

Untersuchungen zur therapeutischen Wirksamkeit von feline
Antikörpern gegen Parvoviren bei Hunden mit Parvovirose

von Moira Gerlach

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

München

Untersuchungen zur therapeutischen Wirksamkeit von feline
Antikörpern gegen Parvoviren bei Hunden mit Parvovirose

von Moira Gerlach

aus Neuenbürg

München 2017

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

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger,
PhD

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Hermann Ammer

Tag der Promotion: 29. Juli 2017

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT: THERAPIE DER CANINEN PARVOVIROSE	2
1.	Symptomatische Therapie	2
1.1.	Infusionstherapie.....	2
1.1.1.	Infusionslösungen	3
1.1.2.	Ausgleich einer Hypokaliämie.....	4
1.1.3.	Ausgleich einer Hypoglykämie.....	5
1.2.	Antibiotika.....	5
1.3.	Antiemetika	7
1.4.	Analgetika	9
1.5.	Prophylaxe einer disseminierten intravasalen Koagulopathie	10
1.6.	Therapie einer Hypalbuminämie	11
1.6.1.	Transfusionen.....	12
1.6.2.	Therapie mit humanem Albumin.....	13
1.7.	Leukozytenstimulation	14
1.8.	Anti-Endotoxin-Therapie	15
1.9.	Ernährung	16
1.9.1.	Orale Ernährung.....	16
1.9.2.	Parenterale Ernährung	17
1.10.	Weitere unterstützende Maßnahmen	19
2.	Immunmodulatorische und antivirale Therapie	20
2.1.	Rekombinantes felines Interferon-Omega	20
2.2.	Passive Immunisierung.....	21
2.3.	Paramunitätsinducer	23
2.4.	Oseltamivir	24
III.	PUBLIKATION	26
IV.	DISKUSSION.....	35
V.	ZUSAMMENFASSUNG	48
VI.	SUMMARY	50

VII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	52
VIII.	ANHANG	74
IX.	DANKSAGUNG	82

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

aPTT	Activated Partial Thromboplastin Time (aktivierte partielle Thromboplastinzeit)
AT-III	Antithrombin-III
CAV-1	Canine Adenovirus-1 (canines Adenovirus-1)
CDV	Canine Distemper Virus (canines Staupevirus)
CPV	Canine Parvovirus (canines Parvovirus)
DIC	Disseminated Intravascular Coagulopathy (disseminierte intravasale Koagulopathie)
DNA	Desoxy-Ribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
FCV	Feline Calicivirus (felines Calicivirus)
FHV-1	Feline Herpesvirus-1 (felines Herpesvirus-1)
FIV	Feline Immunodeficiency Virus (felines Immundefizienzvirus)
FPV	Feline Panleukopenia Virus (felines Panleukopenievirus)
g	Gramm
G-CSF	Granulocyte Colony-Stimulating Factor (Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor)
h	hour (Stunde)
HT	Hydroxytryptamin
IER	Illness Energy Requirement (Krankheitsenergiebedarf)
Ig	Immunglobulin
i. m.	intramuskulär
i. p.	intraperitoneal
i. o.	intraossär
ITT-Analyse	Intention-to-treat-Analyse
IU	International Unit (internationale Einheit)
i. v.	intravenös
K	Kalium

kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
l	Liter
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
ml	Milliliter
mmol	Millimol
mOsm	Milliosmol
NA	Neuraminidase
NSAID	Non-Steroidal Antiinflammatory Drug (Nicht-steroidales Antiphlogistikum)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
p. o.	<i>per os</i>
PPN	Partial Parenteral Nutrition (partielle parenterale Ernährung)
rBPI ₂₁	Recombinant Bactericidal Permeability-Increasing Protein (rekombinantes bakterizides Permeabilitäts-steigerndes Protein)
rcG-CSF	Recombinant Canine Granulocyte Colony-Stimulating Factor (rekombinanter caniner granulozytenstimulierender Faktor)
RER	Resting Energy Requirement (Ruheenergiebedarf)
rfIFN-ω	Recombinant Feline Interferon-Omega (rekombinates felines Interferon-omega)
rhG-CSF	Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (rekombinanter humaner granulozytenstimulierender Faktor)
s. c.	subcutaneous (subkutan)
sec	second (Sekunde)
SNT	Serumneutralisationstest
TPN	Total Parenteral Nutrition (totale parenterale Ernährung)
z. B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Die Parvovirose des Hundes ist eine weltweit verbreitete Infektionskrankheit, an der vor allem Hunde ohne schützende Antikörper und Welpen erkranken, die noch keine ausreichende Immunität aufbauen konnten (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982; SMITH-CARR et al., 1997; LAMM & REZABEK, 2008). Eine Parvovirose kann mild und subklinisch verlaufen; oft kommt es jedoch zu schweren Krankheitsverläufen mit Durchfall, Erbrechen, Dehydratation und Immunsuppression, die häufig zum Tod der betroffenen Tiere führen (KRAMER et al., 1980; GLICKMAN et al., 1985; GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Bisher gibt es wenige direkte kausale Therapieansätze gegen das canine Parvovirus (CPV), weshalb die Behandlung der Erkrankung sich vor allem auf symptomatische Therapie stützt (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004).

Antikörper spielen eine wichtige Rolle in der Abwehr von Parvoviren, da Tiere mit vorhandenen Antikörpern vor einer Erkrankung geschützt sind (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982; SCHULTZ et al., 2010). Eine externe Verabreichung von Antikörpern zur Therapie von CPV-Infektionen wurde bisher in wenigen Studien untersucht, jedoch mit uneindeutigen Ergebnissen (ISHIBASHI et al., 1983; MACINTIRE et al., 1999; BRAGG et al., 2012). In Deutschland ist ein Hyperimmunserum kommerziell erhältlich, das Antikörper gegen das feline Panleukopenievirus (FPV) enthält (Feliserin[®] Plus, IDT Biologika, Dessau, Deutschland). Da CPV antigenetisch eng mit FPV verwandt ist (MARTYN et al., 1990; PARRISH, 1999; TRUYEN & PARRISH, 2013), ist anzunehmen, dass eine Kreuzprotektivität zwischen felines und caninen Antikörpern besteht.

Ziel dieser Arbeit war es daher in einer klinischen Studie zu untersuchen, ob die therapeutische Gabe von anti-FPV-Antikörpern einen Effekt auf den Heilungsverlauf, die Ausprägung klinischer Symptome, die Mortalitätsrate, Laborparameter und die Virusausscheidung bei Hunden mit Parvovirose hat.

II. LITERATURÜBERSICHT: THERAPIE DER CANINEN PARVOVIROSE

1. Symptomatische Therapie

Die häufigste klinische Manifestation einer CPV-Infektion bei Hunden ist eine akute Enteritis, die sich in Apathie, Anorexie, Fieber, wässrigen bis blutigen Durchfällen und Erbrechen äußert. Zusätzlich kommt es durch Replikation der Parvoviren in den Leukozytenvorläuferzellen im Knochenmark und anderen lymphoproliferativen Organen zur Zerstörung dieser Zellen. Die daraus bedingte Immunsuppression kann zu Komplikationen, wie Endotoxämien und Sepsis, und letztlich zum Tod führen (GODDARD & LEISEWITZ, 2010; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). Eine unterstützende, symptomatische Therapie der schwer erkrankten Tiere ist deswegen unbedingt notwendig (PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010).

1.1. Infusionstherapie

Die CPV-Enteritis kann mit hochgradiger Dehydratation bis zum hypovolämischen Schock einhergehen; daher ist ein zügiger Flüssigkeitsersatz und Ausgleich der bestehenden Verluste eine der wichtigsten therapeutischen Maßnahmen (KARIUKI NJENGA et al., 1990; GREENE & DECARO, 2013). Eine subkutane (s. c.) oder intraperitoneale (i. p.) Infusionstherapie ist nicht sinnvoll, da die betroffenen Tiere stark kreislaufgeschwächt sind und die so verabreichten Flüssigkeiten aufgrund peripherer Vasokonstriktion nicht adäquat absorbiert werden können (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004). Intravenöse (i. v.) oder intraossäre (i. o.) Applikationen erlauben dagegen eine schnelle Kreislaufstabilisierung und genaue Anpassung der Infusionsraten (BROWN & OTTO, 2008). Nach der initialen Flüssigkeitstherapie sollte der Hydratationsstatus der Tiere anhand der klinischen Untersuchung regelmäßig überprüft und die Infusionsraten gegebenenfalls angepasst werden (Tabelle 1). Die Infusionstherapie sollte solange fortgeführt werden, bis die anhaltenden Verluste durch Durchfall und Erbrechen stoppen, und die Tiere wieder selbstständig Nahrung aufnehmen

(MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; GREENE & DECARO, 2013).

Tabelle 1: Klinische Anzeichen einer Dehydratation (sec = Sekunde) (DEVEY, 2010)

Dehydratation	Allgemeinbefinden	Augen	Schleimhäute	Hautfalte
3 % – 5 %	normal	normal	normal	< 2 sec
6 % – 8 %	geringgradig reduziert	leicht eingesunken	pappig/ trocken	> 3 sec
10 % – 12 %	reduziert	tief eingesunken	trocken ± kalt	persistierend
> 15 %	moribund			

(Tabelle abgedruckt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier Saunders, Copyright by Elsevier Saunders)

1.1.1. Infusionslösungen

Zur initialen Flüssigkeitstherapie eignen sich vor allem balanzierte, gepufferte, isotone, kristalloide Infusionslösungen, wie Ringer-Laktat (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Hunde im hypovolämischen Schock benötigen ein schnelles Auffüllen des Flüssigkeitsdefizites über ein bis zwei Stunden mit anfänglichen Raten von bis zu 90 ml/kg/h als Bolus. Die in der Intensivmedizin verbreitete Early Goal-Directed Therapy richtet sich danach, klinische Parameter (Herzfrequenz, Blutdruck, zentraler Venendruck, Schleimhautfarbe, kapilläre Füllungszeit, Körpertemperatur und Urinausscheidung) möglichst früh im Zeitraum der Hospitalisierung zu normalisieren. Die Menge der zu verabreichenden Flüssigkeit sollte dementsprechend dieser Ziele angepasst werden. Um Komplikationen zu vermeiden, sollte das kleinstmögliche Volumen an Flüssigkeit verabreicht werden, das ausreicht, um diese klinischen Parameter zu erfüllen (DEVEY, 2010; HUTCHINSON & SHAW, 2016). In der Humanmedizin gibt es weitere, spezifische Ziele der Early Goal-Directed Therapy, die sich z. B. nach der zentralen Sauerstoffsättigung oder dem arteriellen Mitteldruck richten; in der Veterinärmedizin gibt es hinsichtlich dieser Parameter bisher wenig Erfahrungen

(RIVERS et al., 2001; DEVEY, 2010). Dehydrierte Tiere, die sich nicht im Schock befinden, sollten je nach Dehydratationsgrad langsamer über vier bis 24 Stunden rehydriert werden (Tabelle 2). Der tägliche Flüssigkeitsbedarf für Hunde liegt bei 40 – 60 ml pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag. Welpen haben einen höheren Flüssigkeitsbedarf und sollten die doppelte Flüssigkeitsmenge des Bedarfs eines adulten Hundes erhalten (DEVEY, 2010).

Tabelle 2: Formel zur Berechnung der benötigten Flüssigkeitsmengen (h = Stunde; kg = Kilogramm; l = Liter; ml = Milliliter) (BROWN & OTTO, 2008; HARTMANN & HEIN, 2008)

Berechnung von Infusionsraten
Körpergewicht (kg) x Dehydratation (%) = Defizit (l)
+ zu erwartender Flüssigkeitsverlust (ml)
+ Erhaltungsbedarf (ml/h) x h
dividiert durch die Anzahl der Stunden der Infusionstherapie

Ein Ausgleich von Störungen des Säure-Basen-Haushaltes, wie eine häufig durch gastrointestinale Symptome hervorgerufene metabolische Azidose, kann in der Regel allein durch die Gabe von gepufferten Lösungen erfolgen. Eine zusätzliche Gabe von Bikarbonat wird nur noch bei massiver Azidose bei einem pH < 7,05 empfohlen (HARTMANN & HEIN, 2008; WILLARD, 2014b).

1.1.2. Ausgleich einer Hypokaliämie

Eine Hypokaliämie ist eine mögliche Begleiterscheinung, die durch die bestehenden Flüssigkeitsverluste und die fehlende Nahrungsaufnahme hervorgerufen wird. Um die Tiere nicht zusätzlich zu schwächen, sollte ein Ausgleich des Defizites über die Flüssigkeitstherapie mit der Infusionslösung erfolgen (Tabelle 3). Die Elektrolyte sollten täglich kontrolliert, und die Menge an substituiertem Kalium dementsprechend angepasst werden. Um Herzrhythmusstörungen zu vermeiden, sollte nicht mehr als 0,5 mmol/kg/h Kalium substituiert werden (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; BROWN & OTTO, 2008). Wenn die Tiere kein Erbrechen zeigen, ist auch

die orale Verabreichung von Kalium eine Option zum Ausgleich einer Hypokaliämie (NELSON & DELANEY, 2014).

Tabelle 3: Kaliumsubstitution über die Infusion (K = Kalium; mmol/l = Millimol pro Liter) (DEVEY, 2010)

Ausgleich einer Hypokaliämie	
Gemessenes K (mmol/l)	Zugabe von K (mmol/l) zur Infusion
3,5 – 5,5	ad 20
3,0 – 3,5	ad 30
2,5 – 3,0	ad 40
2,0 – 2,5	ad 60
< 2,0	ad 80

(Tabelle abgedruckt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier Saunders, Copyright by Elsevier Saunders)

1.1.3. Ausgleich einer Hypoglykämie

Hypoglykämien treten vor allem bei Welpen der Zwergrassen oder bei Hunden auf, die im Verlauf der Erkrankung eine Sepsis entwickeln. Nach erfolgter Rehydratation wird die Substitution von 2,5 % oder 5 % Glukoselösung mit der Infusion empfohlen, die durch Zugabe von Glukose 50 % zur Infusionslösung erreicht wird. Die Kontrolle der Blutglukose sollte engmaschig erfolgen. Parenterale Ernährung sollte bei Hunden, die länger als drei Tage anorektisch sind, in Erwägung gezogen werden (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004).

1.2. Antibiotika

Sowohl durch die Schwächung des Immunsystems durch die häufig auftretende Neutropenie, als auch wegen der Gefahr einer möglichen bakteriellen Translokation von vor allem gramnegativen Erregern durch die zerstörte Darmschranke, sind an Parvovirose erkrankte Hunde empfänglich, eine Sepsis zu entwickeln (WESSELS & GAFFIN, 1986; ISOGAI et al., 1989; TURK et al., 1990; DIMMITT, 1991). In Studien, in denen gnotobiotische und spezifisch

pathogenfreie Hunde experimentell mit CPV infiziert wurden, entwickelten diese Tiere keine bis nur sehr milde klinische Symptome einer Parvovirose, wie eine erhöhte Körpertemperatur oder eine transiente Lymphopenie. Gastrointestinale Symptome wurden nicht beschrieben (APPEL et al., 1979; KRAKOWKA et al., 1982). Somit spielen bakterielle Sekundärinfektionen und Translokationen bei Hunden mit natürlicher CPV-Infektion eine große Rolle hinsichtlich der Schwere der klinischen Symptome im Verlauf einer Parvovirose. Eine antibiotische Therapie von an Parvovirose erkrankten Hunden ist daher notwendig. Zusätzlich reduziert der Einsatz von Antibiotika die bakterielle Darmflora und damit die mitotische Aktivität des Darmepithels, wodurch die Virusvermehrung in den Mukosazellen des Dünndarms verringert wird (CARLSON & SCOTT, 1977). Aminopenicilline haben eine breite Wirkung gegen grampositive und gramnegative Erreger (z. B. Ampicillin, 10 – 20 mg/kg, i. v., intramuskulär (i. m.), s. c., alle sechs bis acht Stunden; Amoxicillin, 10 – 20 mg/kg, i. v., i. m., s. c. oder p. o., alle acht bis zwölf Stunden) (GREENE & BOOTHE, 2013; GREENE & DECARO, 2013). Vor allem bei Neutropenien und schweren klinischen Symptomen werden meist Kombinationen von mehreren Antibiotika empfohlen, um eine möglichst breite Abdeckung zu gewährleisten und vor allem auch die gramnegativen Erreger ausreichend zu erfassen. Beschriebene Kombinationen sind die Gabe von einem Aminopenicillin mit einem Aminoglykosid (z. B. Gentamicin, 6 – 12 mg/kg, i. v., i. m., oder s. c., alle 24 Stunden) oder einem Quinolon (z. B. Enrofloxacin, 5 – 20 mg/kg, i. v., i. m., s. c. oder p. o., alle 24 Stunden) (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2013; GREENE et al., 2013; PLUMB, 2015), wobei die Gabe von Quinolonen bei großwüchsigen Hunden im Wachstum zu Knorpelschäden führen kann (YOSHIDA et al., 1998; EGERBACHER et al., 2001). Aminoglykoside sollten nur an gut rehydrierte Tiere verabreicht werden, da sie potentiell nierentoxisch wirken können (LOPEZ-NOVOA et al., 2011; PAQUETTE et al., 2015). Die Gabe von Breitspektrum-Cephalosporinen der dritten Generation (z. B. Cefotaxim, 20 – 80 mg/kg, i. v., i. m. oder s. c., alle sechs bis zwölf Stunden) mit guter Abdeckung im gramnegativen und anaerobem Bereich, ist eine Alternative zur Gabe von Quinolonen oder Aminoglykosiden, und kann, z. B. in Kombination mit einem Penicillin, auch Welpen verabreicht werden (HARTMANN & HEIN, 2008; GREENE et al., 2013; PLUMB, 2015). Um die anaeroben Erreger ausreichend

abzudecken, ist gegebenenfalls die zusätzliche Gabe von Metronidazol (10 – 15 mg/kg, i. v. oder p. o., alle acht bis zwölf Stunden) nötig. Bei einer Infektion mit Giardien, die häufig gleichzeitig mit einer CPV-Infektion beobachtet wird, ist Metronidazol ebenfalls wirksam (GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE et al., 2013; PLUMB, 2015). Die parenterale Verabreichung der Antibiotika ist der oralen Gabe vorzuziehen, da die Aufnahme der Medikamente im Magen-Darm-Trakt bei erkrankten Tieren gestört ist (PRITTIE, 2004).

1.3. Antiemetika

Erbrechen ist ein häufiges Symptom bei Hunden mit CPV-Infektion. Frequentes Erbrechen kann den Flüssigkeitsmangel der Tiere verschlimmern und zu Elektrolytimbalancen führen (MANTIONE & OTTO, 2005). Desweiteren bleibt durch eine bestehende Übelkeit die selbstständige Futteraufnahme der Tiere aus. Empfohlene Antiemetika sind Metoclopramid und Chlorpromazin (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004; MANTIONE & OTTO, 2005). Metoclopramid ist ein prokinetisch wirksames Antiemetikum und hat eine starke antiemetische Wirkung, zum einen durch Förderung der Magenentleerung, als auch durch zentrale Wirkung an der Chemorezeptor-Triggerzone und teilweise auch durch Wirkung an 5-Hydroxytryptamin (HT)-Rezeptoren im Brechzentrum (DIPALMA, 1990; HALL & WASHABAU, 1997). Bei Hunden mit Parvovirose ist es allerdings mit Vorsicht einzusetzen, da eine sekundäre Folge der Parvovirose eine Invagination sein kann, und Metoclopramid die Entstehung von Invaginationen aufgrund der prokinetischen Effekte noch fördern kann (MANTIONE & OTTO, 2005). Empfohlene Dosierungen sind 0,2 – 0,5 mg/kg, i. m., s. c. oder p. o., alle acht Stunden oder besser 1 – 2 mg/kg pro Tag i. v. als Dauerinfusion (PRITTIE, 2004; WILLARD, 2014b; PLUMB, 2015). Chlorpromazin (0,5 mg/kg, i. m. oder s. c., alle sechs Stunden oder 0,1 mg/kg, i. v., alle vier bis sechs Stunden) ist ein Phenothiazin-Derivat und wirkt sowohl an der Chemorezeptor-Triggerzone, als auch an peripheren Rezeptoren. Als Nebenwirkungen des Einsatzes von Chlorpromazin sind Hypotension und systemische Vasodilatation durch blockierende Effekte an α -adrenergen Rezeptoren bekannt. Chlorpromazin sollte deswegen nicht an dehydrierte Tiere verabreicht werden (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004). Ebenfalls beschrieben ist der Einsatz von Ondansetron (0,1 – 0,15 mg/kg, i. v.,

alle sechs bis zwölf Stunden), welches durch Hemmung der Serotonin-Ausschüttung an den peripheren und zentralen 5-HT-Rezeptoren zu einer Reduzierung des Erbrechens führt (PRITTIE, 2004; MANTIONE & OTTO, 2005; GREENE & DECARO, 2013). Vor allem bei peripher verursachtem Erbrechen zeigte Ondansetron bessere Erfolge als Metoclopramid und Chlorpromazin (SEDLACEK et al., 2008). Auch der Neurokinin-1-Rezeptor-Antagonist Maropitant (1 mg/kg, s. c. oder i. v. alle 24 Stunden) zeigt gute Erfolge bei der Kontrolle von sowohl zentral, als auch peripher verursachtem Erbrechen und hat sich als gut verträglich erwiesen (RAMSEY et al., 2008; SELDLACEK et al., 2008). In einer prospektiven Studie zeigte Maropitant einen signifikant besseren antiemetischen Effekt als Metoclopramid bei Hunden mit Erbrechen unterschiedlicher Genese (DE LA PUENTE-REDONDO et al., 2007). Eine weitere experimentelle Studie zeigte einen Vorteil von Maropitant gegenüber Metoclopramid und Chlorpromazin bei durch periphere Rezeptoren verursachtem Erbrechen. Bei zentral verursachtem Erbrechen wurde kein signifikanter Unterschied in der Wirkung der Medikamente festgestellt (SEDLACEK et al., 2008). In einer aktuellen Studie zeigte Maropitant einen signifikant besseren antiemetischen Effekt als Metoclopramid, allerdings waren die klinischen Anzeichen für Übelkeit in beiden Gruppen gleichermaßen kaum reduziert (LORENZUTTI et al., 2017). Der Einsatz von Maropitant ist auch bei Hunden mit CPV-Infektion beschrieben (DE LA PUENTE-REDONDO et al., 2007; WILLARD, 2014a). Nebenwirkungen zentral wirksamer Antiemetika können Angst, Unruhe, Zittern oder sedative Effekte sein (DIPALMA, 1990; HALL & WASHABAU, 1997; MANTIONE & OTTO, 2005).

Kombinationen verschiedener antiemetischer Medikamente sind beschrieben, allerdings sollten mögliche Nebenwirkungen bedacht werden. In einer retrospektiven Studie wurde gezeigt, dass Hunde, die antiemetische Therapie erhalten hatten, eine signifikant längere Hospitalisierungsdauer aufwiesen, als Hunde, die keine antiemetische Therapie bekommen hatten. Genannte Gründe hierfür waren zum einen, dass mehr schwer erkrankte Tiere eine antiemetische Therapie erhielten und diese Hunde meist auch eine längere Hospitalisierungsdauer hatten. Mögliche medikamentöse Nebenwirkungen als Ursache für die längere Hospitalisierung wurden aber auch diskutiert. Eine antiemetische Therapie bei schwer erkrankten Tieren ist dennoch indiziert, um

Flüssigkeitsverlusten vorzubeugen und eine möglichst frühe enterale Ernährung zu gewährleisten (MANTIONE & OTTO, 2005; GODDARD & LEISEWITZ, 2010).

Da Hunde mit Parvovirose häufig eine Reflux-Ösophagitis entwickeln, sind unterstützende Therapiemaßnahmen mit systemischen Antazida wie Ranitidin (1 – 2 mg/kg, i. v., i. m. oder p. o., alle acht bis zwölf Stunden), Famotidin (0,5 – 1 mg/kg, i. v., i. m., s. c., p. o., alle zwölf bis 24 Stunden), oder Protonen-Pumpen-Inhibitoren wie z. B. Omeprazol (0,5 – 1 mg/kg, i. v. oder p. o., alle zwölf bis 24 Stunden) beschrieben (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; SPILLMANN et al., 2006; WILLARD, 2014b; PLUMB, 2015). Ranitidin zeigte bei einer zweimal täglichen Gabe allerdings keinen signifikanten Effekt auf den pH-Wert im Magen von gesunden Hunden im Vergleich zu Omeprazol und Famotidin (BERSENAS et al., 2005). Bei oraler Gabe zeigte Omeprazol eine signifikant bessere Hemmung der Magensäureproduktion als Famotidin (TOLBERT et al., 2011). In einer aktuellen experimentellen Studie bei Katzen wurde gezeigt, dass nur die zweimal tägliche orale Gabe von Omeprazol den pH-Wert im Magen signifikant erhöhen konnte im Vergleich zur einmaligen Gabe von Omeprazol, Ranitidin oder Placebo (SUTALO et al., 2015). Die maximale Reduktion der Magensäuresekretion nach oraler Gabe von Omeprazol ist zudem erst nach zwei bis fünf Tagen zu erwarten (WILLARD, 2014b). Zum Schutz der Schleimhaut bei Ösophagitis kann desweiteren auch die orale Verabreichung von Sucralfat (20 – 40 mg/kg oder 0,5 – 1 g, p. o., alle acht bis zwölf Stunden) unterstützend wirken (SPILLMANN et al., 2006; WILLARD, 2014b).

1.4. Analgetika

Viele an Parvovirose erkrankte Tiere zeigen abdominale Schmerzen, die zum einen durch die akute Gastroenteritis, zum anderen durch mögliche Invaginationen des Darms hervorgerufen sein können (GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Unter klinischer Überwachung ist der Einsatz von Opioiden, wie Buprenorphin, eine gute Option. Die empfohlene Dosis beträgt 5 – 20 µg/kg i. v. alle sechs bis acht Stunden. Fentanyl kann als Dauertropf verabreicht werden mit einer Rate von 5 – 10 µg/kg/h. Lidocain kann, auch kombiniert mit Opioiden, als Dauertropf mit 1 – 4 mg/kg/h oder als Bolus mit 2 – 4 mg/kg gegeben werden

(HARTMANN & HEIN, 2008). Nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAID) sind aufgrund der Nebenwirkungen, wie Ulzera, Perforationen im Magen-Darm-Trakt und möglicher Nephrotoxizität, bei akuten gastrointestinalen Symptomen nicht zu empfehlen (VENTURINI et al., 1998; LASCELLES et al., 2005; CARIOU et al., 2009). Das schwache NSAID Metamizol stellt hierbei eine Ausnahme dar. Es hat schmerzlindernde, antipyretische und spasmolytische Eigenschaften und zeigt weniger gastrointestinale und renale Nebenwirkungen, die bei der Gabe anderer NSAID beschrieben sind (TATSUO et al., 1994; HINZ et al., 2007; ZUKOWSKI & KOTFIS, 2009; IMAGAWA et al., 2011; KONIJNENBELT-PETERS et al., 2016). Dosierungen für Metamizol liegen bei 20 – 50 mg/kg, i. v., i. m. oder p. o. alle sechs bis acht Stunden (ALEF et al., 2006; IMAGAWA et al., 2011; SCHUTTER et al., 2016).

1.5. Prophylaxe einer disseminierten intravasalen Koagulopathie

Tiere mit Parvovirose können, oft in Folge einer Sepsis, eine disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC) entwickeln (HOFFMANN, 1974; COUTO, 1999). In einer Studie wurde auch von einer erhöhten Neigung zur Bildung von Thrombosen und Phlebitiden bei Hunden mit Parvovirose berichtet (OTTO et al., 2000). Es gibt Beschreibungen zum Einsatz von Heparin in niedrigen Dosierungen zur Prophylaxe und Therapie der DIC in der Veterinär- und Humanmedizin (COUTO, 1999; LEVI & POLL, 2015). In einer experimentellen Studie bei Pavianen, denen Thrombin verabreicht wurde, konnte eine intravenöse Gabe von low-dose-Heparin die Mortalität im Vergleich zur Kontrollgruppe, sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch, reduzieren (DU TOIT et al., 1991). Gesicherte humanmedizinische klinische Feldstudien hierzu gibt es allerdings bisher nicht (LEVI & POLL, 2015). Empfehlungen in der Veterinärmedizin tendieren dazu, Heparin möglichst prophylaktisch oder im frühen Verlauf einer DIC zu geben, um einen Effekt zu erzielen. Heparin kann nur wirken, solange sich noch genug Antithrombin-III (AT-III) im Plasma des Tieres befindet, da die AT-III-Aktivität bei Tieren mit DIC schnell abnimmt. Bei bereits bestehender DIC ist die Gabe von Heparin kontrovers diskutiert und deswegen sollte in diesem Fall die Gabe von Vollblut oder Plasma in Erwägung gezogen werden, um einen Effekt zu erzielen (RUEHL et al., 1982; COUTO, 1999; DUNN, 2010). Nebenwirkungen, wie die Heparin-induzierte Thrombozytopenie, sind

beschrieben, und sollten vor dem Einsatz in Betracht gezogen werden (RUEHL et al., 1982; SMITH, 2012; WARKENTIN, 2015; SALTER et al., 2016). In der Veterinärmedizin werden heute vermehrt niedermolekulare Heparine, wie Dalteparin, eingesetzt (SMITH, 2012; LYNCH et al., 2014). Ihr Einsatz reduziert das Risiko, Blutungen zu verursachen (CARTER et al., 1982; HENNY et al., 1985) und sie weisen bei subkutaner Gabe eine gute Bioverfügbarkeit auf (HIRSH et al., 2001). Da es wenig klinische Studien zur Gabe von Dalteparin in der Veterinärmedizin gibt, sind die Dosisempfehlungen nicht eindeutig und reichen von 75 – 150 IU/kg Dalteparin s. c. alle acht Stunden (MISCHKE et al., 2001a; HARTMANN & HEIN, 2008; SCOTT et al., 2009; DUNN, 2010; PLUMB, 2015). Insgesamt wird aber beschrieben, dass Dalteparin in höher angesetzten Dosen verabreicht werden sollte, um ausreichende Effekte zu erzielen (MISCHKE et al., 2005; ALWOOD et al., 2007). Das Monitoring der antikoagulatorischen Effekte der Heparintherapie ist wichtig, aber nicht einfach. Die früher häufig angewandte Messung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) wird heute als ungenaue Methode angesehen. Neuere Methoden sind die Messung der Antifaktor Xa-Level oder die Thrombelastographie, die allerdings noch nicht weit verbreitet und sicher validiert sind (VANDIVER & VONDRACEK, 2012; MCLAUGHLIN et al., 2017). Vor Beendigung der Heparintherapie sollte die Dosis des Heparins graduell über drei bis vier Tage reduziert werden (COUTO, 1999).

1.6. Therapie einer Hypalbuminämie

Durch die Zerstörung der Darmschranke durch die akute Gastroenteritis und den Proteinverlust in den Darm entwickeln viele Hunde mit Parvovirose eine Hypalbuminämie und Hypoproteinämie, die sehr ausgeprägt sein kann. Durch den hieraus bedingten niedrigen onkotischen Druck in den Gefäßen kann es zur Entwicklung von Körperödemen, meist beginnend an den Gliedmaßen und im Kopfbereich, oder auch zur Bildung von Körperhöhlenergüssen kommen (PRITTIE, 2004).

Die Gabe von synthetischen Kolloiden, wie Hetastarch oder Dextran, stellt eine verbreitete Therapieoption bei Hypalbuminämien dar. Sie sind leicht verfügbar und relativ kostengünstig. Synthetische Kolloide sollten bei

Serumalbuminkonzentrationen von < 20 g/l in Erwägung gezogen, und in einer Dosis von 20 ml/kg pro Tag verabreicht werden. Die Raten der kristalloiden Infusionen sollten bei gleichzeitiger Gabe von Kolloiden um 40 – 60 % reduziert werden (PRITTIE, 2004; GREENE & DECARO, 2013). Hetastarch kann den onkotischen Blutdruck verbessern, Ödembildung reduzieren und ist in den empfohlenen Dosierungen sicher in der Anwendung (SMILEY & GARVEY, 1994). Eine Nebenwirkung von synthetischen Kolloiden kann eine Verlängerung der Koagulationszeit sein, da der Einsatz von Hetastarch zu einer Abnahme von Faktor VIII-Konzentrationen führen kann (STUMP et al., 1985). Da eine Parvovirose jedoch eher zu einer Hyperkoagulabilität führt, sind Komplikationen mit Beeinträchtigung der Gerinnung bei niedrigen Infusionsraten nicht zu erwarten (OTTO et al., 2000; BROWN & OTTO, 2008). In der Humanmedizin wird der Einsatz von Hetastarch bei Patienten mit schwerer Sepsis kontrovers diskutiert, da es zu Nebenwirkungen wie akutem Nierenversagen führen kann (BRUNKHORST et al., 2008; PERNER et al., 2012; SERPA NETO et al., 2014). In der Veterinärmedizin sind Nebenwirkungen dieser Art aber bisher nicht beschrieben.

Bei länger anhaltender Anorexie und Panhypoproteinämie ist die totale parenterale Ernährung (TPN; siehe 1.9.2.) eine weitere Therapieoption zur Aufrechterhaltung des Proteinsерumspiegels. Mit der TPN werden Kohlenhydrate, Proteine und Fette i. v. verabreicht (MOORE, 1998). Das Anmischen und die Anwendung der Lösungen sollten steril erfolgen, da Komplikationen, wie bakterielle Infektionen bis zur Sepsis, durch unsauberes Arbeiten entstehen können. Wenn möglich, ist wegen der hohen Osmolalität der verabreichten Lösungen ein zentraler Venenkatheter zu bevorzugen. Die parenterale Ernährung sollte bis zur selbständigen Nahrungsaufnahme erfolgen (LIPPERT et al., 1993; HARTMANN & HEIN, 2008).

1.6.1. Transfusionen

Ein weiterer Ansatz zur Therapie einer Hypalbuminämie ist die Gabe von natürlichen Kolloiden in Form von Vollblut- oder Plasmatransfusionen. Liegt keine Anämie vor, ist die Verabreichung von Plasma ausreichend. Plasma sollte ab einer Serumalbuminkonzentration von < 20 g/l oder klinischen Symptomen

wie Ödembildung in Erwägung gezogen werden. Empfohlene Dosierungen liegen bei 6 – 20 mg/kg über 24 Stunden. Die Gabe von Plasma kann wiederholt erfolgen (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; MOORE, 1998; MAZZAFERRO et al., 2002; GREENE & DECARO, 2013). Der alleinige Einsatz von Plasma zur Therapie einer Hypalbuminämie ist allerdings fraglich, da zum einen sehr große Mengen an Plasma nötig sind, um den Serumalbuminspiegel der betroffenen Tiere zu erhöhen, und auch transfusionsbedingte Nebenwirkungen auftreten können. Ein zusätzlicher Nutzen der Verabreichung von Plasma besteht in der gleichzeitigen Gabe von Antikörpern, Gerinnungsfaktoren und Entzündungsmediatoren (MOORE, 1998; MAZZAFERRO et al., 2002; BROWN & OTTO, 2008; CRAWFORD & SELTON, 2010). Somit kann eine Gabe vor allem bei Tieren mit DIC, Blutungen, oder Sepsis sinnvoll sein (LOGAN et al., 2001).

Zeigen die Tiere mit Hypalbuminämie zusätzlich eine Anämie, sollte Vollblut an Stelle von Plasma verabreicht werden (MOORE, 1998). Erythrozytäre Vorläuferzellen sind nicht das primäre Ziel zur Replikation der Parvoviren. Da Erythrozyten eine lange Überlebenszeit im peripheren Blut haben, sind ausgeprägte Anämien aufgrund der Zerstörung von erythrozytären Vorläuferzellen selten und treten erst nach lange andauernder Erkrankung in Erscheinung (HARTMANN & HEIN, 2008). Durch Blutverlust in den Magen-Darm-Trakt und auch den häufig zusätzlich auftretenden intestinalen Parasitenbefall entwickeln einige Tiere aber teilweise auch im frühen Krankheitsverlauf eine Anämie. Weisen die Tiere einen niedrigen Hämatokrit oder klinische Symptome einer Anämie, wie Schwäche, Tachykardie und Tachypnoe auf, sind Transfusionen mit Vollblut oder Erythrozytenkonzentrat indiziert (PRITTIE, 2004; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2013). Die Transfusionen sollten in einer Dosis von 10 – 20 ml/kg über vier bis sechs Stunden erfolgen. Vorhergehend sollte möglichst eine Blutgruppenbestimmung mit Kreuzprobe erfolgen; bei wiederholten Bluttransfusionen ist eine vorherige Testung essentiell (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; PRITTIE, 2004).

1.6.2. Therapie mit humanem Albumin

In der Humanmedizin wird kommerziell erhältlichliches 5%iges oder 25%iges

humanes Albumin zur Therapie von Hypalbuminämien eingesetzt. Der Einsatz wird allerdings kontrovers diskutiert, da bisher keine eindeutigen positiven Effekte bei schwer kranken Patienten festgestellt werden konnten und ein Review von 30 kontrollierten Studien insgesamt eine erhöhte Mortalität von 6 % nach Einsatz von humanem Albumin im Vergleich zu den Kontrollgruppen beschreibt (REVIEWERS, 1998; WILKES & NAVICKIS, 2001). In der Veterinärmedizin wurde in einer retrospektiven Studie der Einsatz von 25%igem humanem Albumin bei schwer kranken Hunden und Katzen als zusätzliche Therapie untersucht. In dieser Studie wurde der Einsatz für sicher gehalten und es konnte eine signifikante Erhöhung des Serumalbuminspiegels nachgewiesen werden (MATHEWS & BARRY, 2005). Dosierungsempfehlungen reichen von 2 – 5 ml/kg i. v. (RUDLOFF & KIRBY, 1994; MATHEWS, 2008). Da immunmedierte Reaktionen nach Gabe von 25%igem humanem Albumin auch noch nach einigen Wochen auftreten können, sollte der Einsatz kritisch abgewogen werden und die Gabe von humanem Albumin nicht als erste Therapie der Wahl erfolgen (MATHEWS, 2008).

1.7. Leukozytenstimulation

Tiere mit Parvovirose entwickeln häufig eine Neutropenie durch Virusvermehrung in den mitotischen Vorläuferzellen im Knochenmark und sind so empfänglicher gegenüber bakteriellen Sekundärinfektionen und Sepsis (GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Die Stimulation der Neutrophilenzahl ist somit ein Therapieansatz bei Tieren mit Parvovirose. Granulozyten-Koloniestimulierende Faktoren (G-CSF) sind Zytokine, die für die Proliferation und Differenzierung von Granulozyten im Knochenmark eine wichtige Rolle spielen und die Reifung und Freisetzung von Granulozyten beschleunigen können (REWERTS et al., 1998). Bei Hunden, die durch eine Infektion mit CPV eine Neutropenie entwickeln, ist endogenes G-CSF im Blut messbar (COHN et al., 1999).

Der Einsatz des rekombinanten humanen granulozytenstimulierenden Faktor (rhG-CSF) wurde in einigen Studien bei Tieren mit schweren Neutropenien beschrieben. Eine zweimalige subkutane Gabe von Filgrastim in einer Dosis von 5 µg/kg zeigte bei einer kleinen Anzahl von Hunden (n = 8) mit CPV-Infektion

einen signifikanten Anstieg der Neutrophilenzahl im Vergleich zu einer nicht behandelten Kontrollgruppe (n = 10) (KRAFT & KUFFER, 1995). Studien mit Katzen mit FPV-Infektion zeigten kontroverse Ergebnisse. In einer Studie konnte ein Effekt auf die Neutrophilenzahlen durch Filgrastim festgestellt werden (KUFFER-FRANK et al., 1999), während in einer früheren Untersuchung keine Wirkung gezeigt werden konnte (KRAFT & KUFFER, 1995). In zwei placebokontrollierten Studien mit einmal 23 und einmal 43 eingeschlossenen Hunden mit CPV-Infektion konnte kein signifikanter positiver Effekt von subkutan verabreichtem rhG-CSF auf Leukozytenzahl oder weitere hämatologische Parameter im Vergleich zu den Kontrollgruppen festgestellt werden (REWERTS et al., 1998; MISCHKE et al., 2001b). Eine mögliche Ursache für den ausbleibenden Effekt ist die Tatsache, dass die Gabe von rhG-CSF zu Zeitpunkten erfolgte, an denen der Pool an Vorläuferzellen im Knochenmark durch die Virusvermehrung schon weitestgehend erschöpft war. Damit konnten auch keine Leukozyten schneller aktiviert und freigesetzt werden (REWERTS et al., 1998; MISCHKE et al., 2001b). Die Gabe von rhG-CSF über längeren Zeitraum kann zudem zur Bildung von Antikörpern gegen endogenes C-GSF führen (HENRY et al., 1998). Als weiterer potenziell negativer Effekt wird diskutiert, ob die Stimulierung des Knochenmarks auch die Vermehrung der Parvoviren im Knochenmark begünstigen könnte (LONDON, 2000; HARTMANN, 2013).

Der Einsatz von rekombinantem caninen granulozytenstimulierenden Faktor (rcG-CSF) wurde in einer Studie untersucht. In der ungeblindeten Studie zeigten Hunde, die einmal täglich 5 µg/kg rcG-CSF subkutan erhielten, einen signifikant höheren Neutrophilenanstieg und eine kürzere Hospitalisierungsdauer als die Kontrollgruppe. Allerdings war die Überlebensrate in der mit rcG-CSF behandelten Gruppe signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe. Somit kann der Einsatz von rcG-CSF bei Hunden mit Parvovirose nicht empfohlen werden (DUFFY et al., 2010).

1.8. Anti-Endotoxin-Therapie

Für Hunde mit CPV-Infektion besteht eine große Gefahr, eine Sepsis zu entwickeln, die meist durch gramnegative Erreger verursacht wird (TURK et al.,

1990). Es wurde nachgewiesen, dass Hunde mit CPV-Infektion im Vergleich zu gesunden Hunden höhere Endotoxin-Spiegel im Blut aufzeigen, die vor allem durch die häufigen bakteriellen Translokationen und Bakteriämien im Verlauf einer Parvovirose verursacht werden (OTTO et al., 1997; OTTO et al., 2001). Ein weiterer Therapieansatz besteht deswegen in der Verabreichung von anti-Endotoxin-Antikörpern, um bakterielle Endotoxine im Blut zu neutralisieren. Studien hierzu zeigten uneindeutige Ergebnisse. In zwei älteren Studien, in denen Hunde equines anti-Endotoxin-Serum in einer Dosis von 0,5 – 4 ml/kg erhielten, zeigten die Verumgruppen eine signifikant höhere Überlebensrate als die Kontrollgruppen (WESSELS & GAFFIN, 1986; DIMMITT, 1991). In einer anderen Studie wiesen Hunde unter 16 Wochen, die anti-Endotoxin-Serum erhielten, eine höhere Mortalitätsrate auf als die Kontrollgruppe und die Autoren rieten von einer Gabe bei jungen Tieren ab (MANN et al., 1998). In einer weiteren placebokontrollierten Studie wurde die Wirkung von rekombinantem bakterizidem Permeabilitäts-steigerndem Protein (rBPI₂₁), einem antibakteriellen und Endotoxin-neutralisierenden Protein, bei Hunden mit CPV-Infektion untersucht. Die Hunde erhielten eine einmalige Infusion in einer Dosierung von 3 mg/kg über insgesamt sechs Stunden zusätzlich zu symptomatischer Therapie. Es wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich klinischer Symptomatik und Dauer der Hospitalisierung im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (OTTO et al., 2001). Somit konnten insgesamt keine eindeutigen therapeutischen Vorteile durch den Einsatz von anti-Endotoxin bei Hunden mit CPV-Infektion aufgezeigt werden.

1.9. Ernährung

Hunde mit CPV-Infektion sind oft tagelang anorektisch und erbrechen häufig. Zusätzliche Schwäche durch reduzierte Kalorienaufnahme und Hypalbuminämien durch Proteinverlust über den geschädigten Darm sind die Folge (PRITTIE, 2004). Die Ernährung spielt daher eine wichtige Rolle in der Therapie der Parvovirose (MOHR et al., 2003).

1.9.1. Orale Ernährung

Der Grundsatz, dass Hunde, die schwere gastrointestinale Symptome durch eine

CPV-Infektion zeigen, mehrere Tage fasten sollten, um den Magen-Darm-Trakt zu schonen, ist mittlerweile überholt. Enterale Ernährung stellt einen wichtigen Bestandteil für den Schutz und die Integrität der Darmschleimhaut dar, verhindert Zell- und Kryptenatrophie und vermindert die Durchlässigkeit der Darmwand für Bakterien und Toxine (MOORE et al., 1992; HADFIELD et al., 1995; HEEL et al., 1998). Der klinische Nutzen früher enteraler Ernährung zeigte sich in einer Studie, bei der Hunde mit CPV-Infektion kurz nach der stationären Aufnahme eine nasoösophageale Ernährungssonde erhielten. Diese Hunde zeigten eine schnellere Verbesserung der klinischen Parameter und signifikant bessere Gewichtszunahmen im Vergleich zu den Hunden, denen erst dann oral Nahrung zugeführt wurde, nachdem sie zwölf Stunden nicht erbrochen hatten. Als zusätzlicher Nutzen wurde zudem ein geringeres Risiko für bakterielle Translokationen durch die Verbesserung der Funktion der Darmschranke diskutiert (MOHR et al., 2003). Die Erkenntnis, dass enterale Sondenernährung auch bei Tieren mit akuten gastrointestinalen Symptomen hilfreich sein kann, obwohl die Tiere noch Erbrechen zeigen, widerlegt frühere Ansichten, bei denen Erbrechen immer eine Kontraindikation für Sondenernährung darstellte (DEINERT, 1997). Generell ist es daher sinnvoll, eine möglichst frühe enterale Ernährung sicher zu stellen, wenn nötig auch in Kombination mit einer parenteralen Ernährung (MOHR et al., 2003; HARTMANN & HEIN, 2008).

1.9.2. Parenterale Ernährung

Für Tiere, die über mehrere Tage anorektisch sind oder oral nicht genug Nährstoffe resorbieren können, stellt eine totale oder partielle parenterale Ernährung (PPN) eine therapeutische Option dar. Auch bei ausgeprägten Hypalbuminämien kann der Einsatz einer parenteralen Ernährung sinnvoll sein (HARTMANN & HEIN, 2008). Bei einer TPN werden alle essentiellen Nährstoffe, also Kohlenhydrate, Lipide, Aminosäuren, Vitamine und Elektrolyte i. v. verabreicht. Die Gabe sollte wenn möglich über einen zentralen Venenkatheter, der unter aseptischen Bedingungen gelegt wird, erfolgen, da die verabreichten Lösungen eine hohe Osmolalität aufweisen (> 600 mOsm/l) (CHANDLER et al., 2000; HARTMANN & HEIN, 2008). Nachteile einer TPN sind Komplikationen, wie ein erhöhtes Sepsisrisiko, zentralvenöse Thromben oder metabolische Störungen, wie z. B. Elektrolytstörungen oder Hyperglykämien (LIPPERT et al.,

1993; REUTER et al., 1998; CHANDLER et al., 2000). Die Verabreichung einer TPN wird vor allem bei akut auftretenden Erkrankungen mit eingeschränkter gastrointestinaler Funktion als sinnvoll erachtet; sie sollte aber nur so lange wie nötig verabreicht werden. Die Umstellung auf orale Nahrungsaufnahme sollte so schnell wie möglich wieder erfolgen (LIPPERT et al., 1993; REUTER et al., 1998). Am ersten Tag der Verabreichung einer TPN sollten die Tiere nur 50 % der benötigten Nährstoffmenge erhalten. Bei guter Verträglichkeit kann die Gabe ab dem zweiten Tag auf 100 % der benötigten Nährstoffmenge erhöht werden (REUTER et al., 1998; SILVERSTEIN & HOPPER, 2014).

Bei einer PPN kann nur ein Teil des Nährstoffbedarfs i. v. gedeckt werden. Die Gabe kann dadurch auch über eine periphere Vene erfolgen, da die verabreichten Lösungen eine geringere Osmolalität aufweisen als die der TPN (< 600 mOsm/l) (CHANDLER et al., 2000; CHAN et al., 2002). Tiere, die für eine PPN in Frage kommen, sind Patienten, die absehbar kurzzeitige intravenöse parenterale Unterstützung benötigen, wie z. B. nach Operationen, Tiere, bei denen kein intravenöser Katheter gelegt werden kann, oder Tiere, die zusätzlich zur enteralen Ernährung noch eine parenterale Ernährung benötigen, weil sie ihren Nährstoffbedarf noch nicht komplett durch die orale Nahrungsaufnahme decken können (CHANDLER et al., 2000; CHAN et al., 2002). Im retrospektiven, nicht randomisierten Vergleich war die Komplikationsrate bei Tieren, die eine partielle PPN erhielten etwas geringer als bei Tieren aus vorherigen Studien, die eine TPN erhalten hatten. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass Tiere, die eine TPN erhielten, meist auch schwerer erkrankt waren (REUTER et al., 1998; CHAN et al., 2002). Die zu verabreichenden Lösungen für die PPN und die TPN sind fertig angemischt kommerziell erhältlich; alternativ können die Lösungen aber auch aseptisch vor Ort in der Klinik angemischt werden (CHANDLER et al., 2000) (Tabelle 4).

Tabelle 4: Zusammensetzung einer totalen parenteralen Ernährung, geeignet für Hunde mit Parvovirose (g = Gramm; IER = Krankheitsenergiebedarf; kcal = Kilokalorien; kg = Kilogramm; KGW = Körpergewicht; RER = Ruheenergiebedarf; TPN = totale parenterale Ernährung) (LIPPERT et al., 1993; REUTER et al., 1998; SILVERSTEIN & HOPPER, 2014)

Inhaltsstoffe	TPN (zentraler Venenkatheter)
Aminosäuren	4 – 6 g/100 kcal RER
Lipide	50 – 70 % nicht-Protein RER
Glukose	restlicher nicht-Protein RER (bis zu 50 %)
Zusätze: Elektrolyte, Vitamine nach Bedarf	
Berechnung RER: $70 \times (\text{KGW in kg})^{0,75}$ oder RER: $30 \times (\text{KGW in kg}) + 70$	
Berechnung IER: $1,25 - 2,0 \times \text{RER}$	
Am 1. Tag Verabreichung von 50 % IER der TPN-Lösung, ab dem 2. Tag Verabreichung von 100 % IER.	

1.10. Weitere unterstützende Maßnahmen

Befall mit intestinalen Parasiten kann die gastrointestinalen Symptome bei Tieren mit Parvovirose verstärken. Daher sollte eine Kotuntersuchung auf Wurm-, Kokzidien-, und Giardienarten erfolgen und bestehende Infektionen sollten behandelt werden (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; GODDARD & LEISEWITZ, 2010; GREENE & DECARO, 2013). Die einmalige Gabe von Dexamethason und Flunixin-Meglumin wurde teilweise für Hunde mit Parvovirose bei beginnender Sepsis beschrieben (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; GREENE & DECARO, 2013), wird aber in aktuelleren Therapieempfehlungen aufgrund der Gefahr von gastrointestinalen Ulzerationen nicht mehr empfohlen (HARTMANN & HEIN, 2008; WILLARD, 2014a).

Generell sollten hospitalisierte Tiere mehrmals täglich klinisch untersucht werden, und das Körpergewicht sollte regelmäßig kontrolliert werden, um Änderungen im

Hydratationsstatus der Tiere zu überwachen. Um die symptomatischen Therapien sinnvoll anpassen zu können, sollten, außer bei deutlich anämischen Tieren, Kalium, Serumalbumin, Hämatokrit und Gesamtleukozytenzahl täglich bis alle zwei Tage kontrolliert werden. Die Blutglukose sollte, vor allem bei bestehendem Verdacht einer Sepsis, alle vier Stunden kontrolliert werden (WILLARD, 2014a).

2. Immunmodulatorische und antivirale Therapie

Neben der symptomatischen Therapie gibt es auch einige Ansätze zur kausalen Therapie von CPV-Infektionen, die entweder auf die Stimulation der körpereigenen Immunabwehr fokussieren oder direkt antiviral wirken sollen.

2.1. Rekombinantes felines Interferon-Omega

Interferone sind Proteine, die immunmodulatorische, antivirale und antitumorale Aktivitäten aufweisen (TRUYEN et al., 2002; PRITTIE, 2004). Das rekombinante feline Interferon-Omega (rFeIFN- ω), das in Seidenraupenlarven hergestellt wird, zeigte *in-vitro* Wirksamkeit gegen verschiedene Viren (MOCHIZUKI et al., 1994; TRUYEN et al., 2002). Es gibt einige Studien, die den therapeutischen Nutzen von rFeIFN- ω bei Hunden mit Parvovirose untersuchten. Es wurde gezeigt, dass es sowohl bei der Verabreichung von rFeIFN- ω an spezifisch-pathogenfreie Hunde, als auch an Hunde mit natürlicher CPV-Infektion zu einer Aktivierung des zellulären Immunsystems durch das Interferon kommt, da drei Stunden nach Verabreichung von Interferon ein Anstieg der Phagozytenaktivität und ein Anstieg der Anzahl der Gesamt-, Makrophagen-, und natürlichen Killerzellen feststellbar war (KUWABARA et al., 2006). In experimentellen Studien erhielten mit CPV inokulierte Hunde über drei aufeinanderfolgende Tage rFeIFN- ω in Dosierungen von $1,0 - 5 \times 10^6$ IU/kg i. v. In zwei Studien wurden einmal zwölf und einmal 19 Hunde mit rFeIFN- ω therapiert. Die Hunde zeigten eine signifikante Verbesserung der klinischen Symptome im Vergleich zu den jeweils 17 Hunden der Kontrollgruppen (ISHIWATA et al., 1998; MINAGAWA et al., 1999). Auch hinsichtlich der Mortalität zeigten sich signifikante Unterschiede in einer weiteren Studie, bei der alle fünf Tiere der untherapierten Kontrollgruppe starben, während in der Gruppe der Hunde, die rFeIFN- ω erhielten (n = 5), vier

Tiere überlebten (MARTIN et al., 2002). In einer japanischen Multicenter-Studie, in die 93 Hunde mit CPV-Feldinfektion aus 33 Kliniken eingeschlossen wurden, zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Mortalitätsrate; bei mit rFeIFN- ω therapierten Hunden (n = 72) lag die Mortalität bei 19,4 %, in der Kontrollgruppe (n = 21) bei 61,9 %. Auch die klinische Symptomatik verbesserte sich signifikant bei den therapierten Hunden (MINAGAWA et al., 1999). Ähnliches zeigte eine zweite Multicenter-Studie aus Frankreich mit insgesamt 92 natürlich mit CPV infizierten Hunden, bei der 43 mit rFeIFN- ω therapierte Hunde ebenfalls einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Besserung der klinischen Symptome und der Mortalitätsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 49) zeigten (DE MARI et al., 2003). Nebenwirkungen, die auf die Gabe von rFeIFN- ω zurückzuführen waren, wurden nicht beobachtet. Die bisherigen Untersuchungen zeigen demnach, dass der therapeutische Einsatz von Interferon bei Hunden mit Parvovirose vielversprechend erscheint. Die empfohlene Dosierung von rFeIFN- ω beträgt $2,5 \times 10^6$ IU/kg einmal täglich i. v. über drei aufeinanderfolgende Tage (HARTMANN & HEIN, 2008; PLUMB, 2015). Ein Nachteil der Therapie mit Interferon ist der vergleichbar hohe Kostenfaktor.

2.2. Passive Immunisierung

Unter passiver Immunisierung versteht man die externe Zufuhr von spezifischen Antikörpern. Die Antikörper können bestimmte Erreger, wie virale Antigene, neutralisieren und somit vor einer infektiösen Erkrankung schützen oder die Anzahl der Erreger nach Infektionen reduzieren, je nachdem, ob der Einsatz prophylaktisch oder therapeutisch erfolgt (GREENE & LEVY, 2013). In placebokontrollierten Studien mit experimentell mit CPV infizierten Hunden, zeigte die frühzeitige therapeutische Gabe von anti-CPV-Antikörpern positive Effekte. Hunde, die kurz nach der CPV-Inokulation Immunglobulin (Ig) Y aus Eidotter erhielten, zeigten je nach Dosierung keine oder nur geringe klinische Symptome einer CPV-Infektion (VAN NGUYEN et al., 2006). Ähnliche Ergebnisse lieferten zwei weitere Studien, bei denen experimentell mit CPV infizierte Hunde canines Serum erhielten. Vier mit Immuserum therapierte Hunde zeigten nur milde klinische Symptome und alle Tiere überlebten, während die Tiere der Kontrollgruppe (n = 6) schwerere klinische Symptome zeigten und drei Tiere verstarben (ISHIBASHI et al., 1983). Bei vier Hunden, denen 24

Stunden nach experimenteller Virusinokulation canines Serum verabreicht wurden, traten weder klinische Symptome, Lymphopenie und Virusausscheidung mit dem Kot auf, noch war eine intestinale Infektion mit Immunfluoreszenz nachweisbar (MEUNIER et al., 1985a).

Die wenigen Feldstudien mit natürlich an CPV infizierten Hunden zeigten uneindeutige Ergebnisse. In einer placebokontrollierten klinischen Studie zeigten Hunde mit CPV-Feldinfektion, die zusätzlich zu symptomatischer Therapie einmalig lyophilisiertes IgG (n = 21) erhielten, eine kürzere Hospitalisierungsdauer und weniger schwer ausgeprägte klinische Symptome als die Kontrollgruppe (n = 22) (MACINTIRE et al., 1999). In einer aktuelleren randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie konnte allerdings keine signifikante Verbesserung hinsichtlich klinischer Symptomatik, Viruslast und Blutparameter zwischen Kontrollgruppe (n = 7) und Verumgruppe (n = 7), die zusätzlich zu symptomatischer Therapie eine einmalige intravenöse Dosis von caninem Immunplasma erhielten, festgestellt werden (BRAGG et al., 2012).

Empfehlungen zur Dosierung und Dauer der Gabe von Antikörpern zur Therapie der caninen Parvovirose sind noch in der Diskussion (BRAGG et al., 2012; DODDS, 2012). Immunseren können selbst in der jeweiligen Klinik hergestellt werden, indem Blut von gesunden Tieren, die idealerweise eine Infektion überstanden haben, abgenommen und an die erkrankten Tiere verabreicht wird. Als Hyperimmunserum wird das Serum von Tieren bezeichnet, die wiederholt gegen Parvovirose geimpft wurden. Idealerweise werden die Seren s. c. verabreicht; ist eine intravenöse Gabe gewünscht, sollte Plasma verwendet werden (TRUYEN et al., 2009). Immunseren sind in einigen Ländern auch kommerziell erhältlich (HARTMANN & HEIN, 2008). In Deutschland war das Hyperimmunserum Stagloban[®] SHP (IDT Biologika, Dessau, Deutschland) von 1994 bis zum Jahr 2010 verfügbar, das spezifische Antikörper gegen CPV, das canine Staupevirus (CDV) und das canine Adenovirus (CAV-1) enthielt (GREENE & LEVY, 2013). Die empfohlene therapeutische Dosis betrug 0,4 ml/kg, die Produktion des Medikamentes wurde allerdings im Jahr 2010 eingestellt. Für Katzen ist das Hyperimmunserum Feliserin[®] Plus (IDT Biologika, Dessau, Deutschland) auf dem deutschen Markt, das nicht-Spezies-homolog aus equinem Serum hergestellt wird. Es enthält Antikörper gegen FPV, das feline Calicivirus (FCV), und das feline Herpesvirus (FHV-1). FPV ist antigenetisch

sehr eng mit CPV verwandt (MARTYN et al., 1990; PARRISH, 1999). Daher ist Feliserin[®] Plus seit 2012 auch für die Prophylaxe und Therapie der Parvovirose des Hundes zugelassen, da eine Kreuzprotektivität zwischen felines und caninen anti-Parvovirus-Antikörpern vermutet wird. Klinische Studien zum Einsatz von Feliserin[®] Plus bei Hunden mit Parvovirose gibt es bisher nicht. Für Katzen wird sowohl von einem prophylaktischen als auch von einem therapeutischen Nutzen bei felines Infektionskrankheiten berichtet (ACKERMANN & STEGMANN, 1975; ERHARDT, 1977; FRIEDL et al., 2014). Die aktuell empfohlene Dosis von Feliserin[®] Plus seit der Zulassung für Hunde liegt bei 0,2 ml/kg für prophylaktische, und 0,4 ml/kg bis zum Eintritt einer klinischen Besserung für therapeutische Zwecke. Von wiederholten Gaben von Feliserin[®] Plus, z. B. einer erneuten Verabreichung von Antikörpern nach dem Nachlassen des Schutzes nach mehreren Wochen, sollte abgesehen werden, da anaphylaktische Reaktionen auf das aus equinem Serum hergestellte Produkt auftreten können (HARTMANN & HEIN, 2008).

2.3. Paramunitätsinducer

Das Immunsystem gliedert sich in ein spezifisches Immunsystem, das antigenspezifisch wirkt und zu einer Immunität des Körpers gegen bestimmte Erreger führen kann, und ein unspezifisches Immunsystem, das nicht-antigenspezifisch arbeitet. Das angeborene, unspezifische Immunsystem ist für den Aufbau der Paramunität verantwortlich. Paramunität ist definiert als ein nicht-antigenspezifisches, zeitlich begrenztes Abwehrsystem, das gegen eine große Anzahl verschiedenster Erreger, Antigene und andere schädliche Einflüsse wirkt. Die Paramunität führt dazu, dass ein Organismus in der Lage ist, Pathogene zu binden, zu inaktivieren und zu entfernen oder den Organismus vor dem Pathogen zu schützen, bevor das spezifische Immunsystem mit Antikörpern und Immunzellen zum Einsatz kommt (MAYR & MAYR, 1999). Paramunitätsinducer können durch Stimulation von Monozyten und Makrophagen, Erhöhung der Funktionalität von natürlichen Killerzellen und Verbesserung der Aktivität der lymphoretikulären Zellen die Phagozytoserate des Organismus steigern. Ebenso kann die Produktion, Freisetzung, und Interaktion von Interleukinen, Tumor-Nekrose-Faktoren und G-CSF angeregt werden (FACHINGER et al., 2000). Kommerziell erhältliche Paramunitätsinducer werden aus Poxviren hergestellt

(PIND-ORF) und enthalten nicht-immunisierende, intakte antigenetische Strukturen von attenuierten und inaktivierten *Parapox ovis*-Stämmen (MAYR & MAYR, 1999). Die vom Hersteller empfohlene Dosis von PIND-ORF (Zylexis[®], Zoetis, Berlin, Deutschland) für Hunde bei akut zu erwartendem Infektionsdruck liegt bei 1 ml s. c. dreimal im Abstand von jeweils 48 Stunden.

In der Veterinärmedizin gibt es einige Berichte über den effektiven Einsatz von PIND-ORF als Paramunitätsinducer, sowohl im therapeutischen, als auch im metaphylaktischen Einsatz bei verschiedenen Erkrankungen (STRUBE et al., 1989; MAYR et al., 1991; KYRIAKIS et al., 1998; RYAN et al., 2010), während andere Studien keinen positiven klinischen Effekt zeigen konnten (KLIMENTOWSKI et al., 1992; BLOCK et al., 1997). Zum Einsatz von PIND-ORF bei Hunden mit Parvovirose gibt es bisher nur eine prospektive, randomisierte, placebokontrollierte Doppelblindstudie. Tiere in der Verumgruppe (n = 20) erhielten an Studientag 0, 2 und 4 jeweils 1 ml PIND-ORF s. c. zusätzlich zu symptomatischer Standardtherapie. Es wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich klinischer Parameter, Laborparameter, Dauer der Virusausscheidung und Höhe der Antikörper im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 18) festgestellt. Hunde der PIND-ORF-Gruppe zeigten allerdings eine signifikante Erhöhung der Lymphozyten im Studienverlauf (PROKSCH et al., 2014). Insgesamt erwies sich der Einsatz von PIND-ORF bei Hunden mit CPV-Infektion bisher somit als nicht effektiv im Hinblick auf eine schnellere Besserung der klinischen Symptomatik.

2.4. Oseltamivir

Virostatika sind Medikamente, die die Vermehrung von Viren im Organismus hemmen sollen. Da Viren obligat intrazelluläre „Zellparasiten“ sind, deren Replikation von den Signalwegen und Funktionen der Wirtszelle abhängt, ist es schwierig, virusspezifische Funktionen als Ansätze für eine anti-infektive Therapie zu definieren (MÜLLER & KRÄUSSLICH, 2009). Mittlerweile sind in der Humanmedizin einige effektive Virostatika zur Therapie viraler Erkrankungen anerkannt. Die Wirkung dieser Medikamente ist aber durch die schnelle Entwicklung von Resistenzen oft begrenzt (MÜLLER & KRÄUSSLICH, 2009).

Oseltamivir ist ein Neuraminidase (NA)-Inhibitor, der ursprünglich zur Therapie

des humanen Influenzavirus bestimmt war (GUBAREVA et al., 2000). Oseltamivir hemmt das virale Enzym NA und verhindert so die Spaltung von Sialinsäureresten, die für die weitere Freisetzung von neuen Virionen und zur Verhinderung der Aggregation von Viruspartikeln nötig ist (SAVIGNY & MACINTIRE, 2010). CPV ist für seine Replikation nicht auf das Enzym NA angewiesen. Trotzdem wurde Oseltamivir in einer Studie bei Hunden mit Parvovirose eingesetzt (SAVIGNY & MACINTIRE, 2010). Der Hintergrund zum Einsatz von Oseltamivir bei Hunden mit CPV-Infektion ist die Tatsache, dass Oseltamivir bei Menschen mit Influenza die Häufigkeit respiratorischer bakterieller Sekundärinfektionen reduzierte (KAISER et al., 2003; MCCULLERS, 2004). Es wird daher angenommen, dass es durch den Einsatz von Oseltamivir zu einer geringeren Durchlässigkeit für Bakterien in der Muzinschicht des respiratorischen Epithels kommt. Ähnliches wird auch für die Durchlässigkeit für Bakterien der Darmepithelien vermutet. Oseltamivir könnte damit die bakterielle Translokation reduzieren, und dies könnte zu einem geringeren Risiko von Endotoxämien, Sepsis und dem systemisch inflammatorischen Response-Syndrom führen. In der placebokontrollierten Studie erhielten 19 Hunde mit CPV-Infektion in der Verumgruppe Oseltamivir in einer Dosis von 2 mg/kg verdünnt p. o. alle zwölf Stunden. Tiere in der Kontrollgruppe (n = 16) zeigten einen signifikanten Gewichtsverlust und einen signifikanten Abfall der Gesamtleukozyten. Dies trat in der Verumgruppe nicht auf. Es gab allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich klinischer Symptomatik und Mortalität. Gastrointestinale Nebenwirkungen, die auf die orale Gabe von Oseltamivir zurückzuführen waren, wurden nicht beobachtet. Ein positiver Effekt hinsichtlich des therapeutischen Nutzens von Oseltamivir bei Hunden mit Parvovirose konnte mit dieser Studie jedoch nicht gezeigt werden (SAVIGNY & MACINTIRE, 2010).

III. PUBLIKATION

Efficacy of feline anti-parvovirus antibodies in the treatment of canine parvovirus infection

M. Gerlach¹

A. L. Proksch¹, Dr. med. vet.

S. Unterer¹, Priv.-Doz., Dr. med. vet., Dipl. ECVIM-CA

K. Hartmann¹, Professor, Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA

S. Speck², Dr. med. vet.

U. Truyen², Professor, Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVPH

¹ Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

² Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany

Journal of Small Animal Practice; accepted January 20th, 2017

PAPER

Efficacy of feline anti-parvovirus antibodies in the treatment of canine parvovirus infection

M. GERLACH^{*1}, A. L. PROKSCH^{*}, S. UNTERER^{*}, S. SPECK[†], U. TRUYEN[†] AND K. HARTMANN^{*}

^{*}Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, 80539 Munich, Germany

[†]Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, 04103 Leipzig, Germany

¹Corresponding author email: m.gerlach@medizinische-kleintierklinik.de

OBJECTIVE: This prospective, randomised, placebo-controlled, double-blinded study aimed to evaluate efficacy of commercially available feline anti-parvovirus antibodies in dogs with canine parvovirus infection.

METHODS: First, cross-protection of feline panleukopenia virus antibodies against canine parvovirus was evaluated *in vitro*. In the subsequent prospective clinical trial, 31 dogs with clinical signs of canine parvovirus infection and a positive faecal canine parvovirus polymerase chain reaction were randomly assigned to a group receiving feline panleukopenia virus antibodies (n=15) or placebo (n=16). All dogs received additional routine treatment. Clinical signs, blood parameters, time to clinical recovery and mortality were compared between the groups. Serum antibody titres and quantitative faecal polymerase chain reaction were compared on days 0, 3, 7, and 14.

RESULTS: *In vitro*, canine parvovirus was fully neutralised by feline panleukopenia virus antibodies. There were no detected significant differences in clinical signs, time to clinical recovery, blood parameters, mortality, faecal virus load, or viral shedding between groups. Dogs in the placebo group showed a significant increase of serum antibody titres and a significant decrease of faecal virus load between day 14 and day 0, which was not detectable in dogs treated with feline panleukopenia virus antibodies.

CLINICAL SIGNIFICANCE: No significant beneficial effect of passively transferred feline anti-parvovirus antibodies in the used dosage regimen on the treatment of canine parvovirus infection was demonstrated.

Journal of Small Animal Practice (2017) **58**, 408–415
DOI: 10.1111/jsap.12676

Accepted: 20 January 2017; Published online: 31 March 2017

INTRODUCTION

Canine parvovirus (CPV) emerged from feline panleukopenia virus (FPV) and was first described in the late 1970s (Truyen 1994, Parrish 1999, Truyen & Parrish 2013). CPV is widespread, causing varied severity of disease from mild to fatal. Puppies and dogs lacking protective antibodies are especially severely affected (Pollock & Carmichael 1982, Mayr 1989, Schultz *et al.* 2010, Decaro & Buonavoglia 2012).

There is some evidence that antiviral treatment benefits dogs with CPV infection. Intravenous administration of feline

interferon- ω to dogs with CPV infection reduced mortality and severity of clinical signs under experimental and field conditions (Ishiwata *et al.* 1998, Minagawa *et al.* 1999, Martin *et al.* 2002, de Mari *et al.* 2003). Similarly, oral administration of the neuraminidase inhibitor oseltamivir prevented weight loss and decrease in white blood cell (WBC) counts, but did not influence severity of clinical signs, duration of hospitalisation, or mortality (Savigny & Macintire 2010).

Specific passively transferred antibodies have also been previously evaluated. Dogs with experimental CPV infection showed no or mild clinical signs when receiving immune plasma or IgY

from chicken egg yolk early in the disease (Ishibashi *et al.* 1983, Meunier *et al.* 1985a, Van Nguyen *et al.* 2006). In one clinical trial, treatment of 21 naturally CPV-infected dogs with lyophilised canine IgG antibodies led to reduced severity of clinical signs, shorter hospitalisation, and lower treatment costs compared to symptomatic therapy only (Macintire *et al.* 1999). On the other hand, in a placebo-controlled, double-blinded study including 14 dogs, no beneficial effect after a single dose of intravenous immune plasma soon after the onset of CPV enteritis could be demonstrated (Bragg *et al.* 2012). However, limitations of those studies are either that only experimentally infected dogs or only a small number of patients were included, or that the studies were not blinded. Overall, these outcomes are inconclusive.

The hyperimmune serum Stagloban SHP (IDT Biologika) contained immunoglobulins to CPV, canine distemper virus (CDV), and canine adenovirus (CAV-1) and had been used for decades in Germany, but its production was discontinued in 2010. Feliserin Plus (IDT Biologika) is a hyperimmune serum containing antibodies to FPV, feline calicivirus (FCV), and feline herpesvirus (FHV-1). Since 2012, Feliserin Plus has been licensed in Germany for prophylaxis and treatment of dogs with CPV infection. Currently, Feliserin Plus is available only in Germany. In Switzerland, the hyperimmune serum is available as Feliserin PRC (Provet), but it is only licenced for prophylaxis and treatment of FPV, FCV and FHV-1 infection and not of CPV infection. However, it is possible to import Feliserin Plus to other European countries with a special permit.

Because CPV emerged from FPV, they are closely related in antigenic structure (Martyn *et al.* 1990, Truyen 1994) and so cross-protection of antibodies is expected. This has already been demonstrated in early studies, when dogs were protected against CPV infection after active immunisation with a FPV vaccine (Appel *et al.* 1979, Chapek *et al.* 1980, Pollock & Carmichael 1982). It was also shown that FPV vaccines protected cats against CPV infection (Chalmers *et al.* 1999, Nakamura *et al.* 2001, Gamoh *et al.* 2005).

So far, no clinical trials evaluating the efficacy of Feliserin Plus in dogs with CPV infection have been performed. Therefore, the aims of the present study were: (1) to determine whether CPV is neutralised by FPV antibodies *in vitro* and (2) to evaluate whether administration of FPV antibodies (Feliserin Plus) has a beneficial effect on clinical signs, time to clinical recovery, and CPV shedding in dogs with CPV infection when compared with a placebo group.

MATERIALS AND METHODS

In vitro neutralisation assay of hyperimmune sera

Prior to the clinical trial, an *in vitro* neutralisation assay was performed to detect whether Feliserin Plus-derived FPV antibodies show cross-protection with CPV strains and to determine the neutralising antibody titres of Feliserin to FPV, CPV-2, CPV-2a, CPV-2b and CPV-2c. As a positive control, Stagloban SHP (which was the former product of IDT Biologika, containing CPV, CDV and CAV-1 antibodies) was included in the *in vitro* neutralisation

assay. Serum samples were heat-treated at 56°C for 30 minutes and stored at -20°C until further investigation. Pre-diluted (1:5) serum samples were serially diluted at steps of 1:2. Diluted samples were mixed with an equal volume of virus (200 median tissue culture infective dose or 50% tissue culture infective dose per 0.1 mL) and were incubated at 37°C for two hours. Subsequently, Crandell Rees feline kidney cells seeded in 96-well microtitre plates were inoculated with 100 µL of the serum/virus mixtures. Plates were incubated for five to six days at 37°C and a carbon dioxide concentration level of 5% (vol%). Thereafter, cells were fixed using acetone (>99.9%)/methanol (>99.9%) 1:1 (vol/vol) at -20°C for 20 minutes. For virus staining, an anti-CPV monoclonal antibody (Parrish *et al.* 1982) and a fluorescein isothiocyanate-conjugated goat anti-mouse IgG (H+L) conjugate (Dianova) were applied.

Clinical trial

The treatment study was conducted as a prospective, randomised, placebo-controlled, double-blinded clinical trial. Originally, 32 dogs were included and randomly assigned to the Feliserin Plus or the placebo group (16 dogs per group). It was assumed that dogs were presented with a daily clinical score of 13 points (SD of three points), and that dogs of the placebo and the Feliserin group improved by three and five points, respectively, by day 3 of treatment. To recognise such a difference, it was calculated that at least 12 dogs per group would be needed to achieve a power of 80% with a significance level of 0.05. Further parameters, such as mortality rate, number of dogs that received additional medication, and percentage of CPV-shedding dogs, were analysed as secondary parameters to evaluate whether there would be an impact on the outcome of the clinical trial.

Before the study, paper slips were marked as either treatment or placebo group. After folding, paper slips were inserted into envelopes, and envelopes were mixed blindly, numbered and kept in the hospital pharmacy. When a dog met the inclusion criteria, medication was prepared in the hospital pharmacy according to the next numbered envelope by an assistant not involved in the study, and the syringe was covered with a dark adhesive tape, concealing the colour of the drug. Medication was injected by a veterinarian also not involved in the study to ensure that the responsible clinician evaluating the patient was unaware to which group the dog was assigned to.

Retrospectively, one dog that had received Feliserin Plus was excluded because of a concurrent CDV infection. Thus, 15 dogs receiving Feliserin Plus and 16 dogs receiving placebo were included in the final analysis.

Dogs were hospitalised until they reached clinical recovery, but for at least eight days, and were rechecked on day 14. Decoding and data analysis were performed after the study was completed. The study fulfilled the German guidelines for prospective studies with informed owner consent and was approved by the Government of Upper Bavaria, reference number 55.2-1-54-2532-22-12.

Animals

Inclusion criteria for the clinical study were clinical signs consistent with CPV infection (such as diarrhoea, vomiting, anorexia,

fever, dehydration) and a positive result in a faecal CPV polymerase chain reaction (PCR). Animals were excluded if they had received passive immunisation, interferon or a paramunity inducer up to three months before the study. Prior symptomatic therapy did not lead to exclusion. Signalment of all dogs is shown in Table S1, Supporting Information. Dogs that had received vaccination within the last three weeks before presentation were excluded because of potential interference of vaccination with PCR testing.

Seven of the included dogs had been vaccinated against CPV at least once in their life. Fourteen dogs had never been vaccinated and eleven dogs had an unknown history of vaccination beyond the last three weeks.

Treatment

Dogs in the Feliserin group (n=15) received a dose of 0.2 mL/kg Feliserin Plus and dogs in the placebo group (n=16) received a dose of 0.2 mL/kg physiological saline subcutaneously once daily in the first three consecutive days after admission. Antibodies in the Feliserin Plus are derived from non-species-homologue stabilised horse serum.

Additional standardised symptomatic treatment of all dogs is listed in Table S2. Dogs with severe illness received additional medication as necessary (Table 1).

Clinical parameters and daily clinical score

Clinical examinations were performed daily during hospitalisation and at recheck on day 14. Seven clinical parameters were evaluated every day using a previously published scoring system (Table S3; Proksch *et al.* 2014, 2015). Faecal consistency was evaluated by the Purina Faecal Scoring System (See: <http://www.foothillpethospital.com/images/faecal-scoring.jpg>) for dogs with a score from 1 to 7. Summing up all single scoring points, an overall daily clinical score for each dog was calculated.

Time to clinical recovery

Time to clinical recovery was defined as the day when dogs showed normal general condition, normal appetite, no vomiting,

normal hydration status, a body temperature in the physiological range (37.8 to 39.2°C) and a faecal consistency of up to 5 of the Purina Faecal Scoring System for dogs.

Blood parameters

Complete blood cell counts and albumin, total protein and globulin concentrations were measured daily during hospitalisation and on day 14.

Detection of antibodies

On days 0, 3, 7 and 14, antibody titres were determined by a serum neutralisation assay using the method described above for the *in vitro* neutralisation assay. Titres less than 1:10 were considered negative. Additionally, the antibody titre of Feliserin Plus (badge number 181112) was determined.

Real-time PCR

On days 0, 3, 7 and 14, faecal samples were collected to measure CPV shedding. Faecal DNA was isolated using the QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen) according to the manufacturer's recommendations. To determine CPV DNA copies/g faeces, a quantitative real-time PCR was carried out as described previously (Streck *et al.* 2013).

Statistical analysis

For statistical analysis, the software program GraphPad Prism 6.0 was used. Fisher's exact test was used for comparison of mortality, additional medication and CPV shedding between groups. Clinical scores, blood parameters, serum antibody titres and faecal quantitative PCR results between groups and within a group at the different time points were compared with a Kruskal-Wallis test (one-way analysis of variance for normal distributed data) with subsequent Dunn's multiple comparison test when indicated. Differences in time to clinical recovery were evaluated by establishing survival curves using log-rank (Mantel-Cox) test. $P < 0.05$ was considered significant. If repeated analysis of the same data was performed, a Bonferroni correction was conducted.

In addition to the per protocol analysis, an intention-to-treat (ITT) analysis was conducted, in which all animals originally participating in the study (Feliserin n=16, placebo n=16) were used for statistical analysis and the last value before exclusion or death was carried forward until day 14.

RESULTS

In vitro neutralisation assay

FPV antibodies in Feliserin Plus neutralised FPV and all CPV strains *in vitro* with neutralising titres from 1:3 200 to 1:51, 200. The results were similar to those of the positive control Stagloban SHP, that neutralised FPV and CPV strains with titres from 1:800 to 1:6 400 (Table 2).

Additional medication

Twenty dogs required additional medication according to their clinical signs (Table 1) besides the standard symptomatic

Table 1. Additional treatment protocol applied to dogs with severe disease

Drug	Indication
Metronidazole*	Fever >40°C, WBC <0.2 × 10 ⁹ /L or suspected sepsis
Hetastarch†	BP <100 mmHg, albumin <20 g/L
Metoclopramide‡	Vomiting >5/day
Ondansetron§	Vomiting >5/day (despite Metoclopramide)
Whole blood transfusion	HCT <20%
Fresh frozen plasma	Suspected DIC
Aminoplasmal¶- , Fresh frozen plasma, human albumin**, total parenteral nutrition	Hypoalbuminemia

BP blood pressure, DIC disseminated intravascular coagulopathy, HCT haematocrit, WBC white blood cells.

*Metronidazol, Fresenius

†Tetraspan 6% Infusionslösung, B. Braun Melsungen

‡Emeprid 5 mg/mL, Ceva

§Ondansetron Injektionslösung, Ratiopharm

¶Aminoplasmal 10%, B. Braun Melsungen

||Aminoplasmal 15%, B. Braun Melsungen

**Human-Albumin 20% Infusionslösung, CSL Behring

Table 2. Neutralising antibody titres of five vials of Feliserin Plus and two vials of Stagloban SHP to FPV, CPV-2, CPV-2a, CPV-2b and CPV-2c, determined by a neutralisation assay in an in vitro cell culture

	Badge number	Neutralising antibody titres				
		FPV	CPV-2	CPV-2a	CPV-2b	CPV-2c
Feliserin	0150111	1:25,600	1:12,800	1:25,600	1:12,800	1:6400
	0090208	1:25,600	1:25,600	1:12,800	1:12,800	1:3200
	0110309	1:51,200	1:51,200	1:6400	1:12,800	1:6400
	0120709	1:51,200	1:25,600	1:6400	1:12,800	1:3200
	0140810	1:25,600	1:25,600	1:6400	1:12,800	1:6400
Stagloban	0140709	1:3200	1:6400	1:6400	1:1600	1:800
	0120808	1:3200	1:6400	1:6400	1:3200	1:1600

CPV canine parvovirus, FPV feline panleukopenia virus

treatment protocol (Feliserin group n=9; placebo group n=11) (Table S2). There was not a significant difference in the number of dogs receiving additional treatment between groups (P=0.716).

Mortality

Due to severe illness, five dogs in the Feliserin group, and three dogs in the placebo group were euthanased during the study period. There was not a significant difference in death rate between groups (P=0.433).

Clinical and laboratory parameters

There were no significant differences between the two groups neither in total clinical scores (Fig 1), individual clinical parameters on any day, nor in laboratory parameters. Both groups showed an improvement in most parameters over the observation period (Tables S4 and S5).

Time to clinical recovery

Time to clinical recovery was achieved by day 5.5 (median) in the Feliserin group, and by day 6.0 (median) in the placebo group. Dogs that did not survive were excluded from the analysis (n=8). There was no significant difference between groups in the time to clinical recovery (P=0.456).

Serum antibodies

On days 0, 3, 7 and 14, there was no significant difference in antibody titres between the Feliserin group and the placebo group. Only dogs in the placebo group had a significant increase in antibody titres from day 0 to 14 (P<0.001), which was not detectable in the Feliserin group (Table 3, Fig 2, Table S6). The investigated vial of Feliserin Plus contained an FPV antibody titre of 1:10,240.

Faecal CPV shedding

There was no significant difference in the faecal CPV load between the Feliserin and placebo group on day 0, 3, 7 and 14. Within the placebo group, there was a significant decrease in the number of CPV DNA copies on day 14 compared to day 0 (P<0.001) (Table S7, Fig 3). There were no significant differences between the Feliserin and the placebo group on days 0, 3, 7 and 14 in the percentage of CPV-shedding dogs (Table S8).

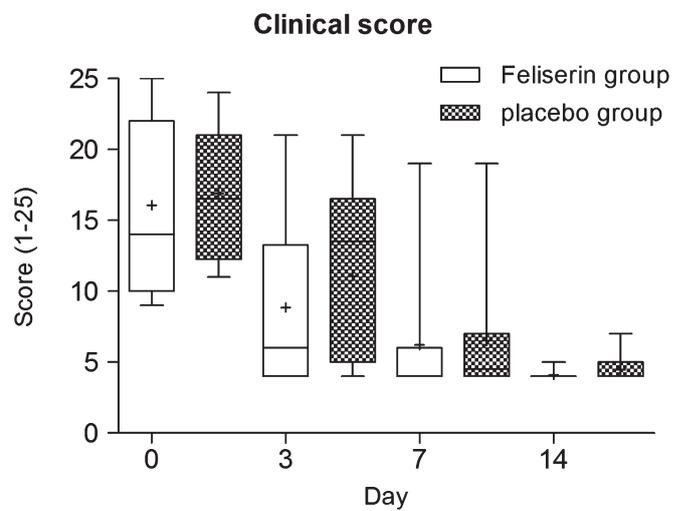


FIG 1. Clinical scores of the Feliserin and the placebo group. Range of clinical scores (score 1 to 25), median (line) and mean (+) clinical scores on day 0, 3, 7 and 14 are shown. Dogs of both groups improved significantly by days 7 and 14, but there was no significant difference between groups on any investigated day

Table 3. Serum CPV antibody titres in dogs receiving Feliserin Plus and dogs receiving placebo. Median and P values of comparing groups on days 0, 3, 7 and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7 and 14 versus day 0) are shown

Day	Feliserin (median)	Placebo (median)	P	P	P
			Feliserin versus placebo	Feliserin day 0 versus days 3, 7 and 14	Placebo day 0 versus days 3, 7 and 14
0	1:320	1:40	NS		
3	1:1280	1:640	NS	NS	NS
7	1:1280	1:1280	NS	NS	NS
14	1:1280	1:1280	NS	NS	<0.001

NS not significant

Side effects

No side effects, such as allergic reactions or swelling of the injection site, were observed after administration of Feliserin Plus during the study period.

ITT analysis

ITT analysis revealed similar results as per protocol analysis (data not shown).

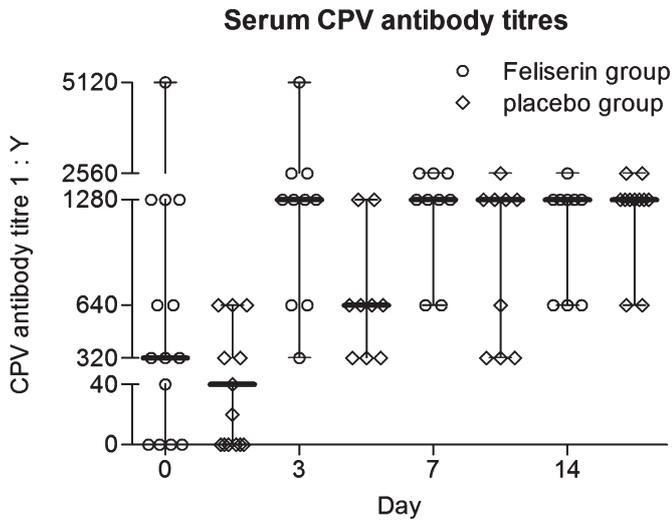


FIG 2. Serum CPV antibody titres of the Feliserin and the placebo group. Median CPV antibody titres (black bold lines) and range of CPV antibody titres on days 0, 3, 7 and 14 are shown. Between groups, there were no significant differences at any day of investigation. There was a significant increase in CPV antibody titres from days 0 to 14 ($P < 0.001$) in the placebo group, which did not occur in the Feliserin group

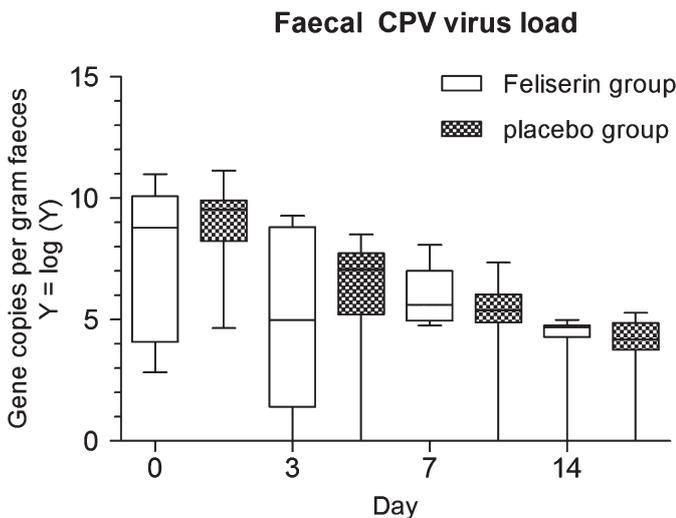


FIG 3. Faecal CPV load of the Feliserin and the placebo group. Median virus load (gen copies per gram faeces) and range of virus load on days 0, 3, 7 and 14 are shown. There were no significant differences between the groups in the virus load at any day of investigation. In the placebo group, there was a significant decrease of faecal CPV load from days 0 to 14 ($P < 0.001$), which did not occur in the Feliserin group

DISCUSSION

The present study failed to detect efficacy of specific FPV antibodies as an additional treatment of dogs with CPV infection when compared to a placebo group that had received symptomatic treatment only.

Antibody administration for prophylaxis and treatment of infectious diseases has a long history in human and veterinary medicine (Ikemori *et al.* 1997, Keller & Stiehm 2000, Sawyer 2000, Levy *et al.* 2001). A few placebo-controlled studies showed

positive effects when treating experimentally CPV-infected dogs with specific antibodies (Ishibashi *et al.* 1983, Meunier *et al.* 1985a, Van Nguyen *et al.* 2006), but the few studies performed under field conditions were inconclusive.

Feliserin Plus has been commercially available in Germany since 1992 and has been used for feline virus infections for decades (Ackermann & Stegmann 1975, Erhardt 1977, Friedl *et al.* 2014). The rationale behind using FPV antibodies in the treatment of CPV infection is that they have nearly identical antigenic structure (Parrish *et al.* 1982, Martyn *et al.* 1990, Parrish 1999). The *in vitro* neutralisation assay performed in the present study showed that FPV antibodies in the Feliserin Plus neutralised CPV strains as well as CPV antibodies in the Stagloban SHP that was used as positive control.

Cross-protection between CPV and FPV was reported in some studies, in which dogs were protected against CPV infection after active immunisation with FPV vaccines (Appel *et al.* 1979, Chapek *et al.* 1980, Pollock & Carmichael 1982). Cross-reactive antibody response of different antigenic variants of CPV-2 (a, b, c), that only differ in few amino acids, has already been shown (Spibey *et al.* 2008, Siedek *et al.* 2011, Wilson *et al.* 2014). However, a marked difference in virus neutralisation antibody titers between CPV-2 and its antigenic variants has been demonstrated (Pratelli *et al.* 2001, Cavalli *et al.* 2008). This finding questions the use of vaccines containing single CPV-2 strains or the passive protection of puppies when maternal antibodies are waning. Animals could be protected against the homologue CPV-2 strain, but the other antigenic variants could possibly still lead to CPV infection when antibody titres are at a low level (Truyen 2006). However, in the *in vitro* neutralisation assay conducted before the clinical trial, the neutralising antibody titres were all in a high range of at least 1:800 to 1:51,200.

Despite the excellent *in vitro* neutralisation, no beneficial clinical effect could be demonstrated *in vivo* in the prospective trial. There are a few potential reasons why the passively transferred FPV antibodies in the present study were not effective.

It is possible that dose and frequency of Feliserin Plus administration was too low or too short to show a clinical effect. There is no general dose recommendation for the amount of immune sera that should be administered for passive immunisation. In general, the range of immune sera applied to treat infectious diseases differed from 0.2 to 150 mL/kg (Compagnucci *et al.* 1987, Levy *et al.* 2001, Greene & Levy 2012). Studies on passive immunisation for CPV infection reported application of canine immune serum intravenously (titre 1:10,240) 24 hours after virus inoculation (Meunier *et al.* 1985a), 1 mL/dog immune serum intravenously (titre 1:8192) once or twice during hospitalisation (Ishibashi *et al.* 1983), a single dose of 12 mL/dog immune plasma intravenously (titre 1:7000) (Bragg *et al.* 2012), and oral IgY powder (titre 1:50,000) with doses of 0.5 g/dog and of 2 g/dog for seven days (Van Nguyen *et al.* 2006).

The titre of FPV antibodies in the Feliserin Plus of the present study was 1:10,240 per mL. This is comparable to the titres of the applied immune sera in the previous studies mentioned above. Since Feliserin Plus has been licensed for dogs in 2012 (after the beginning of the present study), the new dosage

recommendation of the manufacturer (IDT Biologika) for the therapeutic use in dogs with CPV is now 0.4 mL/kg daily until clinical improvement. The lower dose of 0.2 mL/kg and the short application over three days was chosen, because acute or delayed development of adverse effects to the heterologous horse serum had to be considered (Casadevall & Scharff 1995, Stiehm 1996, Hartmann & Hein 2008). No adverse effects were observed during the study period, so further investigations with increased doses and a longer treatment span seem possible. Efficacy and adverse effects of a changed treatment regimen should be evaluated in future studies.

The timing of administration of the passively transferred antibodies might have been too late in the course of infection to show a clinical effect. The end of viraemia coincides with the onset of detectable antibody titres (Brunner & Swango 1985, Meunier *et al.* 1985b, Decaro *et al.* 2005a). Circulating antibodies seem to be important in the prevention of intestinal epithelial infection (Meunier *et al.* 1985a). Several studies underline the potential benefit of early antibody administration in the course of CPV infection (Ishibashi *et al.* 1983, Meunier *et al.* 1985a, Van Nguyen *et al.* 2006). However, dogs are usually presented to the veterinarian after the onset of clinical signs and so the present study mimics the realistic situation in practice.

Time to clinical recovery in this study was similar to other reports with a hospitalisation of five to nine days (Rewerts *et al.* 1998, Mantione & Otto 2005, Iris *et al.* 2010). Hence, time to clinical recovery and improvement of clinical and laboratory parameters in all groups were obviously mostly influenced by supportive treatment, intensive care, and the natural course of CPV infection and not by the application of Feliserin Plus.

Serum antibody titres of both groups increased during the study, but only in the placebo group, the increase was significant when comparing day 14 with day 0. One reason for the missing increase in the Feliserin group could be the fact that the applied antibodies were quickly neutralised by circulating virus and so were not detected in the neutralisation assay. Possibly, higher doses of antibodies could have led to a pronounced increase of antibody levels in this group. Many of the dogs already had detectable antibodies at admission. It is possible that passively immunised dogs had a reduced production of intrinsic antibodies due to the external antibody transfer. In earlier studies, dogs started developing antibodies around day 5 after challenge, which is approximately the time when clinical signs occur (Ishibashi *et al.* 1983, Macartney *et al.* 1988, Decaro *et al.* 2005a, 2005b). Again, this indicates that treatment with antibodies at this point might be too late.

Faecal CPV load decreased in both groups during the study. However, a significant decrease was only detectable in the placebo group when comparing day 14 with day 0. It is an interesting aspect that serum antibodies significantly increased and faecal CPV load significantly decreased only in the placebo group. However, this correlation was not yet confirmed in other studies (Decaro *et al.* 2005a, 2005b) and further studies are needed to assess whether the decrease in faecal CPV load can be explained by an increase in intrinsic neutralising antibodies.

Percentage of CPV-shedding dogs decreased in both groups over the study period without a significant difference, but viral DNA was still detectable in most faecal samples on day 14. It is reported that faecal shedding of viral DNA can occur for two weeks or longer, although shedding declines distinctly around seven days after infection (Brunner & Swango 1985, Prittie 2004, Decaro *et al.* 2005b). An explanation for the extended detection of CPV shedding in this study is the use of a quantitative real-time PCR that is reported to have higher sensitivity than conventional PCR (Streck *et al.* 2013). In fact, more recent studies using real-time PCR showed CPV shedding in the faeces of infected dogs up to 45 days (Decaro *et al.* 2005a, 2005b).

One limitation of the study is the fact that some dogs needed additional therapy beside the standard treatment protocol due to severe illness. For ethical reasons, a universally standardised treatment protocol could not be implemented.

In conclusion, no beneficial significant effect of passively transferred FPV antibodies in the treatment of CPV infection could be demonstrated. Only dogs in the placebo group showed a significant increase of antibody titres and a significant decrease of faecal CPV load. As Feliserin Plus-treated dogs received only half of the recent manufacturers' recommended dose and no adverse effects could be detected, further investigations with higher doses and prolonged application should be performed.

Acknowledgements

The authors thank Professor Ralf S. Mueller, Clinic of Small Animal Medicine, LMU Munich, for his support in the statistical analysis of the study; IDT Biologika, Dessau, for providing Feliserin Plus and the financial support of the study; N. Leinecker, Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, for her work in the laboratory.

Conflict of interest

IDT Biologika (Dessau, Germany) provided financial support of the study and was involved in creating the study design, but did not play any role elsewhere in the collection, analysis, and interpretation of data, nor in the content of the manuscript or submission for publication. None of the authors has any financial or personal relationship that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

References

- Ackermann, O. & Stegmann, H. (1975) Felidovac L und Feliserin, zwei neue Präparate für die Katzenpraxis. *Die Blauen Hefte für den Tierarzt* **54**, 135-146
- Appel, M. J., Scott, F. W. & Carmichael, L. E. (1979) Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Veterinary Record* **105**, 156-159
- Bragg, R. F., Duffy, A. L., DeCecco, F. A., *et al.* (2012) Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **240**, 700-704
- Brunner, C. & Swango, L. (1985) Canine parvovirus infection: effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* **7**, 979-989
- Casadevall, A. & Scharff, M. D. (1995) Return to the past: the case for antibody-based therapies in infectious diseases. *Clinical Infectious Diseases* **21**, 150-161
- Cavalli, A., Martella, V., Desario, C., *et al.* (2008) Evaluation of the antigenic relationships among canine parvovirus type 2 variants. *Clinical and Vaccine Immunology* **15**, 534-539
- Chalmers, W. S., Truyen, U., Greenwood, N. M., *et al.* (1999) Efficacy of feline panleucopenia vaccine to prevent infection with an isolate of CPV2b obtained from a cat. *Veterinary Microbiology* **69**, 41-45

- Chapek, M. L., McCloughry, L. E. & Wilkins, L. M. (1980) Efficiency and safety of an inactivated feline parvovirus vaccine against canine parvovirus infection. *Modern Veterinary Practice* **61**, 261-263
- Compagnucci, M., Tempesta, M. & Marsilio, F. (1987) Gamma-globulin prophylaxis in canine parvovirus infection [in Italian]. *Obiettivi e Documenti Veterinari* **8**, 35-39
- Decaro, N. & Buonavoglia, C. (2012) Canine parvovirus – a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* **155**, 1-12
- Decaro, N., Campolo, M., Desario, C., et al. (2005a) Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals* **33**, 261-267
- Decaro, N., Desario, C., Campolo, M., et al. (2005b) Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **17**, 133-138
- Erhardt, W. (1977) Über die Anwendung von Passiv- und Aktiv-Impfstoffen gegen die Panleukopenie der Katzen. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **90**, 337-340
- Friedl, Y., Schulz, B., Knebl, A., et al. (2014) Efficacy of passively transferred antibodies in cats with acute viral upper respiratory tract infection. *Veterinary Journal* **201**, 316-321
- Gamoh, K., Senda, M., Inoue, Y., et al. (2005) Efficacy of an inactivated feline panleucopenia virus vaccine against a canine parvovirus isolated from a domestic cat. *Veterinary Record* **157**, 285-287
- Greene, C. E. & Levy, J. K. (2012) Immunoprophylaxis. In: Infectious diseases of the dog and cat. 4th edn. Ed C. E. Greene. St. Louis, MO, USA, Elsevier Saunders. pp 1163-1205
- Hartmann, K. & Hein, J. (2008) Feline Panleukopenie. In: Infektionskrankheiten der Katze. Eds K. Hartmann and J. Hein. Schlütersche, Augsburg, Germany. pp 87-98
- Ikemori, Y., Ohta, M., Umeda, K., et al. (1997) Passive protection of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. *Veterinary Microbiology* **58**, 105-111
- Iris, K., Leontides, L. S., Mylonakis, M. E., et al. (2010) Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in Veterinary Science* **89**, 174-178
- Ishibashi, K., Maede, Y., Ohsugi, T., et al. (1983) Serotherapy for dogs infected with canine parvovirus. *The Japanese Journal of Veterinary Science* **45**, 59-66
- Ishiwata, K., Minagawa, T. & Kajimoto, T. (1998) Clinical effects of the recombinant feline interferon-omega on experimental parvovirus infection in beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* **60**, 911-917
- Keller, M. A. & Stiehm, E. R. (2000) Passive immunity in prevention and treatment of infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews* **13**, 602-614
- Levy, J. K., Crawford, P. C., Collante, W. R., et al. (2001) Use of adult cat serum to correct failure of passive transfer in kittens. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **219**, 1401-1405
- Macartney, L., Thompson, H., McCandlish, I. A., et al. (1988) Canine parvovirus: interaction between passive immunity and virulent challenge. *Veterinary Record* **122**, 573-576
- Macintire, D., Smith-Carr, S., Jones, R., et al. (1999) Treatment of dogs naturally infected with canine parvovirus with lyophilized canine IgG. Proceedings 17th Annual Conference of the American College of Veterinary Internal Medicine. Chicago, USA, June 10 to 13, 1999. p 721
- Mantione, N. L. & Otto, C. M. (2005) Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated at a veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **227**, 1787-1793
- de Mari, K., Maynard, L., Eun, H. M., et al. (2003) Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Veterinary Record* **152**, 105-108
- Martin, V., Najbar, W., Gueguen, S., et al. (2002) Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Veterinary Microbiology* **89**, 115-127
- Martyn, J. C., Davidson, B. E. & Studdert, M. J. (1990) Nucleotide sequence of feline panleukopenia virus: comparison with canine parvovirus identifies host-specific differences. *Journal of General Virology* **71**(Pt 11), 2747-2753
- Mayr, A. (1989) Parvovirus infections in dogs and cats: problems of immunization. *Tierärztliche Praxis* **17**, 399-402
- Meunier, P. C., Cooper, B. J., Appel, M. J., et al. (1985a) Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. *Veterinary Pathology* **22**, 617-624
- Meunier, P. C., Cooper, B. J., Appel, M. J., et al. (1985b) Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. *Veterinary Pathology* **22**, 60-71
- Minagawa, T., Ishiwata, K. & Kajimoto, T. (1999) Feline interferon-omega treatment on canine parvovirus infection. *Veterinary Microbiology* **69**, 51-53
- Nakamura, K., Ikeda, Y., Miyazawa, T., et al. (2001) Characterisation of cross-reactivity of virus neutralising antibodies by feline panleukopenia virus and canine parvovirus. *Research in Veterinary Science* **71**, 219-222
- Parrish, C. R. (1999) Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology* **69**, 29-40
- Parrish, C. R., Carmichael, L. E. & Antczak, D. F. (1982) Antigenic relationships between canine parvovirus type 2, feline panleukopenia virus and mink enteritis virus using conventional antisera and monoclonal antibodies. *Archives of Virology* **72**, 267-278
- Pollock, R. V. & Carmichael, L. E. (1982) Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **180**, 37-42
- Pratelli, A., Cavalli, A., Martella, V., et al. (2001) Canine parvovirus (CPV) vaccination: comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* **8**, 612-615
- Prittie, J. (2004) Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **14**, 167-176
- Proksch, A. L., Unterer, S., Truyen, U., et al. (2014) Efficacy of the paramunity inducer PIND-ORF in the treatment of canine parvovirus infection. *Veterinary Journal* **202**, 340-347
- Proksch, A. L., Unterer, S., Speck, S., et al. (2015) Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *Veterinary Journal* **204**, 304-308
- Rewerts, J. M., McCaw, D. L., Cohn, L. A., et al. (1998) Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor for treatment of puppies with neutropenia secondary to canine parvovirus infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **213**, 991-992
- Savigny, M. R. & Macintire, D. K. (2010) Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **20**, 132-142
- Sawyer, L. A. (2000) Antibodies for the prevention and treatment of viral diseases. *Antiviral Research* **47**, 57-77
- Schultz, R. D., Thiel, B., Mukhtar, E., et al. (2010) Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology* **142**(Suppl 1), S102-S108
- Siedek, E. M., Schmidt, H., Sture, G. H., et al. (2011) Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **124**, 58-64
- Spibey, N., Greenwood, N. M., Sutton, D., et al. (2008) Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Veterinary Microbiology* **128**, 48-55
- Stiehm, E. R. (1996) Appropriate therapeutic use of immunoglobulin. *Transfusion Medicine Reviews* **10**, 203-221
- Streck, A. F., Ruster, D., Truyen, U., et al. (2013) An updated TaqMan real-time PCR for canine and feline parvoviruses. *Journal of Virological Methods* **193**, 6-8
- Truyen, U. (1994) Canine parvovirus: recent knowledge of the origin and development of a viral pathogen. *Tierärztliche Praxis* **22**, 579-584
- Truyen, U. (2006) Evolution of canine parvovirus—a need for new vaccines? *Veterinary Microbiology* **117**, 9-13
- Truyen, U. & Parrish, C. R. (2013) Feline panleukopenia virus: its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen. *Veterinary Microbiology* **165**, 29-32
- Van Nguyen, S., Umeda, K., Yokoyama, H., et al. (2006) Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. *Canadian Journal of Veterinary Research* **70**, 62-64
- Wilson, S., Illambas, J., Siedek, E., et al. (2014) Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralising antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. *Vaccine* **32**, 5420-5424

Supporting Information

The following supporting information is available for this article:

Table S1. Signalment of dogs in the Feliserin and placebo group

Table S2. Standardised symptomatic treatment

Table S3. Scoring system for clinical parameters according to severity of clinical signs (Proksch et al. 2014, 2015)

Table S4. Clinical parameters assessed in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Shown are mean values, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7 and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7 and 14 versus day 0)

Table S5. Laboratory parameters assessed in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Shown are mean values, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7 and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7 and 14 versus day 0). Blood parameters after administration of blood transfusions (Feliserin n=2, placebo n=1) and values of albumin, total protein and globulins after administration of fresh frozen plasma (Feliserin n=1, placebo n=2) or human albumin

(Feliserin n=2, placebo n=1) were excluded. Blood of dogs <1.5 kg bodyweight was drawn every second day

Table S6. CPV antibody titres in serum neutralisation assay of individual dogs. Specific antibody titres of dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo on days 0, 3, 7 and 14 are demonstrated. Sera of dogs receiving whole blood products or fresh frozen plasma were excluded

Table S7. Faecal CPV virus load (gene copies/g faeces) by quantitative real-time PCR in dogs receiving Feliserin Plus and

dogs receiving placebo. Mean values of faecal CPV copies, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7 and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7 and 14 *versus* day 0) are shown. Log-transformation of CPV DNA copy data was performed

Table S8. CPV shedding in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Percentage of CPV-shedding dogs, number of investigated faecal samples, and P values of comparing numbers of CPV-shedding dogs between groups on days 0, 3, 7 and 14 are shown

IV. DISKUSSION

Eine Infektion mit Parvoviren bei Hunden mit dem CPV Typ 1 (CPV-1) wurde zum ersten Mal im Jahre 1967 beschrieben, als Ursache für gastrointestinale Erkrankungen bei Hunden. Die Infektion mit CPV-1 verlief jedoch meist asymptomatisch (BINN et al., 1970; LAMM & REZABEK, 2008). Ende der 1970er Jahre gab es erste Berichte zu akuten Ausbrüchen von gastrointestinalen Erkrankungen bei jungen und adulten Hunden und von Myokarditis bei neugeborenen Welpen, die sich schnell weltweit ausbreiteten. Ursache hierfür war eine neue Spezies der *Parvoviridae*, die als CPV-2 bezeichnet wurde (APPEL et al., 1979; PARRISH et al., 1988; PARRISH, 1999). Aus dem ursprünglichen CPV-2 entwickelten sich bald darauf die heute vorkommenden Stämme CPV-2a, -b, und kürzlich CPV-2c, die weltweit verbreitet sind (SHACKELTON et al., 2005; NANDI et al., 2010; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012; SUTTON et al., 2013; CHIANG et al., 2016). Es ist inzwischen nachgewiesen, dass sich CPV-2 als eine Wirtsvariante aus FPV entwickelte. Wahrscheinlich fand die Speziesüberschneidung über Wildkarnivoren, beispielsweise Nerze und Füchse, statt, an die sich FPV adaptierte (TRUYEN, 2006; DECARO & BUONAVOGLIA, 2012). Die genetische und antigenetische Verwandtschaft zwischen CPV und FPV ist somit sehr eng. Ihr Genom unterscheidet sich nur in wenigen Aminosäuren (MARTYN et al., 1990; TRUYEN, 1994; PARRISH, 1999; SHACKELTON et al., 2005).

Ziel der Vorstudie dieser Arbeit war es herauszufinden, ob eine *in-vitro*-Kreuzreaktivität zwischen feline anti-Parvovirus-Antikörpern aus dem in Deutschland kommerziell erhältlichen Hyperimmunserum Feliserin[®] Plus und den verschiedenen CPV-Stämmen besteht. Hierfür wurde als Positivkontrolle die Reaktivität von caninen anti-Parvovirus-Antikörpern aus dem bis zum Jahr 2010 erhältlichen Hyperimmunserum Stagloban[®] SHP mit FPV und den verschiedenen CPV-Stämmen untersucht. Dazu wurden Neutralisationstests in einer *in-vitro*-Zellkultur durchgeführt. Diese Untersuchungen fanden im Labor des Instituts für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen in Leipzig statt. Die anti-FPV-Antikörper aus Feliserin[®] Plus waren in der Lage, CPV-2, CPV-2a, CPV-2b, und CPV-2c zu neutralisieren. Die neutralisierenden Antikörpertiter der CPV-Stämme waren in vergleichbarer Höhe wie die Titer der Neutralisation von FPV durch

Feliserin[®] Plus. Die niedrigsten, aber immer noch neutralisierenden Titerstufen wurden beim Stamm CPV-2c beobachtet. Ebenso waren die anti-CPV-Antikörper in Stagloban[®] SHP in der Lage, FPV und alle untersuchten CPV-2-Stämme zu neutralisieren. Die niedrigsten Antikörpertiter wurden wiederum in der Neutralisation von CPV-2c beobachtet. Gewisse Unterschiede in der Höhe neutralisierender Antikörpertiter nach Inokulation von homologen und heterologen CPV-2-Stämmen wurden schon früher beschrieben. Hunde, die mit den Stämmen CPV-2, CPV-2a und CPV-2b immunisiert wurden, zeigten im Serumneutralisationstest (SNT) mit CPV-2c niedrigere neutralisierende Titerstufen als im SNT mit den übrigen CPV-Stämmen (CAVALLI et al., 2008). Hunde, die mit CPV-2 infiziert worden waren, hatten deutlich höhere Titer von neutralisierenden Antikörpern gegen das homologe Virus als gegen heterologe CPV-2-Stämme (PRATELLI et al., 2001; CAVALLI et al., 2008). Diese Erkenntnis stellt den passiven Schutz von Welpen mit maternalen Antikörpern in Frage, da die Tiere möglicherweise vor einer Infektion mit homologem Virus noch geschützt sind, ein heterologer CPV-Stamm aber eine Infektion auslösen könnte, vor allem wenn die Antikörpertiter absinken. Zudem könnten Impfstoffe, die nur auf einem CPV-2-Stamm basieren, Infektionen mit heterologen CPV-Stämmen möglicherweise nicht sicher über längere Dauer verhindern (TRUYEN, 2006; CAVALLI et al., 2008).

Andererseits gibt es Studien, die zeigten, dass Impfungen mit einem einzelnen CPV-Stamm eine ausreichende Kreuzprotektivität gegen alle CPV-Stämme hervorrufen konnten (SPIBEY et al., 2008; SIEDEK et al., 2011; WILSON et al., 2014). Auch zur Kreuzprotektivität zwischen FPV und CPV gibt es einige Untersuchungen. Kurz nach der Entdeckung von CPV wurden in der Not FPV-Impfstoffe bei Hunden zur aktiven Immunisierung eingesetzt, die die Tiere vor einer Infektion schützen konnten (APPEL et al., 1979; CHAPEK et al., 1980; POLLOCK & CARMICHAEL, 1982). Ebenso waren Katzen gegen eine Infektion mit CPV-2b geschützt, wenn sie mit einer FPV-Vakzine immunisiert worden waren (CHALMERS et al., 1999; GAMOH et al., 2005). Weiterhin wurden Antikörper mit Kreuzprotektivität gegen CPV-2, -2a, -b, und -c bei Katzen nachgewiesen, die Impfungen gegen FPV erhalten hatten. Allerdings waren die Antikörpertiter gegen CPV-2a, -b, und -c niedriger als die Antikörpertiter gegen FPV. Katzen, die experimentell mit FPV infiziert wurden, hatten niedrigere

Antikörpertiter gegen CPV-2c im Vergleich zu den anderen CPV-Stämmen (NAKAMURA et al., 2001). Zusammenfassend erscheint eine Kreuzprotektivität zwischen FPV und CPV-Stämmen als sicher, auch wenn Neutralisationstests mit dem heterologen Virusstamm teilweise niedrigere Titer zeigten. Die im *in-vitro*-Versuch erreichten neutralisierenden Antikörpertiter durch Feliserin[®] Plus und Stagloban[®] SHP waren trotz teilweise unterschiedlicher Titer insgesamt aber alle hoch. Eine Kreuzprotektivität der Hyperimmunseren gegen heterologe Stämme ist daher auch in *in-vivo* zu vermuten.

Bis 2010 war das homologe Antiserum Stagloban[®] SHP kommerziell erhältlich; die Produktion wurde jedoch eingestellt. Weil sonst derzeit kein Hyperimmunserum mit anti-CPV-Antikörpern für prophylaktische oder therapeutische Zwecke mehr verfügbar ist, wurde Feliserin[®] PRC als Feliserin[®] Plus im Jahr 2012, neben seiner Indikation als Panleukopenie- und Katzenschnupfenserum für Katzen, auch für die Prophylaxe und Therapie von Hunden mit CPV-Infektion zugelassen. Da die Wirkung von anti-FPV-Antikörpern gegen CPV-Stämme im vorliegenden *in-vitro*-Versuch bestätigt werden konnte, war es das Ziel der prospektiven klinischen Studie, eine mögliche therapeutische Wirksamkeit von anti-FPV-Antikörpern bei Hunden mit Parvovirose zu untersuchen.

Die externe Zufuhr von Antikörpern, auch als passive Immunisierung bezeichnet, wird in der Human- und Veterinärmedizin zu prophylaktischen und therapeutischen Zwecken eingesetzt. Die passive Immunisierung wird vor allem genutzt, um eine kurzzeitige Immunität bei nicht immunkompetenten Patienten zu gewährleisten, die infektiösen Erregern ausgesetzt sind (STIEHM, 1996; GONIK, 2011). Spezifische Antikörper können den Eintritt von viralen Erregern in nicht infizierte Zellen verhindern, die zellvermittelte Zytotoxizität von natürlichen Killerzellen unterstützen und Viren neutralisieren (KELLER & STIEHM, 2000). Erste Beschreibungen zum Einsatz der damals als „Serumtherapie“ bezeichneten passiven Immunisierung gab es um das Jahr 1890 zur Behandlung der Diphtherie (CASADEVALL & SCHARFF, 1995; CHAN et al., 2009). Die ersten Antikörper in der Humanmedizin wurden aus Seren von Kaninchen und Pferden gewonnen (CASADEVALL & SCHARFF, 1994; GONIK, 2011). Durch die Entdeckung der antimikrobiellen Therapie rückte die passive Immunisierung nach dem Jahr 1940 wieder in den Hintergrund. Sie wird heute aber nach wie vor in der

Humanmedizin bei viralen Erkrankungen eingesetzt. Die Antikörper werden heutzutage meist aus homologen oder rekombinanten Seren gewonnen (CASADEVALL & SCHARFF, 1995; SAWYER, 2000).

Auch in der Veterinärmedizin wird der prophylaktische und therapeutische Einsatz der passiven Immunisierung beschrieben. In der Kleintiermedizin wurden Antikörper bisher vor allem zum Schutz vor Infektionen mit CDV, CPV, CHV-1, FPV und FHV-1 eingesetzt (GREENE & LEVY, 2013). So wurden beispielsweise neugeborene Katzen, die nicht ausreichend Kolostrum aufgenommen hatten, prophylaktisch behandelt. Den Katzenwelpen wurde Serum von adulten Katzen verabreicht. Nach der Applikation konnten vergleichbare IgG-Konzentrationen gemessen werden wie bei den Katzenwelpen, die ausreichend Kolostrum erhalten hatten (LEVY et al., 2001). Die Gabe von caninem Plasma oder hyperimmunisiertem Eipulver zeigte positive gesundheitliche Effekte wie eine verbesserte Darmflora und bessere Gewichtszunahmen bei Hundewelpen, die kurz nach der Geburt zu wenig Kolostrum erhalten hatten (MILA et al., 2016). Passiver Transfer von feline Immundefizienzvirus (FIV)-Antikörpern konnte Katzen vor einer experimentellen Infektion schützen (HOHDATSU et al., 1993; PU et al., 1995). Wenige Feldstudien wurden bisher zum therapeutischen Einsatz von anti-Parvovirus-Antikörpern bei Hunden mit Parvovirose publiziert. Diese Studien lieferten allerdings uneinheitliche Ergebnisse (MACINTIRE et al., 1999; BRAGG et al., 2012). Studien mit experimentellen CPV-Infektionen zeigten eine positivere Tendenz. Hunde, die kurz nach der Inokulation mit CPV passiv immunisiert wurden, hatten nur milde bis keine klinischen Symptome einer CPV-Infektion (ISHIBASHI et al., 1983; MEUNIER et al., 1985a; VAN NGUYEN et al., 2006). Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit untersuchte erstmalig die therapeutische Wirksamkeit des kommerziell erhältlichen Hyperimmunserums Feliserin[®] Plus bei Hunden mit Parvovirose in einer placebokontrollierten, klinischen Studie.

In Bezug auf die Verbesserung der klinischen Symptome konnte jedoch in der vorliegenden Studie an keinem Tag ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe von Hunden, die Feliserin[®] Plus erhalten hatte, und der Gruppe von Hunden, die Placebo erhalten hatte, festgestellt werden. Beide Gruppen zeigten im Studienverlauf eine Besserung der klinischen Symptomatik, die aber nicht auf die externe Antikörpergabe zurückgeführt werden konnte, sondern die sich vor allem durch die symptomatische Therapie, den normalen klinischen Verlauf und die

Dauer einer Parvovirose erklären lässt. Beide Gruppen zeigten eine statistisch signifikante Verbesserung des klinischen Gesamtscores an Tag 7 und Tag 14 im Vergleich zu Studientag 0. An Studientag 3 zeigten die Tiere, die Feliserin[®] Plus erhalten hatten, einen durchschnittlich besseren klinischen Gesamtscore als die Tiere der Placebogruppe. Allerdings war dieser Unterschied nicht statistisch signifikant. Gegebenenfalls hätte eine größere Anzahl an Studientieren zu einem signifikanten Unterschied an Studientag 3 geführt.

Der Zeitpunkt bis zur klinischen Genesung wurde anhand sechs klinischer Parameter festgelegt: ungestörtes Allgemeinbefinden, normaler Appetit, kein Erbrechen, normaler Hydrationsstatus, Körpertemperatur von 37,8 °C bis 39,2 °C und eine Kotkonsistenz von ≤ 5 im Purina Fecal Scoring System für Hunde. An dem Tag, an dem alle genannten Punkte erfüllt werden konnten, galt ein Hund als „klinisch genesen“. Im Median wurde dieser Zeitpunkt an Tag 5,5 in der Feliserin[®]-Gruppe und an Tag 6 in der Placebogruppe erreicht. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zeigte sich nicht. Andere Studien, die die Dauer der Hospitalisierung bei einer Erkrankung mit CPV beschrieben, berichteten von Zeiträumen von fünf bis sieben Tagen (MANTIONE & OTTO, 2005; BRINKE & NEIGER, 2010; IRIS et al., 2010; SAVIGNY & MACINTIRE, 2010). Die Dauer der Hospitalisierung entspricht dem Zeitpunkt der klinischen Genesung der vorliegenden Studie, die somit einen ähnlichen Zeitraum wie in den vorherigen Studien aufweist. Die zusätzliche therapeutische Gabe des Hyperimmunserums führte nicht zu einer schnelleren klinischen Genesung oder einer kürzeren Hospitalisierungsdauer der betroffenen Hunde.

Acht Hunde mussten im Verlauf der Studie aufgrund progressiver klinischer Symptome euthanasiert werden. Fünf Hunde gehörten hierbei der Feliserin[®]-Gruppe (33,3 %), und drei Hunde der Placebogruppe (18,8 %) an. In anderen klinischen Studien, in denen Hunde eine vergleichbare intensive Therapie erhielten, wurden Mortalitätsraten zwischen 21 – 36 % beschrieben (GLICKMAN et al., 1985; OTTO et al., 1997; MANN et al., 1998; BRINKE & NEIGER, 2010). In wenigen Studien wurden auch höhere Überlebensraten bis zu 100 % erzielt (MACINTIRE & SMITH-CARR, 1997; MOHR et al., 2003; PROKSCH et al., 2014). Einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab es in der vorliegenden Studie nicht; somit hatte die Therapie mit spezifischen anti-Parvovirus-Antikörpern offenbar keinen Einfluss auf die Überlebensrate der in der

Studie eingeschlossenen Hunde.

Die meisten Hunde der vorliegenden Studie waren unter einem Jahr alt, ausgenommen drei erwachsener männlicher Hunde. Zwei dieser Hunde gehörten der Feliserin[®]-Gruppe an (Dobermann, 8,4 Jahre; Spitz, 2,6 Jahre); ein Rottweiler mit 2,0 Jahren war in der Placebogruppe. Alle drei Hunde waren laut ihrer Impfhistorie unzureichend grundimmunisiert. Zwei dieser Hunde entwickelten eine Parvovirose, nachdem sie in Tierheimen untergebracht worden waren. Der dritte Hund, der an Parvovirose erkrankte, hatte kurz zuvor Kontakt zu einem CPV-infizierten Hund gehabt. Zwei der drei erwachsenen Tiere wurden im Studienverlauf aufgrund progressiver klinischer Symptome euthanasiert. Der Rottweiler überlebte die Erkrankung, allerdings war der Zeitpunkt der klinischen Genesung bei diesem Tier erst an Tag 14 erreicht. Es ist auffällig, dass in der eingeschlossenen Studienpopulation drei adulte Hunde mit Parvovirose vertreten waren. Die meisten Hunde, die eine CPV-Infektion entwickeln, sind unter sechs Monate alt (HORNER, 1983; GLICKMAN et al., 1985; HOUSTON et al., 1996; IRIS et al., 2010). Welpen sind am empfänglichsten für eine Infektion im Zeitfenster zwischen dem Abfall der maternalen Antikörper unter die protektive Grenze und dem Aufbau einer eigenen Impf-assoziierten Immunität, vor allem während der „immunologischen Lücke“, wenn noch vorhandene maternale Antikörper die Ausbildung einer aktiven Immunisierung verhindern können (POLLOCK & CARMICHAEL, 1982; PRATELLI et al., 2000). Es gibt nur wenige Beschreibungen zur Parvovirose bei erwachsenen Hunden. Meist verläuft die Erkrankung in diesem Alter subklinisch (HOUSTON et al., 1996; PRITTIE, 2004; DECARO et al., 2009; GODDARD & LEISEWITZ, 2010). Die betroffenen adulten Hunde in der vorliegenden Studie waren alle männlich. Der Spitz war eine Woche vor Vorstellung in der Klinik kastriert worden. Die Tatsache, dass alle betroffenen Hunde männlich waren, stützt die Untersuchung einer Studie, bei der männliche intakte Rüden, die älter als sechs Monate waren, signifikant häufiger eine CPV-Infektion entwickelten. Als möglicher Grund hierfür wird vermutet, dass intakte Rüden häufig einen großen Bewegungsradius haben und so leichter mit infektiösen Erregern in Kontakt kommen können (HOUSTON et al., 1996). In verschiedenen Studien wird beschrieben, dass unter anderem Rottweiler und Dobermänner eine höhere Prädisposition aufweisen, eine CPV-Infektion zu entwickeln. Als Ursache wird eine genetische Schwäche des Immunsystems

diskutiert (GLICKMAN et al., 1985; HOUSTON et al., 1996). Ein erwachsener Rottweiler und ein Dobermann entwickelten auch in der vorliegenden Studie die für ältere Tiere eher untypischen hochgradigen klinischen Symptome einer Parvovirose. Sowohl die oben genannte These, dass erwachsene, männlich intakte Rüden häufiger eine klinisch manifeste Parvovirose entwickeln, als auch die Tatsache, dass Rottweiler und Dobermänner prädisponiert für eine CPV-Infektion sind, werden durch die Beobachtungen der vorliegenden Studie unterstützt.

Bezüglich des Blutbildes und der Albumin-, Totalprotein- und Globulinwerte gab es in der vorliegenden Studie an keinem Tag einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Ähnlich wie bei den klinischen Parametern normalisierten sich in beiden Gruppen alle Laborwerte über den Studienverlauf. Daher ist die Verbesserung der Laborparameter wiederum auf die symptomatische Therapie und den natürlichen Verlauf der Parvovirose zurückzuführen, und nicht auf den zusätzlichen therapeutischen Einsatz von felinen anti-Parvovirus-Antikörpern. An Tag 0, 3, 7, und 14 wurden die Antikörper im Serum der Tiere mittels SNT bestimmt. Beide Gruppen zeigten einen Anstieg der Titer während des Studienverlaufs. Zwischen den Gruppen wurde an keinem Tag ein signifikanter Unterschied der Antikörpertiter festgestellt. Allerdings zeigte sich im Vergleich innerhalb der Placebogruppe ein signifikanter Anstieg der Antikörpertiter von Tag 0 bis Tag 14 (Diskussion hierzu siehe unten).

In vorherigen Untersuchungen wurde gezeigt, dass bei experimentell mit CPV infizierten Hunden ungefähr fünf Tage nach Inokulation mit dem Virus Antikörper messbar wurden; gleichzeitig begannen die Tiere um diesen Zeitraum klinische Symptome zu entwickeln (MACARTNEY et al., 1988). Die Virämie endete zu dem Zeitpunkt, an dem Antikörper gegen CPV im Serum messbar wurden (BRUNNER & SWANGO, 1985; MEUNIER et al., 1985b). Zirkulierende Antikörper bieten einen wichtigen Schutz vor einer Infektion des intestinalen Epithels. In einer Studie, in der vier Hunde 24 Stunden nach der experimentellen Inokulation mit CPV passiv immunisiert wurden, entwickelten diese Hunde keine gastrointestinalen Symptome. Sechs Stunden nach der Verabreichung der externen Antikörper wurden im Serum der Hunde Antikörpertiter zwischen 1:320 und 1:640 gemessen (MEUNIER et al., 1985a). Auch andere experimentelle Studien konnten einen Einfluss einer frühen Antikörpergabe kurz nach einer CPV-Infektion belegen. Mit Antikörpern

behandelte Hunde entwickelten ebenfalls nur milde oder keine klinischen Symptome einer Parvovirose (ISHIBASHI et al., 1983; VAN NGUYEN et al., 2006). In humanmedizinischen Studien wird beschrieben, dass der Effekt einer therapeutischen Antikörpergabe mit dem Auftreten und Fortschreiten der klinischen Symptome abnimmt und eine Therapie deswegen möglichst früh begonnen werden sollte. Bei Infektion mit Pneumokokken war die Effektivität einer Antikörpertherapie deutlich reduziert, wenn sie erst drei Tage nach Auftreten der klinischen Symptome begonnen wurde (CASADEVALL & SCHARFF, 1994; BUCHWALD & PIROFSKI, 2003; CASADEVALL et al., 2004). Alle der in der vorliegenden Studie eingeschlossenen Hunde zeigten bei Vorstellung in der Klinik klinische Symptome einer CPV-Infektion und viele Tiere hatten bereits messbare Antikörper am ersten Studientag. Es ist möglich, dass der Zeitpunkt der Verabreichung der Antikörper bereits nach Beginn der klinischen Symptome, und dem somit vermutlichen Ende der Virämie, zu spät im Krankheitsverlauf erfolgte, um eine Auswirkung auf die klinische Symptomatik zu erwirken. In der tierärztlichen Praxis werden betroffene Tiere allerdings meist erst aufgrund klinischer Anzeichen einer Parvovirose beim Tierarzt vorgestellt. Eine prophylaktische oder metaphylaktische Antikörpergabe erfolgt nur in seltenen Fällen. Daher entspricht die Antikörpergabe nach dem Auftreten klinischer Symptome bei Hunden mit natürlicher CPV-Infektion der realistischen Situation in der Praxis.

Spezifische Antikörper können auf verschiedene Art Einfluss auf die Bekämpfung viraler Erreger nehmen: sie können den Eintritt viraler Erreger in noch nicht infizierte Zellen verhindern, die zellvermittelte Immunität durch Aktivierung natürlicher Killerzellen fördern, und Virus allein oder durch Beteiligung von Komplement neutralisieren (KELLER & STIEHM, 2000). In einer Studie fielen die Titer von Welpen, die entweder noch maternale Antikörper hatten oder mit caninem Serum passiv immunisiert worden waren, nach Inokulation mit CPV durch Verbrauch von Antikörpern rasch ab (MACARTNEY et al., 1988). Eine mögliche Erklärung für den ausbleibenden Anstieg der Antikörpertiter in der Feliserin[®]-Gruppe trotz externer Antikörperzufuhr könnte sein, dass die Antikörper schnell durch das zirkulierende Virus kurz nach Verabreichung verbraucht wurden und so im SNT nicht mehr messbar waren. Es wurde gezeigt, dass die Ausprägung der klinischen Symptomatik CPV-infizierter Hunde stärker

war, wenn eine große Menge Virus das intestinale Epithel über das Blut erreichte (MEUNIER et al., 1985b). Möglicherweise hätten höhere Dosierungen von Feliserin[®] Plus zu einem deutlichen und signifikanten Anstieg der Antikörpertiter und zu einem klinischen Effekt auch nach dem Einsetzen der klinischen Symptome im Vergleich zur Placebogruppe geführt.

Die CPV-Last im Kot wurde mit einer quantitativen real-time Polymerase-Kettenreaktion (PCR) an Tag 0, 3, 7, und 14 bestimmt. In der Feliserin[®]- und der Placebogruppe nahm die Viruslast über den Studienverlauf ab. Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich an keinem Tag ein signifikanter Unterschied. Innerhalb der Placebogruppe war allerdings wiederum der einzige signifikante Abfall von Tag 0 bis Tag 14 zu beobachten.

Die meisten Tiere beider Gruppen hatten bis zum letzten Studientag 14 noch nachweisbare CPV-Desoxyribonukleinsäure (DNA) im Kot. Es wird berichtet, dass eine Virusausscheidung im Kot bis zu zwei Wochen oder auch länger stattfinden kann. Allerdings nimmt die Ausscheidung um Tag 7 nach der Infektion deutlich ab (BRUNNER & SWANGO, 1985; PRITTIE, 2004). In aktuelleren Studien, in denen eine real-time PCR zur Detektion der CPV-DNA verwendet wurde, konnte eine Virusausscheidung sogar bis 45 Tage nach Infektion nachgewiesen werden (DECARO et al., 2005b; DECARO et al., 2005a). Die Verwendung einer quantitativen real-time PCR in der vorliegenden Studie könnte eine Erklärung dafür sein, dass bei einem sehr großen Prozentsatz der Hunde an Tag 14 noch CPV-Virus im Kot nachweisbar war. Die real-time PCR weist eine höhere Sensitivität auf als die in früheren Studien meist verwendete, konventionelle PCR (DECARO et al., 2005c; STRECK et al., 2013). Bei einem Hund in der Feliserin[®]-Gruppe ließ sich an Tag 3 kein CPV im Kot mehr nachweisen, an Tag 7 war jedoch wieder CPV-DNA in geringer Menge nachweisbar. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte zum einen die Tatsache sein, dass das Virus intermittierend ausgeschieden wurde und bei der Messung an Tag 3 deswegen nicht nachzuweisen war. Eine weitere Erklärung könnte die Tatsache sein, dass der Kot dieses Hundes zu diesem Zeitpunkt eine sehr wässrige Konsistenz aufwies und deswegen nur eine geringe Menge Kot gewonnen werden konnte, was zu einem negativem Testergebnis geführt haben könnte.

Es ist auffällig, dass nur innerhalb der Placebogruppe die Serumantikörpertiter von Tag 0 bis Tag 14 signifikant zunahmen, während die CPV-Viruslast von Tag

0 bis Tag 14 signifikant abnahm. Die Hunde in der Placebogruppe waren offenbar in der Lage, hohe Antikörpertiter ohne die externe zusätzliche Zufuhr von Antikörpern aufzubauen. Somit war die symptomatische Therapie bei diesen Hunden ausreichend, um eine wirksame Immunantwort zu erzielen. Bei den Hunden, die Feliserin[®] Plus erhalten hatten, könnte man vermuten, dass die externe anti-Parvovirus-Antikörpergabe in einer verminderten Produktion intrinsischer Antikörper resultierte. Es gibt bisher jedoch keine Studien, die einen eindeutigen Zusammenhang zwischen hohen Antikörpertitern und niedriger CPV-Viruslast im Kot nachweisen konnten (DECARO et al., 2005b; DECARO et al., 2005a). Daher ist es fraglich, ob der signifikante Abfall der CPV-Viruslast im Kot innerhalb der Placebogruppe mit einer höheren Produktion intrinsischer neutralisierender Antikörper in Zusammenhang steht. Weder hinsichtlich der Serumantikörpertiter, noch hinsichtlich der CPV-Viruslast im Kot gab es signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Somit hatten die signifikanten Unterschiede innerhalb der Placebogruppe keine klinischen Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf der Tiere.

Stagloban[®] SHP war ein speziehomologes Hyperimmunserum. Nebenwirkungen sind bei homologen Immunseren eher selten zu erwarten. Feliserin[®] Plus ist ein Hyperimmunserum, das heterolog aus stabilisiertem Pferdeserum gewonnen wird. In der Humanmedizin wurden früher häufig Antikörper aus Pferdeseren verabreicht. Dies führte aufgrund der Verabreichung der Fremdproteine nicht selten zu allergischen Reaktionen, wie Atemnot und Urtikaria (CASADEVALL & SCHARFF, 1995; STIEHM, 1996). Da allergische Reaktionen auf das Fremdprotein auch bei Tieren zu erwarten sind, wird von wiederholten Gaben heterologer Seren nach größeren Zeiträumen abgeraten, wenn die Tiere bereits Antikörper gegen die Immunseren gebildet haben (HARTMANN & HEIN, 2008). Angaben zu Nebenwirkungen nach Verabreichung von Feliserin[®] Plus an Hunde gab es vor Beginn dieser klinischen Studie nicht. Aus diesem Grund wurde vor dem Studienbeginn eine relativ niedrige Dosis von 0,2 ml/kg einmal täglich an den ersten drei aufeinanderfolgenden Studientagen festgelegt. Keiner der Hunde der vorliegenden Studie zeigte im Untersuchungszeitraum Nebenwirkungen, die auf die Applikation von Feliserin[®] Plus zurückzuführen waren.

Während der Durchführung der Studie erhielt Feliserin[®] PRC, das bisher nur für Katzen zugelassen war, im Herbst 2012 die Zulassung für die Prophylaxe und

Therapie von CPV. Seither wird es als Feliserin[®] Plus vertrieben. Die derzeitige Dosierungsempfehlung des Herstellers (IDT Biologika, Dessau, Deutschland) für die Therapie von CPV beträgt 0,4 ml/kg einmal täglich bis zur Besserung, was der früher empfohlenen Dosis von Stagloban[®] SHP entspricht. Generell gibt es keine exakten Empfehlungen hinsichtlich der Dosis der zu verabreichenden Immunsereen zur passiven Immunisierung und die Angaben hierzu variieren. Hyperimmunsereen werden in Dosierungen ab 0,2 ml/kg verabreicht. In einer Studie wurde Katzenwelpen Serum adulter Katzen mit einer Dosis von 150 ml/kg appliziert (COMPAGNUCCI et al., 1987; LEVY et al., 2001; GREENE & LEVY, 2013). Möglicherweise war die verabreichte Dosis von 0,2 ml/kg an drei aufeinanderfolgenden Tagen zu gering, um eine signifikante Verbesserung der klinischen Symptome zu erzielen. Bisher publizierte Studien verabreichten allerdings Immunsereen mit vergleichbaren Konzentrationen. Der FPV-Antikörpertiter der in der vorliegenden Studie untersuchten Charge von Feliserin[®] Plus lag bei 1:10240. In einer früheren Studie entwickelten experimentell mit CPV infizierte Hunde keine klinischen Symptome, nachdem ihnen eine unbekante Menge eines caninen Immunsereums mit einem CPV-Titer von 1:10240 appliziert worden war (MEUNIER et al., 1985a). Eine einmalige Dosis von 12 ml Immunplasma (Titer 1:7000) bei sieben natürlich mit CPV infizierten Hunden bewirkte keine signifikante Verbesserung der klinischen Symptomatik (BRAGG et al., 2012). Im Gegensatz hierzu zeigten zwölf natürlich mit CPV infizierte Hunde eine schnellere klinische Verbesserung nach ein- bis zweimaliger Gabe von 1 ml Immunsereum (Titer 1:8192), als nicht mit Immunsereum behandelte Hunde (ISHIBASHI et al., 1983). Auswirkungen verschieden hoher Dosierungen auf die klinische Symptomatik konnte bei experimentell mit CPV infizierten Hunden gezeigt werden. Zehn Hunde erhielten orales IgY-Pulver mit einem Titer von 1:50000. Die Tiere, die kurz nach der Inokulation mit CPV 2 g des IgY-Pulvers erhielten, zeigten keine klinischen Symptome einer CPV-Infektion, während Hunde, die nur 0,5 g erhielten, noch milde klinische Symptome entwickelten (VAN NGUYEN et al., 2006). Die Applikation höherer Dosierungen von Feliserin[®] Plus könnte also möglicherweise zu einer signifikanten Verbesserung der klinischen Symptomatik bei Hunden mit CPV-Infektion führen, die bei der niedrigen Dosis von 0,2 ml/kg nicht gesehen wurden. Da in der vorliegenden Studie keine Nebenwirkungen durch Feliserin[®] Plus beobachtet wurden, sind schwerwiegende Nebenwirkungen in der momentan empfohlenen

höheren Dosierung des Herstellers von 0,4 ml/kg nicht wahrscheinlich, solange die Gabe nicht über längeren Zeitraum oder wiederholt nach einigen Wochen erfolgt.

Zusätzlich zu der Per-Protocol-Analyse wurde eine statistische Auswertung mit der Intention-to-Treat (ITT)-Analyse durchgeführt, in der alle ursprünglich mit in die Studie eingeschlossenen Tiere in die Auswertung aufgenommen wurden (Feliserin[®] Plus n = 16, Placebo n = 16). Eine ITT-Analyse reflektiert ein realistisches Bild der Wirksamkeit einer Therapie in der täglichen Praxis, da auch die Ergebnisse von den vom Protokoll abweichenden Tieren mit in die Auswertung aufgenommen werden. Solange eine Randomisierung gegeben ist, bleibt der vergleichbare Charakter beider Gruppen erhalten. Die ITT-Analyse lieferte in der vorliegenden Studie ähnliche Ergebnisse wie die Per-Protocol-Analyse. Es zeigten sich dieselben statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Somit wurden die vorliegenden Ergebnisse der Studie durch zwei unterschiedliche statistische Auswertungen bestätigt.

Eine Limitation der vorliegenden Studie ist die zusätzliche Medikation neben der symptomatischen Standardtherapie, die bei Tieren mit progressiven klinischen Symptomen nötig war. Ein komplett standardisiertes Medikationsprotokoll war aus ethischen Gründen nicht durchführbar. Tiere beider Gruppen erhielten teilweise zusätzliche Medikamente zum Standardprotokoll, und die Verabreichung der Medikamente wurde nach bestimmten Regeln durchgeführt. Daher ist es nicht wahrscheinlich, dass das Ausbleiben der klinisch signifikanten Unterschiede auf die zusätzliche Medikation zurückzuführen war. Hinsichtlich der Anzahl der Tiere, die zusätzliche Medikation erhielten, gab es zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass ein komplett standardisiertes Medikationsprotokoll andere Ergebnisse hervorgebracht hätte. Möglicherweise hätte auch eine größere Studienpopulation zu signifikanten statistischen Unterschieden zwischen den beiden Gruppen geführt. Bei der durchgeführten Poweranalyse wurde allerdings eine Anzahl von zwölf Hunden pro Gruppe als ausreichend erachtet.

Während der Durchführung des prospektiven Teils der klinischen Studie von Ende 2011 bis Herbst 2014 wurde die Zulassung des Medikaments Feliserin[®] PRC zu Feliserin[®] Plus im Herbst 2012 für den Einsatz bei Hunden mit CPV erweitert. Die für die Studie festgelegte therapeutische Dosis betrug 0,2 ml/kg

einmal täglich über drei aufeinanderfolgende Tage. Dies war die erste klinische Studie, die den Einsatz von Feliserin[®] Plus an Hunden testete und mögliche Nebenwirkungen waren nicht abzusehen. Die ab Herbst 2012 vom Hersteller (IDT Biologika, Dessau, Deutschland) empfohlene Dosis ist seither 0,4 ml/kg einmal täglich bis zur klinischen Besserung. Mit der vorliegenden Studie kann daher nicht geklärt werden, ob die Gabe von Feliserin[®] Plus in der momentan vom Hersteller empfohlenen Dosis zu signifikanten Unterschieden hinsichtlich der Verbesserung der klinischen Symptomatik geführt hätte. Hierfür wäre die Durchführung weiterer klinischer Studien mit höheren Dosierungen sinnvoll.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass vor allem der späte Zeitpunkt der Gabe der FPV-Antikörper im klinischen Verlauf der Parvovirose der wahrscheinlichste Grund für das Ausbleiben eines signifikanten klinischen Effekts war. Da Hunde aber normalerweise erst nach Auftreten der klinischen Symptome einem Tierarzt vorgestellt und therapeutisch versorgt werden, ist der praktische Nutzen des therapeutischen Einsatzes von Feliserin[®] Plus bei Hunden mit CPV auch in höheren Dosen fraglich. Ein prophylaktischer Einsatz von Feliserin[®] Plus, beispielsweise vor dem Verbringen von unzureichend geimpften Hunden in Tierheime oder kurz nach einer Exposition mit infizierten Tieren, könnte jedoch durchaus von Nutzen sein. Diese Indikation sollte ebenfalls in weiteren Studien evaluiert werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die canine Parvovirose hat sich seit ihrer Entdeckung Ende der 1970er Jahre weltweit verbreitet. Heute stellt sie nach wie vor eine lebensbedrohliche Krankheit bei Hunden dar. Vor allem Welpen, die nicht mehr durch maternale Antikörper geschützt sind und noch keine eigenen anti-Parvovirus-Antikörper aufbauen konnten, sind gefährdet an einer Parvovirose zu erkranken. Die Therapie der Parvovirose stützt sich bisher vor allem auf eine symptomatische Therapie der klinischen Symptome. Direkte antivirale Therapieansätze waren, bis auf einige Therapiestudien mit feline Interferon- ω , wenig vielversprechend. Die therapeutische Gabe von anti-Parvovirus-Antikörpern bei Hunden mit Parvovirose ist bisher wenig untersucht, und die wenigen Studien führten zu uneindeutigen Ergebnissen. Das canine Parvovirus entwickelte sich aus dem feline Panleukopenievirus und ist somit antigenetisch eng mit diesem verwandt; eine Kreuzprotektivität zwischen caninen und feline anti-Parvovirus-Antikörpern ist daher anzunehmen.

Das Ziel des ersten Teils der Studie war es, die mögliche Kreuzreaktivität von kommerziell hergestellten feline (Feliserin[®] Plus) und caninen (Stagloban[®] SHP) anti-Parvovirus-Antikörpern *in-vitro* zu untersuchen. Dieser Serumneutralisationstest wurde am Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig durchgeführt. Sowohl feline als auch canine anti-Parvovirus-Antikörper waren in der Lage, das feline Panleukopenievirus und die verschiedenen Stämme des caninen Parvovirus Typ 2 2a, 2b, und 2c *in-vitro* zu neutralisieren. Dies lässt auch eine mögliche Kreuzprotektivität *in-vivo* vermuten.

Das Ziel des zweiten Teils der Studie war es daher, die therapeutische Wirksamkeit von anti-Parvovirus-Antikörpern bei Hunden mit bestätigter Parvovirose zu untersuchen. In die prospektive, placebokontrollierte Doppelblindstudie wurden 31 Hunde eingeschlossen, die klinische Symptome einer Parvovirose zeigten und bei denen eine Infektion mit dem caninen Parvovirus mit einem positiven Polymerase-Kettenreaktionsergebnis bestätigt worden war. Neben einem standardisierten Therapieprotokoll erhielten die Hunde entweder feline anti-Parvovirus-Antikörper (Feliserin[®] Plus; n = 15), oder Placebo

(n = 16) an den ersten drei aufeinanderfolgenden Studientagen. Die Tiere wurden bis zur klinischen Genesung stationär betreut und an Studientag 14 zu einer Kontrolluntersuchung vorgestellt. Während des stationären Aufenthaltes wurden täglich die klinischen Symptome evaluiert und ein Blutbild und Eiweiß-, Albumin- und Globulinwerte bestimmt. Desweiteren wurde an Tag 0, 3, 7, und 14 ein Serumneutralisationstest zur Bestimmung der Antikörpertiter durchgeführt und die Virusausscheidung mit einer quantitativen Polymerase-Kettenreaktion aus dem Kot untersucht.

Bei dem Vergleich der einzelnen klinischen Parameter und der untersuchten Blutparameter konnte an keinem Tag ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Tiere der Feliserin[®]-Gruppe erreichten den Zeitpunkt der klinischen Genesung um 0,5 Tage schneller als Tiere in der Placebogruppe; dieser Unterschied war aber nicht statistisch signifikant. Im Studienverlauf mussten einige Tiere aufgrund eines schwerwiegenden Krankheitsverlaufs euthanasiert werden; die Mortalitätsrate war jedoch nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen. Bei dem Vergleich der Serumantikörpertiter zeigte sich ein Anstieg der Titer in beiden Gruppen über den Studienverlauf, der aber nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen war. Ein signifikanter Anstieg zeigte sich allerdings innerhalb der Placebogruppe von Tag 0 zu Tag 14. Ebenso verhielt es sich mit der Viruslast im Kot, die in beiden Gruppen über den Studienverlauf abnahm; nur in der Placebogruppe zeigte sich ein signifikanter Abfall innerhalb der Gruppe zwischen Tag 0 und Tag 14. Virus-DNA konnte bei einem Großteil der Tiere noch an Studientag 14 im Kot nachgewiesen werden. Nebenwirkungen durch Verabreichung von feline anti-Parvovirus-Antikörpern wurden nicht beobachtet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in dieser Studie keine positiven Effekte durch die therapeutische Gabe von feline anti-Parvovirus-Antikörpern bei Hunden mit Parvovirose hinsichtlich einer Verbesserung der klinischen Symptome und Laborparameter zusätzlich zu symptomatischer Therapie festgestellt werden konnten. Da die *in-vitro*-Neutralisation eine Kreuzprotektivität von feline und canine anti-Parvovirus-Antikörpern beweisen konnte, sollte der Nutzen einer höheren Dosis oder eines prophylaktischen Einsatzes von feline anti-Parvovirus-Antikörpern bei Hunden zum kurzzeitigen Schutz vor einer Parvovirose zukünftig untersucht werden.

VI. SUMMARY

Since its discovery in the late 1970s, canine parvovirus infection has spread throughout the world. Today, it is still a life-threatening disease for affected dogs. In particular puppies are at risk of developing parvovirosis, as they are not longer protected by maternal antibodies and are not yet able to produce their own anti-parvovirus antibodies. The main treatment strategy for parvovirosis is still based on symptomatic therapy of clinical symptoms. Direct antiviral therapies have been unpromising, with the exception of several studies that investigated treatment with feline interferon- ω . The therapeutic use of anti-parvovirus antibodies in dogs with parvovirosis has been evaluated in few studies that, however, led to inconclusive results. Canine parvovirus emerged from feline panleukopenia virus and both share a nearly identical antigenetic structure; cross-protection between canine and feline anti-parvovirus antibodies is therefore assumable.

The aim of the first part of the study was to evaluate possible cross-reactivity of commercially produced feline (Feliserin[®] Plus) and canine anti-parvovirus antibodies (Stagloban[®] SHP) *in-vitro*. This serum neutralisation assay was performed at the Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health at the University of Leipzig. Feline as well as canine anti-parvovirus antibodies were able to neutralise feline panleukopenia virus and the different canine parvovirus strains type 2, 2a, 2b, and 2c *in-vitro*. Hence, a possible cross-protection *in-vivo* could also be assumed.

Therefore, the second aim of the clinical study was to evaluate the therapeutic use of feline anti-parvovirus antibodies in dogs with confirmed parvovirosis. Thirty-one dogs showing clinical symptoms consistent with parvovirosis and a positive polymerase chain reaction for canine parvovirus infection were included in the prospective, placebo-controlled, double-blinded study. Besides a standardised treatment protocol, dogs received either feline anti-parvovirus antibodies (Feliserin[®] Plus; n = 15) or placebo (n = 16) on the first three consecutive days of the study. Animals were hospitalised until they reached clinical recovery and were re-presented on day 14 for a control examination. During hospitalisation, clinical symptoms, blood count, and total protein, albumin, and globulin values were evaluated daily. Additionally, a serum neutralisation assay for measurement of

antibody titres was conducted, and faecal virus shedding was evaluated by a quantitative polymerase chain reaction on days 0, 3, 7, and 14.

There were no significant differences when comparing individual clinical measures and investigated blood parameters between the two groups on any day of the study. Animals that had received Feliserin[®] Plus reached clinical recovery 0.5 days faster than animals in the placebo group; however, this difference was not statistically significant. Some animals had to be euthanased due to severe disease during the course of the study, but mortality rate was not significantly different between the two groups. When comparing serum antibody titres between groups, an increase of titres in both groups could be demonstrated, but it was not statistically significant. However, a significant increase was shown in the placebo group from day 0 to day 14. In parallel, the viral load in the faeces decreased in both groups over time, but only the placebo group showed a significant decrease from day 0 to day 14. Viral DNA was still detectable in the faeces of most of the animals on day 14 of the study. Side effects from administration of feline anti-parvovirus antibodies were not observed.

In conclusion, the therapeutic application of feline anti-parvovirus antibodies in dogs with parvovirus, in addition to a standard treatment protocol, did not demonstrate any positive effect regarding improvement of clinical signs or laboratory parameters. As the *in-vitro*-neutralisation showed a cross-protection of feline and canine anti-parvovirus antibodies, the use of higher doses or of a prophylactic application of feline anti-parvovirus antibodies for short-time protection in dogs with parvovirus should be evaluated in future studies.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Ackermann O, Stegmann H. Felidovac L und Feliserin, zwei neue Präparate für die Katzenpraxis. *Blaue Hefte Tierarzt* 1975; 54: 135-46.

Alef M, Oechtering G, Tacke S, Schimke E. Schmerzausschaltung. In: *Klinik der Hundekrankheiten*, 3 edn. Grünbaum E, Schimke E, eds.: Enke 2006: 127-76.

Alwood AJ, Downend AB, Brooks MB, Slensky KA, Fox JA, Simpson SA, Waddell LS, Baumgardner JE, Otto CM. Anticoagulant effects of low-molecular-weight heparins in healthy cats. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 378-87.

Appel MJ, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet Rec* 1979; 105: 156-9.

Bersenas AM, Mathews KA, Allen DG, Conlon PD. Effects of ranitidine, famotidine, pantoprazole, and omeprazole on intragastric pH in dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 425-31.

Binn LN, Lazar EC, Eddy GA, Kajima M. Recovery and characterization of a minute virus of canines. *Infect Immun* 1970; 1: 503-8.

Block A, Hartmann K, Lutz H, Kraft W. [Placebo-controlled double-blind study on the efficacy of a paramunity inducer in the treatment of naturally FeLV-infected cats]. *Tierärztl Prax* 1997; 25: 261-6.

Bragg RF, Duffy AL, DeCecco FA, Chung DK, Green MT, Veir JK, Dow SW. Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 700-4.

Brinke N, Neiger R. Der Einfluss einer Parvovirus-Infektion und anderer Parameter auf das Überleben von Hunden mit blutigem Durchfall. *Kleintierprax* 2010; 55: 417-22.

Brown AJ, Otto CM. Fluid therapy in vomiting and diarrhea. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 653-75.

Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruending M, Oppert M, Grond S, Olthoff D, Jaschinski U, John S, Rossaint R, Welte T, Schaefer M, Kern P, Kuhnt E, Kiehntopf M, Hartog C, Natanson C, Loeffler M, Reinhart K. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med* 2008; 358: 125-39.

Brunner C, Swango L. Canine parvovirus infection: effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. *Comp Contin Educ Pract Vet -North American Edition-* 1985; 7: 979–89.

Buchwald UK, Pirofski L. Immune therapy for infectious diseases at the dawn of the 21st century: the past, present and future role of antibody therapy, therapeutic vaccination and biological response modifiers. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 945-68.

Cariou M, Lipscomb VJ, Brockman DJ, Gregory SP, Baines SJ. Spontaneous gastroduodenal perforations in dogs: a retrospective study of 15 cases. *Vet Rec* 2009; 165: 436-41.

Carlson JH, Scott FW. Feline panleukopenia. II. The relationship of intestinal mucosal cell proliferation rates to viral infection and development of lesions. *Vet Pathol* 1977; 14: 173-81.

Carter CJ, Kelton JG, Hirsh J, Cerskus A, Santos AV, Gent M. The relationship between the hemorrhagic and antithrombotic properties of low molecular weight heparin in rabbits. *Blood* 1982; 59: 1239-45.

Casadevall A, Scharff MD. Serum therapy revisited: animal models of infection and development of passive antibody therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1695-702.

Casadevall A, Scharff MD. Return to the past: the case for antibody-based therapies in infectious diseases. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 150-61.

Casadevall A, Dadachova E, Pirofski LA. Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 695-703.

Cavalli A, Martella V, Desario C, Camero M, Bellacicco AL, De Palo P, Decaro N, Elia G, Buonavoglia C. Evaluation of the antigenic relationships among canine parvovirus type 2 variants. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 534-9.

Chalmers WS, Truyen U, Greenwood NM, Baxendale W. Efficacy of feline panleucopenia vaccine to prevent infection with an isolate of CPV2b obtained from a cat. *Vet Microbiol* 1999; 69: 41-5.

Chan CEZ, Chan AHY, Hanson BJ, Ooi EE. The use of antibodies in the treatment of infectious diseases. *Singapore Med* 2009; 50 (7): 663-73.

Chan DL, Freeman LM, Labato MA, Rush JE. Retrospective evaluation of partial parenteral nutrition in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 440-5.

Chandler ML, Guilford WG, Payne-James J. Use of peripheral parenteral nutritional support in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216: 669-73.

Chapek ML, McClaughry LE, Wilkins LM. Efficiency and safety of an inactivated feline parvovirus vaccine against canine parvovirus infection. *Mod Vet Pract* 1980; 61: 261-3.

Chiang SY, Wu HY, Chiou MT, Chang MC, Lin CN. Identification of a novel canine parvovirus type 2c in Taiwan. *Virol J* 2016; 13: 160.

Cohn LA, Rewerts JM, McCaw D, Boon GD, Wagner-Mann C, Lothrop CD. Plasma Granulocyte Colony-Stimulating Factor Concentrations in Neutropenic, Parvoviral Enteritis-Infected Puppies. *J Vet Int Med* 1999; 13: 581-6.

Compagnucci M, Tempesta M, Marsilio F. Gamma-globulin prophylaxis in canine parvovirus infection [in Italian]. *Obiet doc vet* 1987; 8: 35-9.

Couto CG. Disseminated intravascular coagulation in dogs and cats. *Vet Med* 1999; 547-53.

Crawford PC, Sellon RK. Canine Viral Diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7 edn. Ettinger SJ, Feldman EC, eds.: Elsevier Saunders 2010: 958-71.

de la Puente-Redondo VA, Siedek EM, Benchaoui HA, Tilt N, Rowan TG, Clemence RG. The anti-emetic efficacy of maropitant (Cerenia) in the treatment of ongoing emesis caused by a wide range of underlying clinical aetiologies in canine patients in Europe. *J Small Anim Pract* 2007; 48: 93-8.

de Mari K, Maynard L, Eun HM, Lebreux B. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Vet Rec* 2003; 152: 105-8.

Decaro N, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Ricci D, Lorusso E, Buonavoglia C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *J Vet Diagn Invest* 2005a; 17: 133-8.

Decaro N, Campolo M, Desario C, Elia G, Martella V, Lorusso E, Buonavoglia C. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals* 2005b; 33: 261-7.

Decaro N, Elia G, Martella V, Desario C, Campolo M, Trani LD, Tarsitano E, Tempesta M, Buonavoglia C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. *Vet Microbiol* 2005c; 105: 19-28.

Decaro N, Cirone F, Desario C, Elia G, Lorusso E, Colaianni ML, Martella V,

Buonavoglia C. Severe parvovirus in a 12-year-old dog that had been repeatedly vaccinated. *Vet Rec* 2009; 164: 593-5.

Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol* 2012; 155: 1-12.

Deinert M. Enterale Sondenernährung von Kleintieren in der Praxis: Nasenschlundsonde und perkutane Magensonde. *Tierärztl Prax* 1997 25: 627-36.

Devey JJ. Crystalloid and Colloid Fluid Therapy. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7 edn. Ettinger SJ, Feldman EC, eds.: Elsevier Saunders 2010: 487-96.

Dimmitt R. Clinical experience with cross-protective anti-endotoxin antiserum in dogs with parvoviral enteritis. *Canine Pract* 1991; 16: 23-6.

DiPalma J. Metoclopramide: a dopamine receptor antagonist. *Am Fam Physician* 1990; 41: 919-24.

Dodds WJ. Immune plasma for treatment of parvoviral gastroenteritis. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 1056; author reply.

du Toit HJ, Coetzee AR, Chalton DO. Heparin treatment in thrombin-induced disseminated intravascular coagulation in the baboon. *Crit Care Med* 1991; 19: 1195-200.

Duffy A, Dow S, Ogilvie G, Rao S, Hackett T. Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor. *J Vet Pharmacol Ther* 2010; 33: 352-6.

Dunn ME. Acquired Coagulopathies. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7 edn. Ettinger SJ, Feldman EC, eds.: Elsevier Saunders 2010: 797-801.

Egerbacher M, Edinger J, Tschulenk W. Effects of enrofloxacin and ciprofloxacin hydrochloride on canine and equine chondrocytes in culture. *Am J Vet Res* 2001; 62: 704-8.

Erhardt W. Über die Anwendung von Passiv- und Aktiv-Impfstoffen gegen die Panleukopenie der Katzen. *Berl Münch tierärztl Wochenschr* 1977; 90: 337-40.

Fachinger V, Schlapp T, Strube W, Schmeer N, Saalmüller A. Poxvirus-induced immunostimulating effects on porcine leukocytes. *J Virol* 2000; 74: 7943-51.

Friedl Y, Schulz B, Knebl A, Helps C, Truyen U, Hartmann K. Efficacy of passively transferred antibodies in cats with acute viral upper respiratory tract infection. *Vet J* 2014; 201: 316-21.

Gamoh K, Senda M, Inoue Y, Itoh O. Efficacy of an inactivated feline panleucopenia virus vaccine against a canine parvovirus isolated from a domestic cat. *Vet Rec* 2005; 157: 285-7.

Glickman LT, Domanski LM, Patronek GJ, Visintainer F. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 187: 589-94.

Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40: 1041-53.

Gonik B. Passive immunization: the forgotten arm of immunologically based strategies for disease containment. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205: 444 e1-6.

Greene CE, Hartmann K, Calpin J. Antimicrobial Drug Formulary. In: *Infectious Diseases of the dog and cat*, 4 edn. Greene CE, ed.: Elsevier Saunders 2013: 1207-321.

Greene CE, Decaro N. Canine Viral Enteritis. In: *Infectious diseases of the dog and cat*, 4 edn. Greene CE, ed.: Elsevier Saunders 2013: 67-75.

Greene CE, Levy JK. Immunoprophylaxis. In: Infectious diseases of the dog and cat, 4 edn. Greene CE, ed.: Elsevier Saunders 2013: 1163-205.

Greene CE, Boothe DM. Antibacterial Chemotherapy. In: Infectious diseases of the dog and cat, 4 edn. Greene CE, ed.: Elsevier Saunders 2013: 283-309.

Gubareva LV, Kaiser L, Hayden FG. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet* 2000; 355: 827-35.

Hadfield RJ, Sinclair DG, Houldsworth PE, Evans TW. Effects of enteral and parenteral nutrition on gut mucosal permeability in the critically ill. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1545-8.

Hall JA, Washabau RJ. Gastrointestinal prokinetic therapy: dopaminergic antagonist drugs. *Comp on Cont Ed for the Prac Vet* 1997; 19: 214-20.

Hartmann K, Hein J. Feline Panleukopenie. In: *Infektionskrankheiten der Katze*. Hartmann K, Hein J, eds.: Schlütersche 2008: 87-98.

Hartmann K. Antiviral and Immunomodulatory Chemotherapy. In: *Infectious diseases of the dog and cat*. Greene CE, ed.: Elsevier Saunders 2013: 10-24.

Heel KA, Kong SE, McCauley RD, Erber WN, Hall JC. The effect of minimum luminal nutrition on mucosal cellularity and immunity of the gut. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1015-9.

Henny CP, Ten Cate H, Ten Cate JW, Moulijn AC, Sie TH, Warren P, Buller HR. A randomized blind study comparing standard heparin and a new low molecular weight heparinoid in cardiopulmonary bypass surgery in dogs. *J Lab Clin Med* 1985; 106: 187-96.

Henry C, Buss M, Lothrop C. Veterinary uses of re-combinant human granulocyte colony-stimulating factor. Part 1. Oncology. *Comp Cont Ed Pract Vet* 1998; 20:

728–35.

Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, Renner B, Zolk O, Fromm MF, Brune K. Dipyron e licits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J* 2007; 21: 2343-51.

Hirsh J, Warkentin TE, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001; 119: 64s-94s.

Hoffmann R. Disseminierte intravasale Gerinnung (Verbrauchskoagulopathie) beim Haustier. *Tierärztl Prax* 1974; 2: 375-81.

Hohdatsu T, Pu R, Torres BA, Trujillo S, Gardner MB, Yamamoto JK. Passive antibody protection of cats against feline immunodeficiency virus infection. *J Virol* 1993; 67: 2344-8.

Horner GW. Canine parvovirus in New Zealand: epidemiological features and diagnostic methods. *N Z Vet J* 1983; 31: 164-6.

Houston DM, Ribble CS, Head LL. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208: 542-6.

Hutchinson KM, Shaw SP. A Review of Central Venous Pressure and Its Reliability as a Hemodynamic Monitoring Tool in Veterinary Medicine. *Top Companion Anim Med* 2016; 31: 109-21.

Imagawa VH, Fantoni DT, Tatarunas AC, Mastrocinque S, Almeida TF, Ferreira F, Posso IP. The use of different doses of metamizol for post-operative analgesia in dogs. *Vet Anaesth Analg* 2011; 38: 385-93.

Iris K, Leontides LS, Mylonakis ME, Adamama-Moraitou K, Rallis T, Koutinas

AF. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Res Vet Sci* 2010; 89: 174-8.

Ishibashi K, Maede Y, Ohsugi T, Onuma M, Mikami T. Serotherapy for Dogs Infected with Canine Parvovirus. *Jap J Vet Sci* 1983; 45: 59-66.

Ishiwata K, Minagawa T, Kajimoto T. Clinical effects of the recombinant feline interferon-omega on experimental parvovirus infection in beagle dogs. *J Vet Med Sci* 1998; 60: 911-7.

Isogai E, Isogai H, Onuma M, Mizukoshi N, Hayashi M, Namioka S. Escherichia coli associated endotoxemia in dogs with parvovirus infection. *Jap J Vet Sci* 1989; 51: 597-606.

Kaiser L, Wat C, Mills T, Mahoney P, Ward P, Hayden F. Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract complications and hospitalizations. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1667-72.

Kariuki Njenga M, Nyaga P, Buoro I, Gathumbi P. Effectiveness of fluids and antibiotics as supportive therapy of canine parvovirus-2 enteritis in puppies. *Bull Anim Hlth Prod Afr* 1990; 38: 379-89.

Keller MA, Stiehm ER. Passive immunity in prevention and treatment of infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 602-14.

Klimentowski S, Kolbl S, Fischer M. [The effectiveness of paramunization for the control of feline coryza]. *Berl Münch tierärztl Wochenschr* 1992; 105: 253-9.

Konijnenbelt-Peters J, van der Heijden C, Ekhart C, Bos J, Bruhn J, Kramers C. Metamizole (Dipyrone) as an Alternative Agent in Postoperative Analgesia in Patients with Contraindications for Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Pain Pract* 2016; 17: 402-8.

Kraft W, Kuffer M. [Treatment of severe neutropenias in dogs and cats with filgrastim]. *Tierärztl Prax* 1995; 23: 609-13.

Krakowka S, Olsen RG, Axthelm MK, Rice J, Winters K. Canine parvovirus infection potentiates canine distemper encephalitis attributable to modified live-virus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 137-9.

Kramer JM, Meunier PC, Pollock RV. Canine parvovirus: update. *Vet Med Small Anim Clin* 1980; 75: 1541-55.

Kuffer-Frank M, Jung H, Kraft W. Einsatz des rekombinaten methionylierten Human-Granulozyten-stimulierenden Faktors (r-metHuG-CSF) bei Katzen mit schwerer Neutropenie. *Tierärztl Prax* 1999; 27 (K): 136-43.

Kuwabara M, Nariai Y, Horiuchi Y, Nakajima Y, Yamaguchi Y, Horioka E, Kawanabe M, Kubo T, Yukawa M, Sakai T. Immunological Effects of Recombinant Feline Interferon- ω (KT-80) Administration in the Dog. *Microbiol Immunol* 2006; 50: 637-41.

Kyriakis SC, Tzika ED, Lyras DN, Tsinas AC, Saoulidis K, Sarris K. Effect of an inactivated Parapoxvirus based immunomodulator (Baypamun) on post weaning diarrhoea syndrome and wasting pig syndrome of piglets. *Res Vet Sci* 1998; 64: 187-90.

Lamm CG, Rezabek GB. Parvovirus infection in domestic companion animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 837-50.

Lascelles BD, Blikslager AT, Fox SM, Reece D. Gastrointestinal tract perforation in dogs treated with a selective cyclooxygenase-2 inhibitor: 29 cases (2002-2003). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 1112-7.

Levi M, Poll T. Coagulation in patients with severe sepsis. *Semin Thromb Hemost* 2015; 41: 9-15.

Levy JK, Crawford PC, Collante WR, Papich MG. Use of adult cat serum to correct failure of passive transfer in kittens. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1401-5.

Lippert AC, Fulton RB, Jr., Parr AM. A retrospective study of the use of total parenteral nutrition in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 1993; 7: 52-64.

Logan JC, Callan MB, Drew K, Marryott K, Oakley DA, Jefferies L, Giger U. Clinical indications for use of fresh frozen plasma in dogs: 74 dogs (October through December 1999). *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 1449-55.

London C. Hematopoietic cytokines: the myelopoietic factors. In: *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII Small Animal Practice*. Bonagura J, ed. Philadelphia: WB Saunders 2000: 403-8.

Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int* 2011; 79: 33-45.

Lorenzutti AM, Martin-Flores M, Litterio NJ, Himelfarb MA, Invaldi SH, Zarazaga MP. A comparison between maropitant and metoclopramide for the prevention of morphine-induced nausea and vomiting in dogs. *Can Vet J* 2017; 58: 35-8.

Lynch AM, deLaforcade AM, Sharp CR. Clinical experience of anti-Xa monitoring in critically ill dogs receiving dalteparin. *J Vet Emerg Crit Care* 2014; 24: 421-8.

Macartney L, Thompson H, McCandlish IA, Cornwell HJ. Canine parvovirus: interaction between passive immunity and virulent challenge. *Vet Rec* 1988; 122: 573-6.

Macintire D, Smith-Carr S. Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis,

and treatment. *Comp Cont Ed Pract Vet* 1997; 19: 291-302.

Macintire D, Smith-Carr S, Jones R, Swango L. Treatment of dogs naturally infected with canine parvovirus with lyophilized canine IgG. Proceedings of the 17th Annual Conference of the American College of Veterinary Internal Medicine, 1999 June 10-13. Chicago, USA: 721.

Mann FA, Boon GD, Wagner-Mann CC, Ruben DS, Harrington DP. Ionized and total magnesium concentrations in blood from dogs with naturally acquired parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 1398-401.

Mantione NL, Otto CM. Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated at a veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 1787-93.

Martin V, Najbar W, Gueguen S, Grousseau D, Eun HM, Lebreux B, Aubert A. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Vet Microbiol* 2002; 89: 115-27.

Martyn JC, Davidson BE, Studdert MJ. Nucleotide sequence of feline panleukopenia virus: comparison with canine parvovirus identifies host-specific differences. *J Gen Virol* 1990; 71 (Pt 11): 2747-53.

Mathews KA, Barry M. The use of 25% human serum albumin: outcome and efficacy in raising serum albumin and systemic blood pressure in critically ill dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care* 2005; 15: 110-8.

Mathews KA. The therapeutic use of 25% human serum albumin in critically ill dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008; 38: 595-605.

Mayr A, Mayr B. A new concept in prophylaxis and therapy: paramunization by poxvirus inducers. *Pesqui Vet Bras* 1999; 19: 91-8.

Mayr B, Deininger S, Büttner M. Treatment of Chronic Stomatitis of Cats by Local Paramunization with PIND-ORF. *Zentralbl Veterinarmed B* 1991; 38: 78-80.

Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *J Vet Emerg Crit Care* 2002; 12: 113-24.

McCullers JA. Effect of antiviral treatment on the outcome of secondary bacterial pneumonia after influenza. *J Infect Dis* 2004; 190: 519-26.

McLaughlin CM, Marks SL, Dorman DC, Motsinger-Reif A, Hanel RM. Thromboelastographic monitoring of the effect of unfractionated heparin in healthy dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2017; 27: 71-81.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Lanieu ME, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. *Vet Pathol* 1985a; 22: 617-24.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. *Vet Pathol* 1985b; 22: 60-71.

Mila H, Grellet A, Mariani C, Feugier A, Guard B, Suchodolski J, Steiner J, Chastant-Maillard S. Natural and artificial hyperimmune solutions: Impact on health in puppies. *Reprod Domest Anim* 2016; DOI 10.1111/rda.12824.

Minagawa T, Ishiwata K, Kajimoto T. Feline interferon-omega treatment on canine parvovirus infection. *Vet Microbiol* 1999; 69: 51-3.

Mischke R, Grebe S, Jacobs C, Kietzmann M. Amidolytic heparin activity and values for several hemostatic variables after repeated subcutaneous administration of high doses of a low molecular weight heparin in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2001a; 62: 595-8.

Mischke R, Barth T, Wohlsein P, Rohn K, Nolte I. Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) on leukocyte count and survival rate of dogs with parvoviral enteritis. *Res Vet Sci* 2001b; 70: 221-5.

Mischke R, Fehr M, Nolte I. Efficacy of low molecular weight heparin in a canine model of thromboplastin-induced acute disseminated intravascular coagulation. *Res Vet Sci* 2005; 79: 69-76.

Mochizuki M, Nakatani H, Yoshida M. Inhibitory effects of recombinant feline interferon on the replication of feline enteropathogenic viruses in vitro. *Vet Microbiol* 1994; 39: 145-52.

Mohr AJ, Leisewitz AL, Jacobson LS, Steiner JM, Ruaux CG, Williams DA. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 791-8.

Moore FA, Feliciano DV, Andrassy RJ, McArdle AH, Booth FV, Morgenstein-Wagner TB, Kellum JM, Jr., Welling RE, Moore EE. Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications. The results of a meta-analysis. *Ann Surg* 1992; 216: 172-83.

Moore LE. Fluid therapy in the hypoproteinemic patient. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1998; 28: 709-15.

Müller B, Kräusslich HG. Antiviral strategies. *Handb Exp Pharmacol* 2009: 1-24.

Nakamura K, Ikeda Y, Miyazawa T, Tohya Y, Takashi E, Mochizuki M. Characterisation of cross-reactivity of virus neutralising antibodies by feline panleukopenia virus and canine parvovirus. *Res Vet Sci* 2001; 71: 219-22.

Nandi S, Chidri S, Kumar M, Chauhan RS. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the dogs with haemorrhagic enteritis in India. *Res Vet Sci* 2010; 88: 169-71.

Nelson RW, Delaney SJ. Electrolyte Imbalances. In: Small Animal Internal Medicine, 5 edn. Nelson RW, Couto CG, eds.: Elsevier 2014: 877-96.

Otto CM, Drobatz KJ, Soter C. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med* 1997; 11: 65-70.

Otto CM, Rieser TM, Brooks MB, Russell MW. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 217: 1500-4.

Otto CM, Jackson CB, Rogell EJ, Prior RB, Ammons WS. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 355-60.

Paquette F, Bernier-Jean A, Brunette V, Ammann H, Lavergne V, Pichette V, Troyanov S, Bouchard J. Acute Kidney Injury and Renal Recovery with the Use of Aminoglycosides: A Large Retrospective Study. *Nephron* 2015; 131: 153-60.

Parrish CR, Have P, Foreyt WJ, Evermann JF, Senda M, Carmichael LE. The global spread and replacement of canine parvovirus strains. *J Gen Virol* 1988; 69 (Pt 5): 1111-6.

Parrish CR. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 1999; 69: 29-40.

Perner A, Haase N, Guttormsen AB, Tenhunen J, Klemenzson G, Aneman A, Madsen KR, Moller MH, Elkjaer JM, Poulsen LM, Bendtsen A, Winding R, Steensen M, Berezowicz P, Soe-Jensen P, Bestle M, Strand K, Wiis J, White JO, Thornberg KJ, Quist L, Nielsen J, Andersen LH, Holst LB, Thormar K, Kjaeldgaard AL, Fabritius ML, Mondrup F, Pott FC, Moller TP, Winkel P, Wetterslev J. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med* 2012; 367: 124-34.

Plumb DC. Plumb's Veterinary Drug Handbook, 8 edn. Wiley Blackwell; 2005; 1279.

Pollock RV, Carmichael LE. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 37-42.

Pratelli A, Cavalli A, Normanno G, De Palma MG, Pastorelli G, Martella V, Buonavoglia C. Immunization of pups with maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV) using a modified-live variant (CPV-2b). *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2000; 47: 273-6.

Pratelli A, Cavalli A, Martella V, Tempesta M, Decaro N, Carmichael LE, Buonavoglia C. Canine parvovirus (CPV) vaccination: comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 612-5.

Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 167-76.

Proksch AL, Unterer S, Truyen U, Hartmann K. Efficacy of the paramunity inducer PIND-ORF in the treatment of canine parvovirus infection. *Vet J* 2014; 202: 340-7.

Proksch AL, Unterer S, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *Vet J* 2015; 204: 304-8.

Pu R, Okada S, Little ER, Xu B, Stoffs WV, Yamamoto JK. Protection of neonatal kittens against feline immunodeficiency virus infection with passive maternal antiviral antibodies. *AIDS* 1995; 9: 235-42.

Ramsey DS, Kincaid K, Watkins JA, Boucher JF, Conder GA, Eagleson JS,

Clemence RG. Safety and efficacy of injectable and oral maropitant, a selective neurokinin 1 receptor antagonist, in a randomized clinical trial for treatment of vomiting in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2008; 31: 538-43.

Reuter JD, Marks SL, Rogers QR, Farver TB. Use of Total Parenteral Nutrition in Dogs: 209 Cases (1988-1995). *J Vet Emerg Crit Care* 1998; 8: 201-13.

Reviewers CIGA. Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ* 1998; 317: 235-40.

Rewerts JM, McCaw DL, Cohn LA, Wagner-Mann C, Harrington D. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor for treatment of puppies with neutropenia secondary to canine parvovirus infection. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 991-2.

Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 1368-77.

Rudloff E, Kirby R. Hypovolemic shock and resuscitation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994; 24: 1015-39.

Ruehl W, Mills C, Feldman BF. Rational therapy in disseminated intravascular coagulation. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 76-8.

Ryan C, Giguere S, Fultz L, Long MT, Crawford PC. Effects of two commercially available immunostimulants on leukocyte function of foals following ex vivo exposure to *Rhodococcus equi*. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 138: 198-205.

Salter BS, Weiner MM, Trinh MA, Heller J, Evans AS, Adams DH, Fischer GW. Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Comprehensive Clinical Review. *J Am Coll Cardiol* 2016; 67: 2519-32.

Savigny MR, Macintire DK. Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *J Vet Emerg Crit Care* 2010; 20: 132-42.

Sawyer LA. Antibodies for the prevention and treatment of viral diseases. *Antiviral Res* 2000; 47: 57-77.

Schultz RD, Thiel B, Mukhtar E, Sharp P, Larson LJ. Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *J Comp Pathol* 2010; 142 Suppl 1: S102-8.

Schutter AF, Tunsmeier J, Kastner SB. Influence of metamizole on 1) minimal alveolar concentration of sevoflurane in dogs and 2) on thermal and mechanical nociception in conscious dogs. *Vet Anaesth Analg* 2016; 43: 215-26.

Scott KC, Hansen BD, DeFrancesco TC. Coagulation effects of low molecular weight heparin compared with heparin in dogs considered to be at risk for clinically significant venous thrombosis. *J Vet Emerg Crit Care* 2009; 19: 74-80.

Sedlacek HS, Ramsey DS, Boucher JF, Eagleson JS, Conder GA, Clemence RG. Comparative efficacy of maropitant and selected drugs in preventing emesis induced by centrally or peripherally acting emetogens in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2008; 31: 533-7.

Serpa Neto A, Veelo DP, Peireira VG, de Assuncao MS, Manetta JA, Esposito DC, Schultz MJ. Fluid resuscitation with hydroxyethyl starches in patients with sepsis is associated with an increased incidence of acute kidney injury and use of renal replacement therapy: a systematic review and meta-analysis of the literature. *J Crit Care* 2014; 29: 185.e1-7.

Shackelton LA, Parrish CR, Truyen U, Holmes EC. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 379-84.

Siedek EM, Schmidt H, Sture GH, Raue R. Vaccination with canine parvovirus

type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berl Münch tierärztl Wochenschr* 2011; 124: 58-64.

Silverstein D, Hopper K. Parenteral Nutrition. In: *Small Animal Critical Care Medicine*, 2nd edn. Silverstein D, Hopper K, eds.: Elsevier 2014: 687-90.

Smiley LE, Garvey MS. The use of hetastarch as adjunct therapy in 26 dogs with hypoalbuminemia: a phase two clinical trial. *J Vet Intern Med* 1994; 8: 195-202.

Smith-Carr S, Macintire D, Swango L. Canine parvovirus: Part I. Pathogenesis and Vaccination. *Comp Cont Ed Pract Vet* 1997; 19: 125-33.

Smith SA. Antithrombotic therapy. *Top. Companion Anim Med* 2012; 27: 88-94.

Spibey N, Greenwood NM, Sutton D, Chalmers WS, Tarpey I. Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Vet Microbiol* 2008; 128: 48-55.

Spillmann T, Gerwing M, Michele U, Bauer C, Kopf N, Rössel C, Fahrenkrug P. Verdauungsorgane. In: *Klinik der Hundekrankheiten*, 3 edn. Grünbaum E, Schimke E, eds.: Enke 2006: 451-620.

Stiehm ER. Appropriate therapeutic use of immunoglobulin *Transfus Med Rev* 1996; 10: 203-21.

Streck AF, Ruster D, Truyen U, Homeier T. An updated TaqMan real-time PCR for canine and feline parvoviruses. *J Virol Methods* 2013; 193: 6-8.

Strube W, Kretzdorn D, Grunmach J, Bergle RD, Thein P. [The effectiveness of the paramunity inducer Baypamun (PIND-ORF) for the prevention and metaphylaxis of an experimental infection with the infectious bovine rhinotracheitis virus in cattle]. *Tierärztl Prax* 1989; 17: 267-72.

Stump DC, Strauss RG, Henriksen RA, Petersen RE, Saunders R. Effects of hydroxyethyl starch on blood coagulation, particularly factor VIII. *Transfusion (Paris)* 1985; 25: 349-54.

Sutalo S, Ruetten M, Hartnack S, Reusch CE, Kook PH. The effect of orally administered ranitidine and once-daily or twice-daily orally administered omeprazole on intragastric pH in cats. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 840-6.

Sutton D, Vinberg C, Gustafsson A, Pearce J, Greenwood N. Canine parvovirus type 2c identified from an outbreak of severe gastroenteritis in a litter in Sweden. *Acta Vet Scand* 2013; 55: 64.

Tatsuo MA, Carvalho WM, Silva CV, Miranda AE, Ferreira SH, Francischi JN. Analgesic and antiinflammatory effects of dipyron in rat adjuvant arthritis model. *Inflammation* 1994; 18: 399-405.

Tolbert K, Bissett S, King A, Davidson G, Papich M, Peters E, Degernes L. Efficacy of oral famotidine and 2 omeprazole formulations for the control of intragastric pH in dogs. *J Vet Intern Med* 2011; 25: 47-54.

Truyen U. [Canine parvovirus: recent knowledge of the origin and development of a viral pathogen]. *Tierärztl Prax* 1994; 22: 579-84.

Truyen U, Blewaska S, Schultheiss U. Untersuchung der antiviralen Wirksamkeit von Interferon-Omega gegenausgewählte Viren von Hund und Katze. *Prakt Tierarzt* 2002; 83: 862-65.

Truyen U. Evolution of canine parvovirus--a need for new vaccines? *Vet Microbiol* 2006; 117: 9-13.

Truyen U, Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Horzinek MC. Feline panleukopenia. *ABCD*

guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 538-46.

Truyen U, Parrish CR. Feline panleukopenia virus: Its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen. *Vet Microbiol* 2013; 165: 29-32.

Turk J, Miller M, Brown T, Fales W, Fischer J, Gosser H, Nelson S, Shaw D, Solorzano R. Coliform septicemia and pulmonary disease associated with canine parvoviral enteritis: 88 cases (1987-1988). *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 771-3.

Van Nguyen S, Umeda K, Yokoyama H, Tohya Y, Kodama Y. Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. *Can J Vet Res* 2006; 70: 62-4.

Vandiver JW, Vondracek TG. Antifactor Xa levels versus activated partial thromboplastin time for monitoring unfractionated heparin. *Pharmacotherapy* 2012; 32: 546-58.

Venturini CM, Isakson P, Needleman P. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced renal failure: a brief review of the role of cyclo-oxygenase isoforms. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 79-82.

Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost* 2015; 41: 49-60.

Wessels B, Gaffin S. Anti-endotoxin immunotherapy for canine parvovirus endotoxaemia. *J Small Anim Pract* 1986; 27: 609-15.

Wilkes MM, Navickis RJ. Patient survival after human albumin administration. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2001; 135: 149-64.

Willard M. Digestive System Disorders - Canine Parvoviral Enteritis. In: Small Animal Internal Medicine, 5 edn. Nelson R, Couto C, eds.: Elsevier 2014a: 457-60.

Willard MD. Digestive System Disorders - General Therapeutic Principles. In: Small Animal Internal Medicine, 5 edn. Nelson RW, Couto CG, eds.: Elsevier 2014b: 410-27.

Wilson S, Illambas J, Siedek E, Stirling C, Thomas A, Plevova E, Sture G, Salt J. Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralising antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. *Vaccine* 2014; 32: 5420-4.

Yoshida K, Yabe K, Nishida S, Yamamoto N, Ohshima C, Sekiguchi M, Yamada K, Furuhashi K. Pharmacokinetic disposition and arthropathic potential of oral ofloxacin in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 1998; 21: 128-32.

Zukowski M, Kotfis K. [Safety of metamizole and paracetamol for acute pain treatment]. *Anestezjol Intens Ter* 2009; 41: 170-5.

VIII. ANHANG

Supplementary Table 1

Signalment of dogs in the Feliserin and placebo group.

	Feliserin (n=15)	Placebo (n=16)
Gender	Male (n=9) Female (n=6)	Male (n=9) Female (n=7)
Breed	Crossbred (n=2) Purebred (n=13)	Crossbred (n=4) Purebred (n=12)
Age (weeks)	Median 8.0 (range, 8–438)	Median 8.0 (range, 8–102)
Bodyweight (kg)	Median 3.8 (range, 0.6–29.3)	Median 2.9 (range, 0.78–48.0)

Supplementary Table 2

Standardised symptomatic treatment.

Drug	Dosage	Day of treatment
Amoxicillin-clavulanate ^a	20 mg/kg intravenously/orally	0-7
^b	every 12 h	
Cefotaxime ^{c, d}	50 mg/kg	0-7
	intravenously/subcutaneously	
	every 8 h	
Ranitidine ^{e, f}	1 mg/kg intravenously/orally	0-7
	every 8 h	
Maropitant ^g	1 mg/kg subcutaneously every 24 h	0-3
Buprenorphine ^{h, i}	0.01 mg/kg	0-3
	intravenously/subcutaneously	
	every 6 h	
Dalteparin-sodium ^j	75 U/kg subcutaneously every 8 h	0-5
	38 U/kg subcutaneously every 8 h	6
	19 U/kg subcutaneously every 8 h	7

^a AmoxiClav Hikma, Hikma Pharma.^b Synulox 50 mg, 250 mg, 500 mg, Zoetis.^c Claforan, 0.5 g, 1 g, 2 g, Sanofi-Aventis.^d Cefotaxim 0,5 g, 1 g, 2 g, Eberth.^e Ranitic inject, Hexal.^f Ranitidin 75 – 1A, Pharma.^g Cerenia, Zoetis.^h Vetergesic Multidose 0.3 mg/ml Injektionslösung für Hunde und Katzen, Ecuphar.ⁱ Buprenovet 0.3 mg/ml Injektionslösung für Hunde und Katzen, Bayer Vital.^j Fragmin D, Pharmacia/Pfizer.

Supplementary Table 3

Scoring system for clinical parameters according to severity of clinical signs (PROKSCH et al., 2014; PROKSCH et al., 2015).

Parameter	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Faecal composites	None	Mucus	Blood admixed	Bloody
Frequency of defecation	1/day	2–3/day	4–5/day	>5/day
Vomiting	No vomiting	1/day	2–3/day	>3/day
General condition	Normal	Mildly depressed	Moderate depressed	Severely depressed
Appetite	Normal	Mildly decreased	Moderate decreased	Severely decreased
Dehydration	No dehydration	<5%	5–10%	>10%

Supplementary Table 4

Clinical parameters assessed in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Shown are mean values, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7, and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7, and 14 v day 0).

	Day	Feliserin mean \pm SD	Placebo mean \pm SD	P Feliserin v placebo	P Feliserin day 0 v 3, 7, 14	P Placebo day 0 v 3, 7, 14
General condition (Score 0-3)	0	1.7 \pm 1.1	2.2 \pm 1.1	NS		
	3	0.6 \pm 1.0	0.9 \pm 0.9	NS	NS	NS
	7	0.2 \pm 0.7	0.4 \pm 1.0	NS	NS	<0.010
	14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	NS	<0.050	<0.001
Appetite (Score 0-3)	0	1.7 \pm 1.4	1.9 \pm 1.4	NS		
	3	1.1 \pm 1.5	1.7 \pm 1.5	NS	NS	NS
	7	0.2 \pm 0.7	0.6 \pm 1.2	NS	NS	NS
	14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	NS	NS	<0.050
Dehydration (Score 0-3)	0	1.5 \pm 1.1	1.6 \pm 0.8	NS		
	3	0.4 \pm 0.6	0.3 \pm 0.4	NS	NS	<0.010
	7	0.1 \pm 0.3	0.2 \pm 0.0	NS	<0.050	<0.001
	14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	NS	<0.010	<0.001
Vomiting (Score 0-3)	0	1.7 \pm 1.4	1.1 \pm 1.3	NS		
	3	0.7 \pm 1.3	0.5 \pm 0.9	NS	NS	NS
	7	0.3 \pm 1.0	0.2 \pm 0.6	NS	NS	NS
	14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	NS	<0.050	NS
Frequency of defecation (Score 0-3)	0	2.5 \pm 0.8	2.1 \pm 1.3	NS		
	3	1.0 \pm 1.2	1.7 \pm 1.0	NS	NS	NS
	7	0.6 \pm 1.0	0.6 \pm 0.8	NS	<0.010	NS
	14	0.1 \pm 0.3	0.4 \pm 0.7	NS	<0.001	<0.050
Faecal composites (Score 0-3)	0	1.3 \pm 1.1	1.6 \pm 1.2	NS		
	3	1.0 \pm 1.3	1.2 \pm 1.3	NS	NS	NS
	7	0.2 \pm 0.4	0.4 \pm 1.0	NS	NS	NS
	14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	NS	NS	<0.010
Purina Faecal Score (Score 1-7)	0	6.1 \pm 0.9	6.4 \pm 0.8	NS		
	3	5.5 \pm 1.3	6.2 \pm 1.2	NS	NS	NS
	7	4.6 \pm 1.0	4.5 \pm 1.0	NS	NS	<0.050
	14	4.0 \pm 0.0	4.1 \pm 0.3	NS	<0.010	<0.001
Clinical score (Score 1-25)	0	16.1 \pm 5.9	16.9 \pm 4.5	NS		
	3	8.9 \pm 6.3	11.1 \pm 6.1	NS	NS	NS
	7	6.2 \pm 4.9	6.5 \pm 4.5	NS	<0.050	<0.010
	14	4.1 \pm 0.3	4.5 \pm 0.9	NS	<0.001	<0.001

NS, not significant; SD, standard deviation.

Supplementary Table 5

Laboratory parameters assessed in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Shown are mean values, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7, and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7 and 14 v day 0). Blood parameters after administration of blood transfusions (Feliserin n=2, placebo n=1) and values of albumin, total protein and globulins after administration of fresh frozen plasma (Feliserin n=1, placebo n=2) or human albumin (Feliserin n=2, placebo n=1) were excluded. Blood of dogs <1.5 kg bodyweight was drawn every second day.

	Day	Feliserin mean \pm SD	Placebo mean \pm SD	P Feliserin v placebo	P Feliserin day 0 v 3, 7, 14	P Placebo day 0 v 3, 7, 14
WBC ($\times 10^9/l$)	0	8.303 \pm 6.343	10.460 \pm 6.570	NS		
	3	7.520 \pm 7.342	5.028 \pm 4.820	NS	NS	NS
	7	10.110 \pm 8.210	18.360 \pm 12.820	NS	NS	NS
	14	12.620 \pm 3.381	20.930 \pm 17.150	NS	NS	NS
Neutrophils ($\times 10^9/l$)	0	4.825 \pm 4.371	7.045 \pm 6.617	NS		
	3	5.560 \pm 6.128	2.296 \pm 4.059	NS	NS	NS
	7	5.718 \pm 7.272	12.980 \pm 9.496	NS	NS	NS
	14	7.857 \pm 3.095	13.650 \pm 6.290	NS	NS	NS
Lymphocytes ($\times 10^9/l$)	0	1.333 \pm 0.881	1.295 \pm 0.750	NS		
	3	2.445 \pm 1.189	2.208 \pm 1.638	NS	NS	NS
	7	4.373 \pm 3.085	4.253 \pm 1.548	NS	NS	NS
	14	4.313 \pm 1.564	3.595 \pm 1.735	NS	NS	NS
Platelets ($\times 10^9/l$)	0	283.9 \pm 233.0	247.7 \pm 130.5	NS		
	3	322.2 \pm 279.2	353.1 \pm 221.6	NS	NS	NS
	7	410.9 \pm 195.5	367.5 \pm 199.4	NS	NS	NS
	14	399.0 \pm 157.2	442.1 \pm 198.7	NS	NS	NS
HCT (%)	0	35.8 \pm 7.0	36.8 \pm 9.5	NS		
	3	30.3 \pm 4.4	31.8 \pm 6.9	NS	NS	NS
	7	31.6 \pm 4.6	32.1 \pm 4.5	NS	NS	NS
	14	34.6 \pm 4.1	32.8 \pm 5.3	NS	NS	NS
Total protein (g/l)	0	42.90 \pm 9.77	37.21 \pm 6.24	NS		
	3	41.31 \pm 8.30	35.69 \pm 11.78	NS	NS	NS
	7	49.52 \pm 10.14	38.33 \pm 10.98	NS	NS	NS
	14	46.54 \pm 4.82	45.71 \pm 7.48	NS	NS	NS
Albumin (g/l)	0	26.23 \pm 6.61	21.52 \pm 6.06	NS		
	3	22.27 \pm 6.93	19.09 \pm 8.43	NS	NS	NS
	7	27.64 \pm 3.86	22.82 \pm 8.46	NS	NS	NS
	14	31.09 \pm 3.15	29.96 \pm 6.02	NS	NS	NS
Globulins (g/l)	0	16.67 \pm 5.92	15.69 \pm 2.97	NS		
	3	19.04 \pm 4.08	16.60 \pm 4.03	NS	NS	NS
	7	21.87 \pm 9.69	15.51 \pm 3.54	NS	NS	NS
	14	15.46 \pm 1.95	15.75 \pm 3.09	NS	NS	NS

HCT, haematocrit; NS, not significant; SD, standard deviation; WBC, white blood cells.

Supplementary Table 6

CPV antibody titres in serum neutralisation assay of individual dogs. Specific antibody titres of dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo on days 0, 3, 7, and 14 are demonstrated. Sera of dogs receiving whole blood products or fresh frozen plasma were excluded.

Antibody titres to CPV	Dog	Day 0	Day 3	Day 7	Day 14
Feliserin group	1	1:1280	1:1280	1:640	1:640
	2	<1:10	n.d.	1:1280	1:1280
	3	<1:10	n.d.	1:640	1:1280
	4	<1:10	n.d.	1:1280	1:640
	5	<1:10	n.d.	1:1280	1:1280
	6	1:640	1:1280	1:2560	1:2560
	7	1:320	1:640	n.d.	1:640
	8	1:320	1:640	n.d.	n.d.
	9	1:320	1:2560	1:1280	1:1280
	10	1:1280	1:2560	1:2560	1:1280
	11	1:640	1:320	n.d.	n.d.
	12	1:5120	1:5120	1:2560	n.d.
	13	1:40	1:1280	n.d.	n.d.
	14	1:1280	1:1280	n.d.	n.d.
Placebo group	1	1:320	1:640	n.d.	1:640
	2	1:80	n.d.	n.d.	n.d.
	3	<1:10	n.d.	1:1280	1:1280
	4	1:20	n.d.	1:320	1:1280
	5	<1:10	n.d.	n.d.	1:640
	6	<1:10	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	1:1280	1:2560	1:1280
	8	<1:10	n.d.	n.d.	n.d.
	9	<1:10	1:320	1:320	n.d.
	10	1:640	1:1280	n.d.	1:1280
	11	1:320	1:640	1:1280	1:1280
	12	1:160	1:320	1:640	1:2560
	13	1:640	1:640	1:1280	1:2560
	14	<1:10	1:320	1:320	1:1280
	15	1:640	1:640	1:1280	1:1280
	16	1:40	1:160	n.d.	n.d.

CPV, canine parvovirus; n.d., not determined.

Supplementary Table 7

Faecal CPV virus load (gene copies/g faeces) by quantitative real-time PCR in dogs receiving Feliserin Plus and dogs receiving placebo. Mean values of faecal CPV copies, standard deviations, and P values of comparing groups on days 0, 3, 7, and 14 and between groups at different points in time (days 3, 7, and 14 v day 0) are shown. Log-transformation of CPV DNA copy data was performed.

Day	Mean \pm SD Feliserin CPV copies y=log (y)	Mean \pm SD Placebo CPV copies y=log (y)	P Feliserin v placebo	P Feliserin day 0 v 3, 7, 14	P Placebo day 0 v 3, 7, 14
0	7.559 \pm 3.057	8.923 \pm 1.740	NS		
3	5.250 \pm 3.728	6.071 \pm 2.727	NS	NS	NS
7	5.942 \pm 1.192	5.047 \pm 1.859	NS	NS	NS
14	4.120 \pm 1.567	3.706 \pm 1.807	NS	NS	<0.001

CPV, canine parvovirus; NS, not significant; SD, standard deviation.

Supplementary Table 8

CPV shedding in dogs receiving Feliserin and dogs receiving placebo. Percentage of CPV-shedding dogs, number of investigated faecal samples, and P values of comparing numbers of CPV-shedding dogs between groups on days 0, 3, 7, and 14 are shown.

	Percent of CPV-shedding dogs		P Feliserin v placebo
	Feliserin	Placebo	
Day 0	93 % (n=15)	100% (n=15)	1.000
Day 3	88% (n=8)	89 % (n=9)	1.000
Day 7	89% (n=9)	91% (n=11)	1.000
Day 14	89% (n=9)	84% (n=12)	1.000

CPV, canine parvovirus.

IX. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich noch einige Menschen erwähnen, die mir über die Jahre bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite standen. Zuerst möchte ich mich sehr herzlich bei meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann, bedanken. Sie hat über die Jahre nie den Glauben an mein Thema und mich verloren, und mich immer wieder motiviert, auch in Zeiten, in denen die Studientiere ausblieben oder die Veröffentlichung nur schleppend voranging. Vielen Dank für die unermüdlichen Korrekturen der Paper und des Manuskripts und die immer konstruktiven Besprechungen.

Desweiteren möchte ich ein großes Lob und Dankeschön an Dr. Lena Proksch aussprechen, ohne sie hätte ich diese Arbeit wahrscheinlich zwischendurch ad acta gelegt. Sie hatte stets ein offenes Ohr für mich und hat mich in allen Belangen der Studie beraten und unterstützt.

Vielen Dank an Prof. Dr. Ralf Müller für die Hilfe bei der statistischen Auswertung und die vielen konstruktiven Gespräche, die mich immer wieder aufgebaut haben.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Dr. Stephanie Speck, Prof. Dr. Uwe Truyen und Frau Leinecker aus Leipzig für die Bearbeitung meiner Proben und die stets gute Zusammenarbeit und Kommunikation.

Ein großes Dankeschön gilt auch allen Mitarbeitern der Medizinischen Kleintierklinik, die mir beim Sammeln der Proben und der medizinischen Versorgung und Betreuung der vielen Welpen geholfen haben. Die Zusammenarbeit mit allen war toll und ich habe in den zwei Jahren an der Klinik viel lernen dürfen und viele wunderbare Freunde gewonnen.

Ebenfalls vielen Dank an das gesamte alte und neue Team der Tierarztpraxis Lentrodt für die jahrelange Motivation und den Glauben daran, dass ich die Dissertation doch noch irgendwann zu Ende bringe (Dr. Mo!).

Ohne den Rückhalt meiner Familie und Freunde wäre diese Arbeit nicht entstanden. Ich bin froh, dass es euch gibt. Ihr hattet immer Vertrauen in mich, hattet stets ein offenes Ohr und habt mich niemals Zweifel an der Fertigstellung dieser Arbeit spüren lassen. Jeden einzelnen an dieser Stelle zu nennen würde

leider den Rahmen sprengen. Ein besonderer Dank geht an Petra, Zoe, Dieter, Jogo, Angelika, Christel, Rainer, Lore und Peter. Und an Lotte, die sich hoffentlich von oben mit mir freut. Danke Chrissi, dass du immer für mich da bist. Vielen Dank an Michael für die jahrelange und geduldige Unterstützung in jeder Hinsicht. Danke an Almuth, Franzi, Martina, Sophie und Rike für all die Jahre. Danke an Raffael, Jochen und Chris für die wöchentliche Portion Zerstreung und Rock'n'Roll.