. popliteus, Thymus (n = 4), Pankreas (n = 3), Niere, Herz und Tonsille (n = 2).

Bei den 16 spontan infizierten Katzen wies die Leber (n = 11) am häufigsten FIP-typische Veränderungen auf, gefolgt von Ln. mesenterialis (n = 9), Milz (n = 8), Ln. pancreaticoduodenalis, Lunge, Niere (n = 7), Darm (n = 6), Ln. retropharyngeus, Pankreas und Augen (n = 5), Magen und Thymus (n = 4), Ln. popliteus, Herz, Gehirn (n = 2), Tonsille (n = 1).

Immunhistologisch fand sich FIPV-Antigen immunhistologisch am häufigsten in Leber, Lunge, Ln. mesenterialis, Niere, Ln. retropharyngeus, Ln. pancreaticoduodenalis, Auge (n = 7), gefolgt von Milz, Darm, Thymus (n = 4), Pankreas, Magen und Ln. popliteus (n = 3), Gehirn (n = 2), Tonsille (n = 1).

Es hat sich gezeigt, dass bei den spontan infizierten Tiere die Leber (13/16), Ln. mesenterialis (9/16) und Milz (8/16) am häufigsten FIP-typische Veränderungen aufweisen, dass aber keines dieser drei Organe bei allen untersuchten Katzen verändert ist. Um die größtmögliche Anzahl positiver Befunde zu erhalten werden Gruppen aus den drei Organen gebildet, unabhängig davon, ob damit ein sinnvolles bioptisches Vorgehen erreicht wird.

Die Daten für die einzelnen Kombinationen sind für die Katzen mit spontaner Infektion in Tabelle 8 und für die Impftiere in Tabelle 9 wiedergegeben.

Wenn die Leber, Milz und Ln. mesenterialis histologische untersucht werden kann die FIP mit großer Wahrscheinlichkeit diagnostiziert werden. Die immunhistologische Untersuchung weist auch bei der Untersuchung der drei am häufigsten histologisch veränderten Organe noch eine erheblich diagnostische Unsicherheit auf, es werden nur 75% der erkrankten Tiere erkannt.

Tabelle 8: Kombinierte Häufigkeiten bei den spontan infizierten Katzen

<b>Organe</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>
Leber + Milz	15/16	10/16
Leber + Ln. mesenterialis	15/16	12/16
Milz + Ln. mesenterialis	14/16	12/16
Leber + Milz + Ln. mesenterialis	16/16	12/16

Tabelle 9: Kombinierte Häufigkeiten bei den geimpften Katzen

<b>Organe</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>
Leber + Milz	19/19	15/19
Leber + Ln. mesenterialis	16/19	15/19
Milz + Ln. mesenterialis	19/19	16/19
Leber + Milz + Ln. mesenterialis	19/19	17/19

#### **4.5 Tier-bezogene Verteilung der Läsionen und des FIPV-Antigens**

Neben der Verteilung der Läsionen und des FIPV-Antigens in den einzelnen Lokalisationen der Organe interessiert auch die Anzahl positiver histologischer und immunhistologischer Befunde bezogen auf die einzelnen Tiere, um Unterschiede in der Sensitivität zwischen Histologie und Immunhistologie zu erkennen und die deutlich unterschiedlichen Häufigkeiten innerhalb der beiden Gruppen (Impftiere, spontan infizierte Tiere) und zwischen den beiden Gruppen darzustellen. Die Werte sind in Tabelle 10 für die Impftiere und Tabelle 11 für die spontan infizierten Katzen aufgeführt.

Sowohl bei den Impftieren als auch bei den spontan infizierten Katzen gibt es einen Unterschied in den relativen Häufigkeiten zwischen dem histologischen und dem immunhistologischen Nachweis von FIP-Läsionen bzw. FIPV-Antigen; bei den spontan infizierten Katzen wurden in 24,6% aller Lokalisationen histologische Veränderungen gefunden, aber nur in 17,4% der Lokalisationen kann FIPV-Antigen nachgewiesen werden. Die entsprechenden Werte lauten bei den Impftieren 27,7% (Histologie) und 20,3% (Immunhistologie).

Die aufgeführten relativen Vorkommenshäufigkeiten zeigen auch einen Unterschied zwischen den Impftieren und den spontan infizierten Katzen, wobei für beide Parameter die Impftiere höhere Werte aufweisen.

Die Variation der relativen Vorkommenshäufigkeiten ist in beiden Gruppen sehr groß und reicht bei den spontan infizierten Katzen für die histologisch positiven Lokalisationen von 8,5 - 47,7% und für die Immunhistologie von 0 bis 46,8% sowie entsprechend bei den Impftieren von 7,0 - 60,0% für die histologisch positiven Lokalisationen und von 5,7 - 48,0% für die Immunhistologie.

## Ergebnisse

Tabelle 10: Häufigkeit der histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für die einzelnen Tiere bei den experimentell geimpften Katzen

Tier-Nr.	HE pos. Lokalisationen	Lokalisationen insgesamt	HE pos. in %	IP pos. Lokalisationen	Lokalisationen insgesamt	IP pos. in %
26/99	21	53	39,6	17	53	32,1
57/99	7	51	13,7	7	53	13,2
126/99	11	51	21,6	3	53	5,7
454/99	16	53	30,2	13	53	24,5
461/99	13	53	24,5	9	52	17,3
462/99	4	51	7,8	3	53	5,7
373/99	3	43	7,0	5	43	11,6
567/99	8	52	15,4	3	53	5,7
568/99	9	51	17,6	4	53	7,5
950/98	29	51	56,9	25	53	47,2
921/98	7	53	13,2	5	53	9,4
917/98	7	51	13,7	4	53	7,5
569/99	7	53	13,2	2	51	3,9
933/98	25	53	47,2	17	53	32,1
974/98	25	53	47,2	16	53	30,2
976/98	22	53	41,5	20	53	37,7
952/98	16	53	30,2	18	52	34,6
951/98	30	50	60,0	24	50	48,0
975/98	10	49	20,4	5	49	10,2
Summe absolut	270	977		200	926	
Durchschnitt (%)	27,7%			20,3%		

## Ergebnisse

Tabelle 11: Häufigkeit der histologischen Veränderungen sowie der immunhistologisch positiven Reaktionen für die einzelnen Tiere bei den spontan infizierten Katzen

Tier-Nr.	HE pos. Lokalisationen	Lokalisationen insgesamt	HE pos. in %	IP pos. Lokalisationen	Lokalisationen insgesamt	IP pos. in %
105/10	8	49	16,3	12	50	24,0
106/10	9	43	20,9	6	42	14,3
1133/09	11	45	24,4	4	45	8,9
24/10	7	44	15,9	0	44	0
1139/09	14	41	34,1	5	43	11,6
165/10	9	48	18,8	11	48	22,9
215/10	6	46	13,0	5	46	10,9
226/10	15	46	32,6	2	46	4,3
1121/09	4	47	8,5	3	47	6,4
1261/09	21	44	47,7	17	44	38,6
216/10	20	47	42,6	22	47	46,8
404/10	21	47	44,7	18	47	38,3
231/10	9	49	18,4	10	49	20,4
901/10	5	46	10,9	3	46	6,5
373/10	16	43	37,2	8	48	16,7
320/10	5	51	9,8	3	51	5,9
Summe absolut	180	736		129	743	
Durchschnitt (%)	24,6%			17,4%		

Die sonstige Veränderungen und Bemerkungen für die Auswertung sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

## Ergebnisse

Tabelle 12: Sonstige Veränderungen und Bemerkungen

<b>Tiernummern</b>	<b>HE</b>	<b>IP</b>
950/98, 569/99, 974/98 917/98, 976/98, 105/10, 106/10, 165/10, 1121/09, 404/10, 215/10, 568/99	<i>in einigen Lokalisationen:</i> fraglich	<i>diese Lokalisationen sind:</i> positiv: 165/10, 404/10, 105/10, 156/10 negativ: 568/99, 569/99, 106/10, 976/98, 1121/09, 404/10 fraglich: 569/99, 1121/09
567/99, 568/99, 921/98, 917/98, 569/99, 226/10, 974/98, 24/10, 156/10	<i>in einigen Lokalisationen:</i> Veränderungen typisch für FIP	<i>diese Lokalisationen sind:</i> fraglich
1121/09, 231/10	<i>Leber:</i> Herdnekrosen	negativ: 1121/09 positiv: 231/10
952/98, 974/98, 106/10	<i>in einigen Lokalisationen:</i> negativ	<i>diese Lokalisationen sind:</i> fraglich
373/10	<i>Pankreas:</i> Infiltrat v.a. von Lymphozyten <i>Trachea:</i> Herd mit Lymphozyten	<i>Pankreas:</i> positiv <i>Trachea:</i> negativ
105/10	<i>Magen, Ileum, Colon, Colon Mesenterium, Caecum, Lunge:</i> Entzündliche Infiltrate <i>Ln. pancreaticoduodenalis:</i> Herd mit Makroph. im Gefäß	<i>Magen, Caecum, Colon- Mesenterium:</i> negativ <i>Lunge, Ileum, Colon, Ileum:</i> positiv <i>Ln. pancreaticoduodenalis:</i> positiv
106/10	<i>Leber:</i> Verdacht auf Lymphom	<i>Leber:</i> positiv
1133/09	<i>Niere:</i> interstitielle Nephritis	<i>Niere:</i> negativ
24/10	<i>Colon:</i> Bild wie bei Parvovirus-Infekt	<i>Colon:</i> negativ

## 5 Diskussion

Die feline infektiöse Peritonitis ist eine Erkrankung, die sowohl die Hauskatze als auch die exotische Feliden betreffen kann. Im Jahre 1966 beschrieben Wolfe und Griesemer in einer Studie bei Katzen mit Aszites und fibrinöser Peritonitis die charakteristischen makroskopischen und histologischen Alterationen, allerdings konnten die Autoren das verursachende Agens nicht identifizieren, obwohl ihnen die Übertragung der Krankheit bereits gelungen war.

Zook und Mitarbeiter (1968) fanden virale Partikel in Serosadeckzellen der Bauchhöhle im Elektronenmikroskop, konnten aber das Virus nicht näher charakterisieren. Ward war es schließlich 1970 gelungen, die Ähnlichkeit der viralen Partikel mit Coronaviren zu beschreiben. Im Jahr 1972 beobachteten Montali und Strandberg, dass neben der bis dahin bekannten - später exsudativ genannten Form - noch eine zweite, sogenannte extraperitoneale granulomatöse Form der FIP existiert.

Bei den ersten immunzytologischen Untersuchungen erkannte Pederson (1976a), dass es sich bei den positiv reagierenden Zellen ausschließlich um Makrophagen-ähnliche Zellen handelt.

Ein zweites felines Coronavirus wird als felines enterales Coronavirus (FECV) bezeichnet. Es konnte aus Katzen mit einer milden, transienten Enteritis isoliert werden (Pedersen et al. 1981). Obwohl sich FECV und FIPV antigenetisch sehr ähnlich sind, ist ihre Pathogenität eindeutig unterschiedlich (Pedersen et al. 1984).

Die Gründe für das Auftreten des FIP-Virus sind bislang nicht sicher geklärt, obwohl mehrere Hypothesen zum Auftreten aufgestellt worden sind; wie z.B. das Auftreten einer Mutation des TGEV des Schweines, dabei ist es bekannt, dass Rekombinationen zwischen den Coronaviren vorkommen (Herrewegh et al. 1998; Wesley 1999; Benetka et al. 2006) oder auch die Veränderungen in der Katzensucht (Pedersen 2009).

Es scheint sicher zu sein, dass nicht eine einzige Mutation in einem einzelnen Gen für die Entstehung des pathogenen FIPV aus dem eher apathogenen FECV verantwortlich ist. Es werden Mutationen im viralen Spike-Gen und in den Gruppen-

spezifischen Genen 3c und / oder 7b in Betracht gezogen (Vennema et al. 1998; Rottier et al. 2005; Chang et al. 2010).

Die Replikation des Virus scheint für die Entstehung der pathogenen Mutante eine Rolle zu spielen. Infektionen von Katzen vor der vollständigen Ausreifung des Immunsystems weisen eine höhere Replikationsrate des FCoV auf, was die Wahrscheinlichkeit von Mutation erhöhen könnte (Pedersen et al. 2008).

Ein wichtiger Faktor in der Pathogenese der FIP ist die Fähigkeit des FIPV Makrophagen zu infizieren. Bereits Ward (1970) hatte das FIPV in Makrophagen innerhalb der typischen Läsionen gefunden. So soll die Entstehung des pathogenen FIPV aus dem avirulenten FECV auch mit einem Wandel im Tropismus der Viren, von Enterozyten hin zu Blutmonozyten, einhergehen. Die Fähigkeit in Monozyten / Makrophagen zu replizieren, ist wiederum Voraussetzung für die generalisierte Ausbreitung des FIPV im Körper.

Die Diagnostik der FIP beruht vor allem auf der histopathologischen Untersuchung von im Rahmen der Obduktion entnommenen Gewebeproben mit Nachweis der typischen FIP-Veränderungen und eventuell einer zusätzlichen immunhistologischen Untersuchung auf Virus-Antigen.

Es können zwar sehr viele Organe von den Veränderungen der FIP betroffen sein, beim einzelnen Tier sind es aber immer nur einzelne Organe in einer nicht vorhersehbaren Auswahl. Daraus resultiert für den Kliniker die Frage welche Organe oder Gewebe er mit der größten Aussicht auf eine definitive Diagnose biotisch gewinnen sollte.

Die zentralen Aufgaben der Doktorarbeit waren es deshalb:

1. die Häufigkeit und Verteilung der histologischen Läsionen in einem möglichst großen Spektrum von Organen mit Hilfe der Lichtmikroskopie zu untersuchen
2. die Häufigkeit und Verteilung des Virus-Antigen in den verschiedenen Organen immunhistologisch zu ermitteln.

In der vorliegenden Studie wurden 35 Katzen (19 Impftiere und 16 spontan infizierte Katzen) aus dem Sektionsgut des Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakul-

tät der LMU München histologisch auf das Vorliegen typischer Veränderungen und immunhistologisch auf das Vorkommen von FIPV-Antigen untersucht. Es wurden bei jedem Tier 53 Lokalisationen in 24 Organen untersucht.

Obwohl die Feline Infektiöse Peritonitis eine bedeutsame Krankheit der Katzen ist und trotz ihres häufigen Vorkommen in größeren Katzenhaltungen, aber auch bei den einzeln gehaltenen Katzen, gibt es nur wenige Studien mit einer Beschreibung der Häufigkeit der Veränderungen in den verschiedenen Organen; nur einige Studien erwähnen Häufigkeiten der Veränderungen und meist auch nur als zusätzliche Befunde oder nur in einer begrenzten Anzahl von Organen.

In der vorliegenden Arbeit wiesen die untersuchten Tiere makroskopische und mikroskopische Veränderungen auf, wie sie auch von anderen Autoren für die FIP der Katze beschrieben worden sind (Wolfe und Griesemer 1966 und 1971; Slauson und Finn 1972; Ward et al. 1974; Hirschberger et al. 1995; Foley et al. 1998; Andrew 2000; Hartmann 2005; Norris et al. 2006).

Die meisten der untersuchten Katzen (26/35) hatten Ergüsse in Körperhöhlen in unterschiedlicher Menge und unabhängig davon, ob das Tier Veränderungen im Sinne der trockenen FIP-Form (Niere, Gehirn und Auge) zeigte oder nicht. Dieser Befund könnte die Aussage stützen, dass die FIP in einem einzelnen Tier sowohl exsudative als auch produktive Veränderungen zeigen kann (Hartmann 2005).

Die Beobachtung, dass eine eindeutige Trennung zwischen den beiden Formen der FIP nur bedingt möglich ist, wird auch von anderen Autoren mitgeteilt; in klarer Form wird dieses von Berg und Mitarbeitern (2005) angesprochen, weshalb hier wörtlich aus deren Arbeit zitiert werden soll: „Indeed, the results of the present study suggest that the commonly used subdivision of the disease into „wet“ and „dry“ forms is based more on clinical presentation than on any morphological criteria. We could not identify a distinct histopathological picture distinguishing wet from dry cases, nor acute/subacute from chronic ones. Although two major types of lesions were observed, one basically necrotizing/fibrinous (type A) and the other one basically granulomatous (type B), there was considerable overlap between the two categories.“

### **5.1 Die immunhistologische Verteilung des FCoV- Antigens in den untersuchten Katzen**

Bei 34 von 35 Tieren (97,14 %) konnte FIPV-Antigen in mindestens 2 Lokalisationen nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis der Immunhistologie stimmt mit Daten von Tammer und Mitarbeitern (1995) überein; die Autoren konnten Virusantigen in 100 von 102 (97%) der untersuchten FIP- Katzen nachweisen. Ein Tier allerdings reagierte in keiner Lokalisation positiv, obwohl es FIP-typische histologische Veränderungen in 7 Lokalisationen aufwies.

Walter und Rudolph (1989) fanden, dass sich Virusantigen vor allem in Mesothelzellen und Zellen des Mononukleären Phagozytensystems befanden und der Nachweis von Antigen in den Entzündungsherden innerhalb der Organe nur gering waren.

In der Studie von Tammer und Mitarbeiter (1995) fand sich Virusantigen nur in den Entzündungsherden. Die Autoren konnten in den Epithelzellen des Verdauungstraktes (Enterozyten) kein Antigen nachweisen, ein Befund, der die Hypothese einer Entstehung des FIPV durch Mutation aus dem FECV nicht unterstützt.

In der vorliegenden Arbeit konnte das FIPV ausschliesslich im Zytoplasma von Makrophagen nachgewiesen werden, ein Nachweis in Mesothelzellen oder Nervenzellen gelang in keinem Fall. Die positiven Zellen traten nicht nur in FIP-spezifischen Granulomen sondern einzeln, gruppenweise oder zahlreich auf im Exsudat, auf den serösen Häuten, in den Entzündungsherden innerhalb des Parenchyms der Organe oder in bandförmigen Läsionen unterhalb der Serosa oder Kapsel von Organen auf.

Im Gegensatz zu der Arbeit von Walter und Rudolph (1989) gelang uns der Virusnachweis in den parenchymatösen Entzündungsherden häufig. So fand sich Virusantigen häufiger in der Lunge selbst als auf der Pleura pulmonalis bei den Katzen mit einer spontanen Infektion.

Bemerkenswert in der Studie von Walter und Rudolph (1989) war, dass das Gehirn der untersuchten Katzen bei über 50% der Fälle im Rahmen der generalisierten Perivaskulitis mit geringgradigen, vaskulär angeordneten Rundzellinfiltraten beteiligt war, aber immunhistologisch nur bei 10% der Tiere positiv reagierte. Im Gegensatz

dazu war das Gehirn in der vorliegenden Arbeit nur selten in die histologischen Veränderungen einbezogen (5 von 34 Tieren, 14,7%) und immunhistologisch nur bei 2 von 34 Tieren (5,9%) positiv.

Die Nieren waren in der gleichen Studie zwar häufig (93,33%) betroffen, meist jedoch nur geringgradig verändert. Bei der immunhistologischen Untersuchung lag der Prozentsatz der betroffenen Nieren bei (13,33%). In der vorliegenden Arbeit waren die Nieren nicht so häufig verändert (9 von 35 Tieren, 25,7) und immunhistologisch bei 9 von 35 Tieren (25,7%) positiv. Der Unterschied könnte auf die größere Anzahl von trockener FIP in deren Studie zurückzuführen sein.

In der vorliegenden Arbeit wiesen die Leber, Ln. mesenterialis und Milz bei den Katzen mit spontaner Infektion und Milz, Leber, Darm, Ln. mesenterialis bei den Impftieren am häufigsten histologische Veränderungen auf.

In Studien von Weiss und Scott (1981a) sowie Walter und Rudolph (1989) waren Leber, Milz und Ln. mesenterialis zwar ebenfalls häufig betroffen, jedoch wies die Lunge am häufigsten histologische Veränderungen auf. Dagegen traten die histologischen Veränderungen in der Lunge in unserer Arbeit nicht ganz so häufig auf.

Obwohl das Jejunum, neben der Lunge, bei Walter und Rudolph (1989) am häufigsten (100%) histologische Veränderungen aufwies, konnten wir Veränderungen im Jejunum nur bei 25 % der Tiere nachweisen.

Bei der immunhistologischen Untersuchung konnten wir Antigen im Ln. mesenterialis bei 18 von 35 untersuchten Tieren nachweisen, gefolgt von Leber bei 17 von 35 sowie Milz und Lunge bei 15 von 35 Tieren. Der Nachweis des Virus-Antigens war in diesen Organen auch nach den Arbeiten von Weiss und Scott (1981a) sowie Walter und Rudolph (1989) häufig.

Bei den 35 von uns untersuchten Katzen waren Trachea, Zunge und Membrana synovialis histologisch unverändert und reagierten immunhistologisch in keinem Fall positiv, während Walter und Rudolph (1989) histologische Veränderungen in diesen Organen beschrieben und Antigen in Trachea und Zunge nachweisen konnten.

Die histologische Veränderungen und der Virusnachweis waren in unserer Arbeit im Ln. mesenterialis häufiger als im Ln. pancreaticoduodenalis. Das widerspricht der Studie von Euler (2005), die histologische Veränderungen und Virusnachweise im Ln. pancreaticoduodenalis häufiger als im Ln. mesenterialis fanden.

Auffällig in der vorliegenden Arbeit ist, dass die Augen bei den spontan infizierten Katzen zu über 40% immunhistologisch positiv reagierten und bei 31,3% der Fälle histologische Veränderungen aufwiesen. Bei den experimentell geimpften Tiere waren die Auge histologisch unverändert und zeigten in keinem Fall eine positive immunhistologische Reaktionen. In den früheren Studien liegt den Prozentsatz für das Auge nicht bei über 10% in der Immunhistologie und bei 20% in der Histologie.

Giordano und Mitarbeiter (2005) haben Material von Leber und Niere mittels Tru-Cut-Biopsien und durch Feinnadelaspiration für die histologische, zytologische, immunzytochemische und histochemische Untersuchungen gewonnen. Sie fanden, dass beide Organe gut Stellen für die bioptische Probennahme darstellen. Dabei war die Leber häufiger betroffen als die Niere. Die Sensitivität der immunhistochemischen / zytochemischen Analyse war gering, wahrscheinlich aufgrund der variablen Verteilung des Coronavirus in den Läsionen.

Unserer Ergebnisse zeigen, dass die Leber eine gute Biopsielokalisation darstellt, gleichzeitig finden wir, dass Milz und Ln. mesenterialis bevorzugte Biopsiestelle gegenüber der Niere sind. In unserer Arbeit hat sich gezeigt, dass bei den spontan infizierten Tiere Leber (13/16), Ln. mesenterialis (9/16) und Milz (8/16) am häufigsten FIP-typische Veränderungen aufweisen, dass aber keines dieser drei Organe bei allen untersuchten Katzen verändert ist. Um die größtmögliche Anzahl positiver Befunde zu erhalten werden Gruppen aus den drei Organen gebildet, unabhängig davon, ob damit ein sinnvolles bioptisches Vorgehen erreicht wird. Wenn Leber, Milz und Ln. mesenterialis bioptisch-histologisch untersucht werden, kann die FIP mit großer Wahrscheinlichkeit diagnostiziert werden.

Der immunhistologische Nachweis von FIPV-Antigen stellt eine zusätzliche Methode für die Routinediagnostik dar. Allerdings weist sie, auch bei der Untersuchung der drei am häufigsten histologisch veränderten Organe (Leber, Milz und Ln. mesente-

rialis), eine deutliche diagnostische Unsicherheit auf, so werden nur 75% der erkrankten Tiere erkannt.

Mehrere Organe, die histologisch keine typischen FIP-Läsionen zeigten, wiesen immunhistochemisch positive Signale auf. Es wird daraus geschlossen, dass eine immunhistochemische Untersuchung in einzelnen Fällen notwendig ist.



## 6 Zusammenfassung

Die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) ist eine seit rund 50 Jahren bekannte, durch feline Coronaviren verursachte Krankheit bei Katzen. Die Pathogenese der FIP ist bis heute nicht völlig geklärt. Außerdem sind die meisten klinischen Diagnoseverfahren unzuverlässig, die histologische Untersuchung veränderter Gewebe im Rahmen der Obduktion gilt als Goldstandard.

Ziel der Untersuchung war es, durch die histologische Untersuchung eines großen Spektrums von Organen jene Organe zu ermitteln, die am häufigsten histologische Veränderungen aufweisen und deshalb die größte Chance für eine erfolgreiche bioptische Diagnostik bieten. Gleichzeitig wurden alle Gewebe immunhistologisch auf das Vorkommen von FIP-Virus-Antigen untersucht.

Von 35 Katzen wurden jeweils 53 Gewebelokalisationen aus 24 Organen histologisch auf typische Veränderungen und immunhistologisch auf FIP-Virus-Antigen hin untersucht; 16 Katzen waren spontan an FIP erkrankt, 19 Tiere stammten aus einem Impfversuch mit anschließender Challenge-Infektion.

Bei den spontan erkrankten Katzen wiesen 180 von 736 Lokalisationen (24,6%) typische histologische Veränderungen auf; in 129 von 743 Lokalisationen (17,4%) konnte FIP-Virus-Antigen nachgewiesen werden. Von den Impftieren zeigten 270 von 977 Lokalisationen (27,7%) histologische Veränderungen und 200 von 926 Lokalisationen (20,3%) wiesen Antigen auf. Die Variation der relativen Vorkommenshäufigkeiten reicht bei den spontan infizierten Katzen für die histologisch positiven Lokalisationen von 8,5 - 47,7% und für die Immunhistologie von 0 bis 46,8% sowie entsprechend bei den Impftieren von 7,0 - 60,0% für die histologisch positiven Lokalisationen und von 5,7 - 48,0% für die Immunhistologie.

Von den spontan erkrankten Katzen (n = 16) war die Leberserosa bei 11, das Leberparenchym und der Ln. mesenterialis bei 9 Tieren verändert. Immunhistologisch reagierten bei 7 Tieren Niere, Lunge, Leberserosa, Ln. pancreaticoduodenalis, Ln. mesenterialis, Ln. retropharyngeus und Auge positiv, gefolgt von Pleura pulmonalis, Thymus, Milz, Milz-Serosa, Ileum, Colon, Serosa des Colons, Serosa des Duodenum bei 4 Tieren.

Bei den Katzen des Impfversuchs (n = 19) wiesen 14 Tiere in der Milzserosa, 13 Tiere in Leber, Caecum, Serosa des Caecums und 12 Tiere im Ln. mesenterialis typische histologische Veränderungen auf. Immunhistologisch reagierten Ln. mesenterialis und Milz-Serosa positiv bei 11 Tieren, gefolgt von Milz und Leber (n = 10) sowie Caecum, Caecum-Serosa und Pleura pulmonalis bei 8 Tieren.

Die Ergebnisse zeigen, dass ein positiver histologischer Befund häufiger ist als der immunhistologische Erregernachweis und dass es keine Lokalisation gibt, die bei allen erkrankten Tieren histologische Veränderungen aufweist. Auch die bioptische Untersuchung zeigt eine diagnostische Lücke, die Biopsie mehrerer Lokalisationen (Leber, Milz, Ln. mesenterialis) ist deshalb zu erwägen

## 7 Summary

### **Orwah Al Milli: Feline Infectious Peritonitis - Histological and immunohistological studies**

Feline infectious peritonitis (FIP) refers to a syndrome caused by systemic infection with feline coronavirus (FeCoV). FIP is known for nearly 50 years, however, our insights on the pathogenesis of FIP has been incomplete ever since. As the clinical diagnosis of FIP is merely contextual, detection of FIP typical histological changes at necropsy remain the backbone of the confirmative diagnosis.

In order to identify the biopsy site with the best diagnostic yield, this post-mortem study focussed on the spatial distribution of FIP characteristic changes throughout the feline organism. An immunohistochemical analysis furthermore was carried out to correlate tissue changes to the evidence intralésional coronavirus antigen.

The study enrolled 35 cats with confirmed FIP due to natural infection (16/35; group A) or experimental exposure upon vaccination (19/35; group B). For histological and immunohistochemical testing, 53 locations were sampled from altogether 24 organs per cat.

In naturally infected cats, typical lesions were seen in 180 of 736 (24.6%) investigated sites. Hundred-twenty-nine of 743 tested areas (17.4%) stained immunohistochemically positive for FeCoV. Both, the prevalence of FIP lesions (270/977; 27.7%) and the expression of FeCoV antigen (200/926; 20.3%) were insignificantly higher in vaccinated and challenged animals. The portion of pathognomonic foci in naturally infected cats varied from 8.5 - 47.7% and between 0 and 46.8% of sites per animal stained immunopositive. This corresponds to a frequency of 7.0 - 60.0% typical lesions and 5.7 - 48.0% positively tested sites in the experimentally infected group.

Typical FIP lesions most frequently were observed in the serosa of the liver (11/16), followed by liver parenchyma and mesenteric lymph nodes (both 9/16) in group A. In experimentally infected cats, FIP lesions were most frequent in the serosa of the

## Summary

---

spleen (14/19), liver parenchyma, caecum and its serosal lining (13/19 each). The mesenteric lymph nodes came next (12/19).

Notably, FeCoV antigen was most prevalent in kidneys, lung, serosa of the liver, pancreatoduodenal and mesenteric lymph nodes and the eye (7/16), followed by visceral pleura, thymus, spleen and its serosa, ileum, colon and its serosa as well as the serosa of the duodenum (4/16 each). In group B, antigen was detected most often in the mesenteric lymph nodes and splenic serosa (11/19) as well as in the pulp of the spleen and liver parenchyma (10/19 each), the caecum and its serosa and the visceral pleura (8/19).

In summary, throughout both groups, lesions are more frequent than spots carrying FeCoV antigen. In spite of multifocal involvement, here is no single site that proves histologically positive in all FIP affected animals. These findings emphasize the need of multiple sampling sites in the living animal (liver, spleen plus mesenteric lymph nodes) to guarantee for a reliable evaluation concerning FIP due to FeCoV infection.

## 8 Literaturverzeichnis

- Addie, D., S. Belak, C. Boucraut-Baralon, H. Egberink, T. Frymus, T. Gruffydd-Jones, K. Hartmann, M. J. Hosie, A. Lloret, H. Lutz, F. Marsilio, M. G. Pennisi, A. D. Radford, E. Thiry, U. Truyen und M. C. Horzinek (2009). "Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management." *J Feline Med Surg* **11**(7): 594-604.
- Addie, D. D. und O. Jarrett (1992). "A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens." *Vet Rec* **130**(7): 133-7.
- Addie, D. D., S. Paltrinieri und N. C. Pedersen (2004). "Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium." *J Feline Med Surg* **6**(2): 125-30.
- Addie, D. D., S. Toth, G. D. Murray und O. Jarrett (1995). "Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline coronavirus." *Am J Vet Res* **56**(4): 429-34.
- Andrew, S. E. (2000). "Feline infectious peritonitis." *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **30**(5): 987-1000.
- Battifora, H. und M. Kopinski (1986). "The influence of protease digestion and duration of fixation on the immunostaining of keratins. A comparison of formalin and ethanol fixation." *J Histochem Cytochem* **34**(8): 1095-100.
- Bell, P. B., Jr., I. Rundquist, I. Svensson und V. P. Collins (1987). "Formaldehyde sensitivity of a GFAP epitope, removed by extraction of the cytoskeleton with high salt." *J Histochem Cytochem* **35**(12): 1375-80.
- Benetka, V., J. Kolodziejek, K. Walk, M. Rennhofer und K. Möstl (2006). "M gene analysis of atypical strains of feline and canine coronavirus circulating in an Austrian animal shelter." *Vet Rec* **159**(6): 170-4.
- Boenisch, T. (2003). *Färbemethoden - Detektionssysteme in Immunchemische Färbemethoden*. T. Boenisch. Hamburg, DakoCytomation GmbH. **3**: 34-42.
- Bradshaw, J. M., G. R. Pearson und T. J. Gruffydd-Jones (2004). "A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat." *J Comp Pathol* **131**(2-3): 112-20.
- Brandtzaeg, P. (1989). "Overview of the mucosal immune system." *Curr Top Microbiol Immunol* **146**: 13-25.

- Brown, M. A., J. L. Troyer, J. Pecon-Slattey, M. E. Roelke und S. J. O'Brien (2009). "Genetics and pathogenesis of feline infectious peritonitis virus." *Emerg Infect Dis* **15**(9): 1445-52.
- Cattoretti, G., S. Pileri, C. Parravicini, M. H. Becker, S. Poggi, C. Bifulco, G. Key, L. D'Amato, E. Sabbatini, E. Feudale und et al. (1993). "Antigen unmasking on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections." *J Pathol* **171**(2): 83-98.
- Chang, H. W., R. J. de Groot, H. F. Egberink und P. J. Rottier (2010). "Feline infectious peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene." *J Gen Virol* **91**(Pt 2): 415-20.
- Chappuis, G. und C. Duret (1978). "Feline infectious peritonitis: present knowledge." *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **1**(1-2): 115-20.
- Cornelissen, E., H. L. Dewerchin, E. Van Hamme und H. J. Nauwynck (2007). "Absence of surface expression of feline infectious peritonitis virus (FIPV) antigens on infected cells isolated from cats with FIP." *Vet Microbiol* **121**(1-2): 131-7.
- De Groot, R. J., A. C. Andeweg, M. C. Horzinek und W. J. Spaan (1988). "Sequence analysis of the 3'-end of the feline coronavirus FIPV 79-1146 genome: comparison with the genome of porcine coronavirus TGEV reveals large insertions." *Virology* **167**(2): 370-6.
- De Groot, R. J., R. W. Van Leen, M. J. Dalderup, H. Vennema, M. C. Horzinek und W. J. Spaan (1989). "Stably expressed FIPV peplomer protein induces cell fusion and elicits neutralizing antibodies in mice." *Virology* **171**(2): 493-502.
- De Vries, A. A. F., M. C. Horzinek, P. J. M. Rottier und R. J. de Groot (1997). "The genome organization of the Nidovirales: similarities and differences between Arteri-, Toro-, and Coronaviruses." *Seminars in VIROLOGY* **8**: 33-47.
- Dean, G. A., T. Olivry, C. Stanton und N. C. Pedersen (2003). "In vivo cytokine response to experimental feline infectious peritonitis virus infection." *Vet Microbiol* **97**(1-2): 1-12.
- Delmas, B., J. Gelfi, R. L'Haridon, L. K. Vogel, H. Sjostrom, O. Noren und H. Laude (1992). "Aminopeptidase N is a major receptor for the entero-pathogenic coronavirus TGEV." *Nature* **357**(6377): 417-20.
- Dewerchin, H. L., E. Cornelissen und H. J. Nauwynck (2005). "Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes." *Arch Virol* **150**(12): 2483-500.

- Dewerchin, H. L., E. Cornelissen und H. J. Nauwynck (2006). "Feline infectious peritonitis virus-infected monocytes internalize viral membrane-bound proteins upon antibody addition." *J Gen Virol* **87**(Pt 6): 1685-90.
- Dewerchin, H. L., E. Cornelissen, E. Van Hamme, K. Smits, B. Verhasselt und H. J. Nauwynck (2008). "Surface-expressed viral proteins in feline infectious peritonitis virus-infected monocytes are internalized through a clathrin- and caveolae-independent pathway." *J Gen Virol* **89**(Pt 11): 2731-40.
- Dye, C. und S. G. Siddell (2007). "Genomic RNA sequence of feline coronavirus strain FCoV C1Je." *J Feline Med Surg* **9**(3): 202-13.
- Euler, T. (2005). *Vorkommen und Verteilung spezifischer Veränderungen in den Lymphknoten von Katzen mit natürlicher feliner infektiöser Peritonitis (FIP)*. Institut für Veterinär-Pathologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen.
- Evermann, J. F., A. J. McKeirnan und R. L. Ott (1991). "Perspectives on the epizootiology of feline enteric coronavirus and the pathogenesis of feline infectious peritonitis." *Vet Microbiol* **28**(3): 243-55.
- Fiscus, S. A. und Y. A. Teramoto (1987a). "Antigenic comparison of feline coronavirus isolates: evidence for markedly different peplomer glycoproteins." *J Virol* **61**(8): 2607-13.
- Fiscus, S. A. und Y. A. Teramoto (1987b). "Functional differences in the peplomer glycoproteins of feline coronavirus isolates." *J Virol* **61**(8): 2655-7.
- Foley, J. E., J. M. Lapointe, P. Koblik, A. Poland und N. C. Pedersen (1998). "Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis." *J Vet Intern Med* **12**(6): 415-23.
- Foley, J. E., A. Poland, J. Carlson und N. C. Pedersen (1997a). "Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments." *J Am Vet Med Assoc* **210**(9): 1307-12.
- Foley, J. E., A. Poland, J. Carlson und N. C. Pedersen (1997b). "Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus." *J Am Vet Med Assoc* **210**(9): 1313-8.
- Foley, J. E., C. Rand und C. Leutenegger (2003). "Inflammation and changes in cytokine levels in neurological feline infectious peritonitis." *J Feline Med Surg* **5**(6): 313-22.
- Giordano, A., S. Paltrinieri, W. Bertazzolo, E. Milesi und M. Parodi (2005). "Sensitivity of Tru-cut and fine needle aspiration biopsies of liver and kidney for diagnosis of feline infectious peritonitis." *Vet Clin Pathol* **34**(4): 368-74.

- Goitsuka, R., T. Ohashi, K. Ono, K. Yasukawa, Y. Koishibara, H. Fukui, Y. Ohsugi und A. Hasegawa (1990). "IL-6 activity in feline infectious peritonitis." *J Immunol* **144**(7): 2599-603.
- Goitsuka, R., C. Onda, Y. Hirota, A. Hasegawa und I. Tomoda (1988). "Feline interleukin 1 production induced by feline infectious peritonitis virus." *Nihon Juigaku Zasshi* **50**(1): 209-14.
- Gunn-Moore, D. A., S. M. Caney, T. J. Gruffydd-Jones, C. R. Helps und D. A. Harbour (1998b). "Antibody and cytokine responses in kittens during the development of feline infectious peritonitis (FIP)." *Vet Immunol Immunopathol* **65**(2-4): 221-42.
- Gunn-Moore, D. A., T. J. Gruffydd-Jones und D. A. Harbour (1998a). "Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis." *Vet Microbiol* **62**(3): 193-205.
- Haelterman, E. O. und L. M. Hutchings (1956). "Epidemic diarrheal disease of viral origin in newborn swine." *Ann N Y Acad Sci* **66**(1): 186-90.
- Haijema, B. J., H. Volders und P. J. Rottier (2004). "Live, attenuated coronavirus vaccines through the directed deletion of group-specific genes provide protection against feline infectious peritonitis." *J Virol* **78**(8): 3863-71.
- Hardy, W. D., Jr. und A. I. Hurvitz (1971). "Feline infectious peritonitis: experimental studies." *J Am Vet Med Assoc* **158**(6): Suppl 2:994+.
- Harpold, L. M., A. M. Legendre, M. A. Kennedy, P. J. Plummer, K. Millsaps und B. Rohrbach (1999). "Fecal shedding of feline coronavirus in adult cats and kittens in an Abyssinian cattery." *J Am Vet Med Assoc* **215**(7): 948-51.
- Hartmann, K. (2005). "Feline infectious peritonitis." *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **35**(1): 39-79, vi.
- Hartmann, K., C. Binder, J. Hirschberger, D. Cole, M. Reinacher, S. Schroo, J. Frost, H. Egberink, H. Lutz und W. Hermanns (2003). "Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis." *J Vet Intern Med* **17**(6): 781-90.
- Hartmann, K. und S. Ritz (2008). "Treatment of cats with feline infectious peritonitis." *Vet Immunol Immunopathol* **123**(1-2): 172-5.
- Hasegawa, T. und A. Hasegawa (1991). "Interleukin 1 alpha mRNA-expressing cells on the local inflammatory response in feline infectious peritonitis." *J Vet Med Sci* **53**(6): 995-9.

- Herrewegh, A. A., R. J. de Groot, A. Cepica, H. F. Egberink, M. C. Horzinek und P. J. Rottier (1995b). "Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR." *J Clin Microbiol* **33**(3): 684-9.
- Herrewegh, A. A., I. Smeenk, M. C. Horzinek, P. J. Rottier und R. J. de Groot (1998). "Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus." *J Virol* **72**(5): 4508-14.
- Herrewegh, A. A., H. Vennema, M. C. Horzinek, P. J. Rottier und R. J. de Groot (1995a). "The molecular genetics of feline coronaviruses: comparative sequence analysis of the ORF7a/7b transcription unit of different biotypes." *Virology* **212**(2): 622-31.
- Hirschberger, J., K. Hartmann, N. Wilhelm, J. Frost, H. Lutz und W. Kraft (1995). "Klinik und Diagnostik der Felinen Infektiosen Peritonitis." *Tierarztl Prax* **23**(1): 92-9.
- Hohdatsu, T., Y. Izumiya, Y. Yokoyama, K. Kida und H. Koyama (1998). "Differences in virus receptor for type I and type II feline infectious peritonitis virus." *Arch Virol* **143**(5): 839-50.
- Hohdatsu, T., S. Okada, Y. Ishizuka, H. Yamada und H. Koyama (1992). "The prevalence of types I and II feline coronavirus infections in cats." *J Vet Med Sci* **54**(3): 557-62.
- Hohdatsu, T., S. Okada und H. Koyama (1991b). "Characterization of monoclonal antibodies against feline infectious peritonitis virus type II and antigenic relationship between feline, porcine, and canine coronaviruses." *Arch Virol* **117**(1-2): 85-95.
- Hohdatsu, T., T. Sasamoto, S. Okada und H. Koyama (1991a). "Antigenic analysis of feline coronaviruses with monoclonal antibodies (MAbs): preparation of MAbs which discriminate between FIPV strain 79-1146 and FECV strain 79-1683." *Vet Microbiol* **28**(1): 13-24.
- Holzworth, J. (1963). "Some important disorders of cats." *Cornell Vet* **53**: 157-60.
- Horzinek, M. C., H. Lutz und N. C. Pedersen (1982). "Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline, and canine coronaviruses." *Infect Immun* **37**(3): 1148-55.
- Horzinek, M. C. und A. D. Osterhaus (1979). "The virology and pathogenesis of feline infectious peritonitis. Brief review." *Arch Virol* **59**(1-2): 1-15.

- Hoskins, J. D. (1993). "Coronavirus infection in cats." *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **23**(1): 1-16.
- Ishida, T., A. Shibantai, S. Tanaka, K. Uchida und M. Mochizuki (2004). "Use of recombinant feline interferon and glucocorticoid in the treatment of feline infectious peritonitis." *J Feline Med Surg* **6**(2): 107-9.
- Jacobse-Geels, H. E., M. R. Daha und M. C. Horzinek (1980). "Isolation and characterization of feline C3 and evidence for the immune complex pathogenesis of feline infectious peritonitis." *J Immunol* **125**(4): 1606-10.
- Jacobse-Geels, H. E., M. R. Daha und M. C. Horzinek (1982). "Antibody, immune complexes, and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis." *Am J Vet Res* **43**(4): 666-70.
- Jacobse-Geels, H. E. und M. C. Horzinek (1983). "Expression of feline infectious peritonitis coronavirus antigens on the surface of feline macrophage-like cells." *J Gen Virol* **64** (Pt 9): 1859-66.
- Juan-Salles, C., M. Domingo, P. Herraiez, A. Fernandez, J. Segales und J. Fernandez (1998). "Feline infectious peritonitis in servals (*Felis serval*)." *Vet Rec* **143**(19): 535-6.
- Kennedy, M., N. Boedeker, P. Gibbs und S. Kania (2001). "Deletions in the 7a ORF of feline coronavirus associated with an epidemic of feline infectious peritonitis." *Vet Microbiol* **81**(3): 227-34.
- Key, M. (2003). *Antigendemaskierung (Epitop-Retrieval) in Immunchemische Färbemethoden*. T. Boenisch. Hamburg, DakoCytomation GmbH. **3**: 30-33.
- Kipar, A., S. Bellmann, D. A. Gunn-Moore, W. Leukert, K. Kohler, S. Menger und M. Reinacher (1999). "Histopathological alterations of lymphatic tissues in cats without feline infectious peritonitis after long-term exposure to FIP virus." *Vet Microbiol* **69**(1-2): 131-7.
- Kipar, A., S. Bellmann, J. Kremendahl, K. Kohler und M. Reinacher (1998). "Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis." *Vet Immunol Immunopathol* **65**(2-4): 243-57.
- Kipar, A., H. May, S. Menger, M. Weber, W. Leukert und M. Reinacher (2005). "Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis." *Vet Pathol* **42**(3): 321-30.
- Kipar, A., M. L. Meli, K. E. Baptiste, L. J. Bowker und H. Lutz (2010). "Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats." *J Gen Virol* **91**(Pt 7): 1698-707.

- Kiss, I., A. M. Poland und N. C. Pedersen (2004). "Disease outcome and cytokine responses in cats immunized with an avirulent feline infectious peritonitis virus (FIPV)-UCD1 and challenge-exposed with virulent FIPV-UCD8." *J Feline Med Surg* **6**(2): 89-97.
- Lai, M. M. (1990). "Coronavirus: organization, replication and expression of genome." *Annu Rev Microbiol* **44**: 303-33.
- McArdle, F., M. Bennett, R. M. Gaskell, B. Tennant, D. F. Kelly und C. J. Gaskell (1992). "Induction and enhancement of feline infectious peritonitis by canine coronavirus." *Am J Vet Res* **53**(9): 1500-6.
- Meli, M., A. Kipar, C. Muller, K. Jenal, E. Gonczi, N. Borel, D. Gunn-Moore, S. Chalmers, F. Lin, M. Reinacher und H. Lutz (2004). "High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats." *J Feline Med Surg* **6**(2): 69-81.
- Montali, R. J. und J. D. Strandberg (1972). "Extraperitoneal lesions in feline infectious peritonitis." *Vet Pathol* **9**(2): 109-21.
- Motokawa, K., T. Hohdatsu, H. Hashimoto und H. Koyama (1996). "Comparison of the amino acid sequence and phylogenetic analysis of the peplomer, integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine coronaviruses." *Microbiol Immunol* **40**(6): 425-33.
- Myrrha, L. W., F. M. Silva, E. F. Peternelli, A. S. Junior, M. Resende und M. R. de Almeida (2011). "The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review." *Adv Virol*: 109849.
- Norris, J. M., K. L. Bosward, J. D. White, R. M. Baral, M. J. Catt und R. Malik (2005). "Clinicopathological findings associated with feline infectious peritonitis in Sydney, Australia: 42 cases (1990-2002)." *Aust Vet J* **83**(11): 666-73.
- Paltrinieri, S., M. P. Cammarata, G. Cammarata und S. Comazzi (1998). "Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis." *Vet Immunol Immunopathol* **65**(2-4): 205-20.
- Paltrinieri, S., M. C. Parodi und G. Cammarata (1999). "In vivo diagnosis of feline infectious peritonitis by comparison of protein content, cytology, and direct immunofluorescence test on peritoneal and pleural effusions." *J Vet Diagn Invest* **11**(4): 358-61.

- Pedersen, N. C. (1976a). "Morphologic and physical characteristics of feline infectious peritonitis virus and its growth in autochthonous peritoneal cell cultures." *Am J Vet Res* **37**(5): 567-72.
- Pedersen, N. C. (1976b). "Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis." *Am J Vet Res* **37**(12): 1449-53.
- Pedersen, N. C. (2009). "A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008." *J Feline Med Surg* **11**(4): 225-58.
- Pedersen, N. C., C. E. Allen und L. A. Lyons (2008). "Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection." *J Feline Med Surg* **10**(6): 529-41.
- Pedersen, N. C., J. F. Boyle, K. Floyd, A. Fudge und J. Barker (1981). "An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis." *Am J Vet Res* **42**(3): 368-77.
- Pedersen, N. C., J. F. Evermann, A. J. McKeirnan und R. L. Ott (1984). "Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683." *Am J Vet Res* **45**(12): 2580-5.
- Pedersen, N. C., J. Ward und W. L. Mengeling (1978). "Antigenic relationship of the feline infectious peritonitis virus to coronaviruses of other species." *Arch Virol* **58**(1): 45-53.
- Pesteanu-Somogyi, L. D., C. Radzai und B. M. Pressler (2006). "Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds." *J Feline Med Surg* **8**(1): 1-5.
- Petersen, N. C. und J. F. Boyle (1980). "Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis." *Am J Vet Res* **41**(6): 868-76.
- Pfeifer, M. L., J. F. Evermann, M. E. Roelke, A. M. Gallina, R. L. Ott und A. J. McKeirnan (1983). "Feline infectious peritonitis in a captive cheetah." *J Am Vet Med Assoc* **183**(11): 1317-9.
- Pileri, S. A., G. Roncador, C. Ceccarelli, M. Piccioli, A. Briskomatis, E. Sabbatini, S. Ascani, D. Santini, P. P. Piccaluga, O. Leone, S. Damiani, C. Ercolessi, F. Sandri, F. Pieri, L. Leoncini und B. Falini (1997). "Antigen retrieval techniques in immunohistochemistry: comparison of different methods." *J Pathol* **183**(1): 116-23.
- Poland, A. M., H. Vennema, J. E. Foley und N. C. Pedersen (1996). "Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus." *J Clin Microbiol* **34**(12): 3180-4.

- Poncelet, L., A. Coppens, D. Peeters, E. Bianchi, C. K. Grant und H. Kadhim (2008). "Detection of antigenic heterogeneity in feline coronavirus nucleocapsid in feline pyogranulomatous meningoencephalitis." *Vet Pathol* **45**(2): 140-53.
- Ramos-Vara, J. A. (2005). "Technical aspects of immunohistochemistry." *Vet Pathol* **42**(4): 405-26.
- Rand, J. S., J. Parent, D. Percy und R. Jacobs (1994). "Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system." *Can Vet J* **35**(2): 103-10.
- Ritz, S., H. Egberink und K. Hartmann (2007). "Effect of feline interferon-omega on the survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis." *J Vet Intern Med* **21**(6): 1193-7.
- Rottier, P. J., K. Nakamura, P. Schellen, H. Volders und B. J. Haijema (2005). "Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein." *J Virol* **79**(22): 14122-30.
- Sharif, S., S. S. Arshad, M. Hair-Bejo, A. R. Omar, N. A. Zeenathul und A. Alazawy (2010). "Diagnostic methods for feline coronavirus: a review." *Vet Med Int* **2010**.
- Shiba, N., K. Maeda, H. Kato, M. Mochizuki und H. Iwata (2007). "Differentiation of feline coronavirus type I and II infections by virus neutralization test." *Vet Microbiol* **124**(3-4): 348-52.
- Simons, F. A., H. Vennema, J. E. Rofina, J. M. Pol, M. C. Horzinek, P. J. Rottier und H. F. Egberink (2005). "A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis." *J Virol Methods* **124**(1-2): 111-6.
- Slauson, D. O. und J. P. Finn (1972). "Meningoencephalitis and panophthalmitis in feline infectious peritonitis." *J Am Vet Med Assoc* **160**(5): 729-34.
- Sparkes, A. H., T. J. Gruffydd-Jones und D. A. Harbour (1991). "Feline infectious peritonitis: a review of clinicopathological changes in 65 cases, and a critical assessment of their diagnostic value." *Vet Rec* **129**(10): 209-12.
- Sprich, C. (2006). *Optimierung von Immunhistochemie-Protokollen an Tissue Microarrays - Erfahrungen mit 70 verschiedenen Antikörpern*. Institut für Pathologie, Medizinische Fakultät, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg im Breisgau.
- Stoddart, C. A. und F. W. Scott (1989). "Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence." *J Virol* **63**(1): 436-40.

- Stoddart, M. E., R. M. Gaskell, D. A. Harbour und C. J. Gaskell (1988). "Virus shedding and immune responses in cats inoculated with cell culture-adapted feline infectious peritonitis virus." *Vet Microbiol* **16**(2): 145-58.
- Takano, T., T. Hohdatsu, Y. Hashida, Y. Kaneko, M. Tanabe und H. Koyama (2007a). "A "possible" involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis." *Vet Microbiol* **119**(2-4): 121-31.
- Takano, T., T. Hohdatsu, A. Toda, M. Tanabe und H. Koyama (2007b). "TNF-alpha, produced by feline infectious peritonitis virus (FIPV)-infected macrophages, upregulates expression of type II FIPV receptor feline aminopeptidase N in feline macrophages." *Virology* **364**(1): 64-72.
- Tammer, R., O. Evensen, H. Lutz und M. Reinacher (1995). "Immunohistological demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies." *Vet Immunol Immunopathol* **49**(1-2): 177-82.
- Tresnan, D. B., R. Levis und K. V. Holmes (1996). "Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I." *J Virol* **70**(12): 8669-74.
- Tuch, K., K. H. Witte und H. Wuller (1974). "Feststellung der Felinen Infektiosen Peritonitis (FIP) bei Hauskatzen und Leoparden in Deutschland." *Zentralbl Veterinarmed B* **21**(6): 426-41.
- Van Hamme, E., H. L. Dewerchin, E. Cornelissen und H. J. Nauwynck (2007). "Attachment and internalization of feline infectious peritonitis virus in feline blood monocytes and Crandell feline kidney cells." *J Gen Virol* **88**(Pt 9): 2527-32.
- Vennema, H., A. Poland, J. Foley und N. C. Pedersen (1998). "Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses." *Virology* **243**(1): 150-7.
- Vennema, H., J. W. Rossen, J. Wesseling, M. C. Horzinek und P. J. Rottier (1992). "Genomic organization and expression of the 3' end of the canine and feline enteric coronaviruses." *Virology* **191**(1): 134-40.
- Walter, J. H. und R. Rudolph (1989). "Untersuchungen zur Häufigkeit und zur Pathogenese der Felinen Infektiosen Peritonitis (FIP)." *Dtsch Tierarztl Wochenschr* **96**(4): 194-6, 201.
- Ward, J. M. (1970). "Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis." *Virology* **41**(1): 191-4.

- Ward, J. M., D. H. Gribble und D. L. Dungworth (1974). "Feline infectious peritonitis: experimental evidence for its multiphasic nature." *Am J Vet Res* **35**(10): 1271-5.
- Ward, J. M., R. J. Munn, D. H. Gribble und D. L. Dungworth (1968). "An observation of feline infectious peritonitis." *Vet Rec* **83**(16): 416-7.
- Watt, N. J., N. J. MacIntyre und S. McOrist (1993). "An extended outbreak of infectious peritonitis in a closed colony of European wildcats (*Felis silvestris*)." *J Comp Pathol* **108**(1): 73-9.
- Weiss, R. C., W. J. Dodds und F. W. Scott (1980). "Disseminated intravascular coagulation in experimentally induced feline infectious peritonitis." *Am J Vet Res* **41**(5): 663-71.
- Weiss, R. C. und F. W. Scott (1981a). "Pathogenesis of feline infectious peritonitis: pathologic changes and immunofluorescence." *Am J Vet Res* **42**(12): 2036-48.
- Weiss, R. C. und F. W. Scott (1981b). "Pathogenesis of feline infectious peritonitis: nature and development of viremia." *Am J Vet Res* **42**(3): 382-90.
- Weiss, R. C. und F. W. Scott (1981c). "Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue hemorrhagic fever." *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **4**(2): 175-89.
- Wesley, R. D. (1999). "The S gene of canine coronavirus, strain UCD-1, is more closely related to the S gene of transmissible gastroenteritis virus than to that of feline infectious peritonitis virus." *Virus Res* **61**(2): 145-52.
- Wolfe, L. G. und R. A. Griesemer (1966). "Feline infectious peritonitis." *Pathol Vet* **3**(3): 255-70.
- Wolfe, L. G. und R. A. Griesemer (1971). "Feline infectious peritonitis: review of gross and histopathologic lesions." *J Am Vet Med Assoc* **158**(6): Suppl 2:987+.
- Yeager, C. L., R. A. Ashmun, R. K. Williams, C. B. Cardellichio, L. H. Shapiro, A. T. Look und K. V. Holmes (1992). "Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E." *Nature* **357**(6377): 420-2.
- Zook, B. C., N. W. King, R. L. Robison und H. L. McCombs (1968). "Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis." *Pathol Vet* **5**: 91-5.



## 9 Anhang

Alter, Geschlecht, Körpergewicht und Ernährungszustand der untersuchten Katzen

Tier	Alter	Geschlecht	Körpergewicht	Ernährungszustand
917/98	4,5 Monate	W		gut
921/98	4,5 Monate	M	2 kg	gut
933/98	4,5 Monate	W		gut
950/98	4,5 Monate	M	2,2 kg	gut
951/98	4,5 Monate	W	1,6 kg	gut
952/98	4,5 Monate	M	1,85 kg	gut
974/98	5 Monate	M	2,2 kg	gut
975/98	4,5 Monate	M	2,1 kg	gut
976/98	5 Monate	M	2,1 kg	gut
26/99	6 Monate	M	2,3 kg	reduziert
57/99	6 Monate	M	2,2 kg	reduziert
126/99	6 Monate	W	2,4 kg	gut
373/99	4,5 Monate	M	3,2 kg	sehr gut
454/99	6 Monate	M	4,7 kg	gut
461/99	6 Monate	M		gut
462/99	6 Monate	W	2,4 kg	gut
567/99	6 Monate	WK	3,2 kg	gut
568/99	6 Monate	W	4,0 kg	gut
569/99	6 Monate	W	2,9 kg	gut
1121/09	7 Monate	M		gut
1133/09	11 Jahre	MK	5,0 kg	gut
1139/09	5 Monate	M	3,3 kg	gut
1261/09	6 Monate	W	1,75 kg	reduziert
24/10	8 Monate	W		gut
105/10	6 Monate	W	1,5 kg	reduziert
106/10	2 Jahre	WK	2,8 kg	gut
165/10	2 Jahre	W	2,0 kg	Kachexie
215/10	1 Jahr	M	2,2 kg	gut
216/10	20 Jahre	WK	3,3 kg	reduziert
226/10	1 Jahr	WK	2,3 kg	reduziert
231/10	1,5 Jahre	M	3,1 kg	gut
320/10	10 Jahre	WK	3,1 kg	gut
373/10	1 Jahr	WK	2,6 kg	gut
404/10	1 Jahr	MK	2,8 kg	gut
901/10	7 Monate	M	2,8 kg	gut

M = männlich, W = weiblich, MK = männlich kastriert, WK = weiblich kastriert

## Anhang

Tier-Nummer >	26/99		57/99		126/99		454/99		461/99		462/99		373/99	
	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP
Leber	+	+			+		+	+	+	+				
Leber Serosa			+		+	+								
Milz	+	+	+	+			+	+	+	+			+?	+
Milz Serosa	+	+	+	+					+		+	+		
Milz Band													∅	∅
Pankreas					+		+	+						
Pankreas Serosa														
Pankreas Band														
Magen (Fundus)														
Magen (F) Serosa														
Magen (F) Mesenterium														
Magen (Pylorus)	+	+												
Magen (P) Serosa	+												+?	
Magen (P) Mesenterium														
Duodenum	+	+					+	+						
Duodenum Serosa	+	+												
Duodenum Mesenterium														
Jejunum	+	+												
Jejunum Serosa	+	+												
Jejunum Mesenterium													∅	∅
Ileum	+		∅		+				+		∅		∅	∅
Ileum Serosa	+		∅		+						∅		∅	∅
Ileum Mesenterium													∅	∅
Colon				+			+							
Colon Serosa			+	+			+							
Colon Mesenterium													∅	∅
Caecum	+	+		+	+		+	+						
Caecum Serosa	+	+	+		+									
Caecum Mesenterium														
Ln. mesenterialis	+	+			+		+	+	+	+			+	+
Ln. mesent. Serosa														
Ln. mensent. Mesent.														
Ln. pancreaticoduod.	+	+					+	+	+	+			∅	∅
Ln. pancreat. Serosa	+	+											∅	∅
Niere					+	+								
Lunge	+	+	+	+			+	+	+	+	+			
Pleura pulmonalis	+	+					+	+			+	+		
Trachea														
Myokard														
Endokard														
Epikard	+	+			+	+								
Thymus (Brustteil)					∅		+	+					-	+
Thymus Serosa			+	+	∅		+		+	+	+	+		
Zunge														
Tonsille							+	+					∅	∅
Ln. retropharyngeus	+	+					+	+					+	+
Membrana synovialis													∅	∅
Ln. popliteus	+				+		+	+	∅				+	+
Großhirn									+					
Großhirn Meningen														
Kleinhirn														
Kleinhirn Meningen														
Auge														

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; keine Angabe = negativ

## Anhang

Tier-Nummer >	567/99		568/99		950/98		921/98		917/98		569/99		933/98	
	HE	IP												
Leber			+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leber Serosa					+	+	+	+					+	+
Milz					+	+	+	+					+	
Milz Serosa	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+	+
Milz Band													+	
Pankreas					∅									
Pankreas Serosa													+	
Pankreas Band									+				+	+
Magen (Fundus)														
Magen (F) Serosa														
Magen (F) Mesenterium														
Magen (Pylorus)					+	+								
Magen (P) Serosa					+	+	+	+						
Magen (P) Mesenterium					+	+								
Duodenum					+									
Duodenum Serosa			+	+	+	+							+	+
Duodenum Mesenterium					+	+							+	+
Jejunum					+									
Jejunum Serosa					+								+	
Jejunum Mesenterium					+	+							+	+
Ileum			∅		+	+	∅		∅		+	+	+	+
Ileum Serosa			∅		+	+					+	+	+	
Ileum Mesenterium					+	+					+	+	+	+
Colon					+	+			+	+				
Colon Serosa											+	+		
Colon Mesenterium											+	+		
Caecum	+				+		+	+	+	+	+		+	
Caecum Serosa	+		+	+	+	+			+	+	+			+
Caecum Mesenterium					+	+			+		+		+	+
Ln. mesenterialis			+	+	+	+			+	+			+	+
Ln. mesent. Serosa			+		+	+					?		+	+
Ln. mensent. Mesent.					+	+							+	+
Ln. pancreaticoduod.	+	+	+		+				+	+		+	+	
Ln. pancreat. Serosa					+	+					?	+	+	+
Niere					+	+								
Lunge					+	+								
Pleura pulmonalis	+	+	+	+	+	+			+	+		+	+	
Trachea									∅			-		
Myokard														
Endokard	+													
Epikard														
Thymus (Brustteil)	+	+	+	+									+	
Thymus Serosa	+		+		+	+					+		+	
Zunge														
Tonsille	∅				∅								+	+
Ln. retropharyngeus					+	+							+	+
Membrana synovialis														
Ln. popliteus					+		+					∅		
Großhirn			+											
Großhirn Meningen									+	+				
Kleinhirn											+	+		
Kleinhirn Meningen									+	+				
Auge											+	+		

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; keine Angabe = negativ

## Anhang

Tier-Nummer >	974/98		976/98		952/98		951/98		975/98	
	HE	IP								
Leber	+	+	+	+		+	+	+	+	
Leber Serosa	+	+	+	+	+	+		+	+	
Milz	+	+			+	+	+	+		
Milz Serosa	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Milz Band			+		+	+				
Pankreas			+	+			+	+		
Pankreas Serosa	+		+	+			+	+		
Pankreas Band	+	+					+	+		
Magen (Fundus)							+	+		
Magen (F) Serosa			+	+			+	+		
Magen (F) Mesenterium			+	+			+	+		
Magen (Pylorus)	+	+					+	+		
Magen (P) Serosa	+	+	+	+		+	+	+		
Magen (P) Mesenterium	+	+	+	+	+	+	+	+		
Duodenum					+	+	+	+		
Duodenum Serosa			+	+	+	+	+	+		
Duodenum Mesenterium	+	+	+	+			+	+		
Jejunum	+	+	+	+	+	+	+	+		
Jejunum Serosa	+	+	+	+	+	+	+	+		
Jejunum Mesenterium	+	+				+	+	+		
Ileum							+		∅	∅
Ileum Serosa							+		∅	∅
Ileum Mesenterium							+		∅	∅
Colon	+	+	+	+			+	+		
Colon Serosa	+	+	+	+	+	+	+	+		
Colon Mesenterium			+		+	+	+	+	+	
Caecum	+	+	+	+	+	+	+			
Caecum Serosa	+	+	+	+	+	+	+		+	
Caecum Mesenterium	+	+	+	+	+	+	+			
Ln. mesenterialis	+	+	+			+	+		+	+
Ln. mesent. Serosa	+	+	+	+			+	+	+	+
Ln. mensent. Mesent.	+	+	+	+	+		+	+	+	+
Ln. pancreaticoduod.										
Ln. pancreat. Serosa									+	
Niere										
Lunge	+	+								
Pleura pulmonalis	+	+			+	+				
Trachea							∅	∅		
Myokard										
Endokard										
Epikard										
Thymus (Brustteil)			+							
Thymus Serosa									+	
Zunge		+								
Tonsille						∅	∅	∅		
Ln. retropharyngeus	+	+								
Membrana synovialis							∅	∅	∅	∅
Ln. popliteus	+	+							+	+
Knochenmark										
Großhirn										
Großhirn Meningen										
Kleinhirn										
Kleinhirn Meningen										
Auge										

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; keine Angabe = negativ

## Anhang

Tier-Nummer >	105/10		106/10		1133/09		24/10		1139/09		165/10		215/10	
	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP
Leber	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
Leber Serosa	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
Milz	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+?	-
Milz Serosa	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Milz Band	-	-	∅	∅	+	-	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Pankreas	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Pankreas Serosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Pankreas Band	-	-	-	-	∅	∅	-	-	∅	∅	-	-	-	-
Magen (Fundus)	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Magen (F) Serosa	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Magen (F) Mesenterium	∅	∅	∅	∅	+	+	∅	∅	∅	∅	-	-	∅	∅
Magen (Pylorus)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Magen (P) Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Magen (P) Mesenterium	-	-	-	-	-	-	∅	∅	∅	∅	-	-	-	-
Duodenum	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Duodenum Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Duodenum Mesenterium	∅	∅	∅	∅	∅	∅	-	-	∅	∅	∅	∅	-	-
Jejunum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jejunum Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Jejunum Mesenterium	∅	∅	-	-	∅	∅	∅	∅	∅	-	∅	∅	∅	∅
Ileum	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ileum Serosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Ileum Mesenterium	-	-	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Colon	-	+?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Colon Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Colon Mesenterium	-	-	-	-	+	-	∅	∅	+	-	+	+	∅	∅
Caecum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Caecum Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Caecum Mesenterium	-	-	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Ln. mesenterialis	-	+	+?	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Ln. mesent. Serosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Ln. mesent. Mesent.	-	-	-	-	∅	∅	-	-	∅	∅	-	-	∅	∅
Ln. pancreaticoduod.	+?	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Ln. pancreat. Serosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+?	-	-
Niere	+	+	+	+	-	-	+	?	-	-	+	+	-	-
Lunge	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
Pleura pulmonalis	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
Trachea	-	-	-	+?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myokard	+	-	+?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Endokard	∅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epikard	-	-	-	-	∅	∅	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus (Brustteil)	-	+	+	-	-	-	∅	∅	∅	∅	+	+	-	-
Thymus Serosa	-	-	+	-	-	-	∅	∅	∅	∅	+	-	-	-
Zunge	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tonsille	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ln. retropharyngeus	+	+	∅	∅	∅	∅	-	-	-	-	+?	+	+	+
Membrana synovialis	-	-	-	-	-	-	-	-	∅	-	-	-	-	-
Ln. popliteus	-	+	-	∅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Großhirn	+	-	∅	∅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Großhirn Meningen	+	+	∅	∅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kleinhirn	+	-	∅	∅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kleinhirn Meningen	+	+	∅	∅	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Auge	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; - = negativ

## Anhang

Tier-Nummer >	226/10		1121/09		1261/09		216/10		404/10		231/10		901/10	
	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP	HE	IP
Leber	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
Leber Serosa	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Milz	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
Milz Serosa	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Milz Band	∅	∅	∅	∅	∅	∅	-	-	∅	∅	-	-	-	-
Pankreas	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Pankreas Serosa	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Pankreas Band	∅	∅	-	-	∅	∅	+	+	+	-	-	-	∅	∅
Magen (Fundus)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Magen (F) Serosa	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Magen (F) Mesenterium	∅	∅	∅	∅	+	-	+	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Magen (Pylorus)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Magen (P) Serosa	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Magen (P) Mesenterium	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Duodenum	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Duodenum Serosa	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Duodenum Mesenterium	+	-	∅	∅	+	-	∅	∅	∅	∅	-	-	-	-
Jejunum	+	-	-	-	+	+			+	+	-	-	-	-
Jejunum Serosa	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Jejunum Mesenterium	∅	∅	-	-	∅	∅	∅	∅	-	-	∅	∅	∅	∅
Ileum	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Ileum Serosa	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ileum Mesenterium	+	-	-	-	∅	∅	∅	∅	+	+	-	-	∅	∅
Colon	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
Colon Serosa	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Colon Mesenterium	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	-	-	∅	∅	∅	∅
Caecum	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Caecum Serosa	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Caecum Mesenterium	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	-		∅	∅
Ln. mesenterialis	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Ln. mesent. Serosa	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Ln. mensent. Mesent.	∅	∅	∅	∅	∅	∅	+	+	+	-	-	-	-	-
Ln. pancreaticoduod.	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Ln. pancreat. Serosa	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Niere	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
Lunge	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Pleura pulmonalis	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Trachea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myokard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Endokard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epikard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus (Brustteil)	-	-	+	+	∅	∅	-	-	-	+	∅	∅	∅	∅
Thymus Serosa	-	-	+	+	∅	∅	-	-	-	-	+	+	+	+
Zunge	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tonsille	-	-	-	-	-	-	∅	∅	-	-	+	+	-	-
Ln. retropharyngeus	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+
Membrana synovialis	-	-	-	-	-	-	-	-	∅	∅	-	-	-	-
Ln. popliteus	-	-	-	-	+	+	-	-	∅	∅	+	+	-	-
Großhirn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Großhirn Meningen	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Kleinhirn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kleinhirn Meningen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Auge	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; - = negativ

## Anhang

Tier-Nummer >	373/10		320/10	
	HE	IP	HE	IP
Leber	-	-	+	-
Leber Serosa	+	+	+	+
Milz	-	-	+	+
Milz Serosa	+	+	-	-
Milz Band	∅	∅	∅	∅
Pankreas	+	+	-	-
Pankreas Serosa	+	+	-	-
Pankreas Band	∅	∅	-	-
Magen (Fundus)	-	-	-	-
Magen (F) Serosa	-	-	-	-
Magen (F) Mesenterium	+	+	-	-
Magen (Pylorus)	-	-	-	-
Magen (P) Serosa	-	-	-	-
Magen (P) Mesenterium	-	-	-	-
Duodenum	+	-	-	-
Duodenum Serosa	+	+	-	-
Duodenum Mesenterium	+	+	-	-
Jejunum	+	-	-	-
Jejunum Serosa	+	-	-	-
Jejunum Mesenterium	∅	∅	-	-
Ileum	∅	-	-	-
Ileum Serosa	∅	-	-	-
Ileum Mesenterium	∅	-	-	-
Colon	+	-	-	-
Colon Serosa	+	-	-	-
Colon Mesenterium	+	-	-	-
Caecum	-	-	-	-
Caecum Serosa	+	+	-	-
Caecum Mesenterium	+	-	-	-
Ln. mesenterialis	-	-	+	-
Ln. mesent. Serosa	+	-	∅	∅
Ln. mesent. Mesent.	∅	∅	+	+
Ln. pancreaticoduod.	-	-	-	-
Ln. pancreat. Serosa	-	-	-	-
Niere	-	-	-	-
Lunge	-	-	-	+
Pleura pulmonalis	-	-	-	-
Trachea	-	-	-	-
Myokard	-	-	-	-
Endokard	∅	∅	-	-
Epikard	-	-	-	-
Thymus (Brustteil)	∅	-	∅	∅
Thymus Serosa	∅	-	-	-
Zunge	-	-	-	-
Tonsille	-	-	-	-
Ln. retropharyngeus	-	-	-	-
Membrana synovialis	-	-	-	-
Ln. popliteus	-	-	-	-
Großhirn	-	-	-	-
Großhirn Meningen	-	-	-	-
Kleinhirn	-	-	-	-
Kleinhirn Meningen	-	-	-	-
Auge	-	-	-	-

+ = positiv; +? = fraglicher Befund; ∅ = Lokalisation nicht vorhanden; - = negativ

---

## **Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. Walter Hermanns für die Überlassung des interessanten Dissertations-Themas der vorliegenden Arbeit und die jederzeit gewährte Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung.

Ich richte an Ihn ein besonderes Wort des Dankes, dass er mir dauerhaft nicht nur in fachspezifischen, sondern auch im privaten Leben in Deutschland zur Seite standen und immer dafür gesorgt hat, Vatergefühl zu zeigen.

Besonderer Dank geht an Herrn Dr. Monir Majzoub, für die stets freundliche Unterstützung und Hilfe bei der Literatursuche und Auswertung des Materials.

Ein besonderer Dank gilt Frau Marjam O'Gorman, die durch ihre engagierte und freundliche Unterstützung zum Erfolg der Arbeit beitrug.

Frau Beate Schmidt und Frau Kristina Polach danke ich ganz herzlich für ihre unschätzbare Hilfe bei der Arbeit im Archiv.

Im Labor danke ich Elisabeth Kemper, Heike Sperling, Michaela Nützel, Doris Merl, Gudrun Goldmann für die selbstverständliche Unterstützung.

Ich möchte mich auch bei allen übrigen Mitarbeitern des Instituts für Tierpathologie für die freundliche Aufnahme, ihre Unterstützung und stete Aufmunterung bedanken.

Außerdem möchte ich ganz herzlich meiner Familie und meinen Freunden für ihre unermüdliche Unterstützung und große Geduld danken.