

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I
Innere Krankheiten der Kleintiere
und dem
Institut für Virologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Untersuchung verschiedener klinischer, hämatologischer,
serologischer und immunologischer Parameter
bei Katzen mit Katzenschnupfen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Christian Bildhauer

Gießen 2001

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I
Innere Krankheiten der Kleintiere
Betreuer: Prof. Dr. E.-G. Grünbaum

und dem

Institut für Virologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. L. Stitz

**Untersuchung verschiedener klinischer, hämatologischer,
serologischer und immunologischer Parameter
bei Katzen mit Katzenschnupfen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Christian Bildhauer
Tierarzt aus Gelsenkirchen

Gießen 2001

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

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

1. Berichterstatter: Prof. Dr. E.-G. Grünbaum, Prof. Dr. L. Stitz
2. Berichterstatter: Prof. Dr. T. Rümenapf

Tag der mündlichen Prüfung: 08.08.2001

Meinen Eltern
und
Claudia

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Literaturübersicht | 2 |
| 2.1. Katzenschnupfenkomplex, Ätiologie | 2 |
| 2.1.1. Felines Herpesvirus 1 (FHV 1) | 2 |
| 2.1.1.1. Virusmorphologie und antigene Eigenschaften | 3 |
| 2.1.1.2. Widerstandsfähigkeit des FHV 1 gegen äußere Einwirkungen | 4 |
| 2.1.1.2.1. Chemische Faktoren | 4 |
| 2.1.1.2.2. Physikalische Faktoren | 5 |
| 2.1.1.3. Pathogenese | 6 |
| 2.1.1.3.1. Lokale Entwicklung | 6 |
| 2.1.1.3.2. Systemische Auswirkungen | 7 |
| 2.1.1.3.3. Augenveränderungen durch FHV-1-Infektionen | 8 |
| 2.1.1.4. Krankheitssymptome | 9 |
| 2.1.1.5. Epizootiologie | 11 |
| 2.1.1.5.1. Virusausscheidung und Übertragung | 11 |
| 2.1.1.5.1.1. Horizontale Übertragung des FHV 1 | 11 |
| 2.1.1.5.1.2. Vertikale Übertragung des FHV 1 | 11 |
| 2.1.1.5.1.3. Inkubationszeit und Krankheitsdauer | 13 |
| 2.1.1.5.2. Krankheitsdauer und -verlauf | 13 |
| 2.1.1.6. Nachweis von FHV-1-Infektionen | 14 |
| 2.1.1.6.1. Nachweishäufigkeit von FHV-1-Infektionen bei klinisch kranken Katzen | 16 |
| 2.1.1.7. Begriffsbestimmung: Viruslatenz | 17 |
| 2.1.1.7.1. Latenz bei FHV-1-Infektionen | 18 |
| 2.1.1.7.1.1. Virusisolation bei latenten FHV-1-Infektionen | 19 |
| 2.1.1.8. Reaktivierung von latenten FHV-1-Infektionen | 20 |
| 2.1.1.8.1. Nachweis des FHV 1 in der Zellkultur nach Reaktivierung latenter Infektionen | 20 |
| 2.1.1.8.2. Nachweis des FHV 1 mittels PCR nach Reaktivierung latenter Infektionen | 21 |
| 2.1.1.9. Bildung von Serumantikörpern gegen das FHV 1 | 22 |
| 2.1.1.9.1. Antikörperbildung nach experimenteller Infektion | 22 |
| 2.1.1.9.2. Antikörperbildung nach Impfung gegen das FHV 1 | 24 |
| 2.1.1.9.3. Übertragung von Antikörpern vom Muttertier auf die Katzenwelpen | 25 |

| | |
|--|----|
| 2.1.1.9.4. Antikörperprävalenz in natürlichen FHV-1-Infektionen | 26 |
| 2.1.1.10. Grundsätzliche Mechanismen der humoralen und der zellulären Immunität | 28 |
| 2.1.1.10.1. Zelluläre und humorale Abwehrmechanismen bei FHV-1-Infektionen | 29 |
| 2.1.2. Feline Caliciviren (FCV) | 31 |
| 2.1.2.1. Virusmorphologie und antigene Eigenschaften | 31 |
| 2.1.2.2. Widerstandsfähigkeit des FCV gegen äußere Einflüsse | 32 |
| 2.1.2.2.1. Chemische Faktoren | 32 |
| 2.1.2.2.2. Physikalische Faktoren | 32 |
| 2.1.2.3. Pathogenese | 32 |
| 2.1.2.4. Epizootiologie | 33 |
| 2.1.2.4.1. Übertragung und Inkubation | 33 |
| 2.1.2.4.2. Krankheitssymptome, -dauer und -verlauf | 34 |
| 2.1.2.5. Nachweis von FCV-Infektionen | 35 |
| 2.1.2.6. Bildung von Serumantikörpern gegen das FCV | 36 |
| 2.1.3. Reoviren | 37 |
| 2.1.4. Chlamydien | 38 |
| 2.1.5. Mykoplasmen | 39 |
| 2.2. Therapeutische Ansatzpunkte bei Katzenschnupfenerkrankungen | 40 |
| 2.2.1. Ätiologische Therapieversuche bei FHV-1-Infektionen | 40 |
| 2.2.1.1. Therapieversuche bei FHV-1-bedingter okulärer Symptomatik | 41 |
| 2.2.2. Weitere Therapieansätze bei FHV-1-bedingter Symptomatik | 43 |
| 2.2.2.1. Paramunitätsinducer und Katzenschnupfen | 43 |
| 2.2.2.2. Interferone und Katzenschnupfen | 43 |
| 2.2.3. Therapiemöglichkeiten bei Calicivirusinfektionen | 44 |
| 2.2.4. Symptomatische Therapie bei an Katzenschnupfensymptomen leidenden Tieren | 45 |
| 2.3. Immunprophylaxe gegen FHV-1- und FCV-Infektionen | 45 |
| 2.3.1. Impfstoffarten | 45 |
| 2.3.2. Applikationsarten von Katzenschnupfenimpfstoffen | 48 |
| 2.3.3. Neuere Wege in der Impfstoffforschung | 49 |
| 2.3.4. Impfschemata | 49 |
| 2.4. Labordiagnostische Untersuchungen bei Katzenschnupfenpatienten | 52 |
| 2.4.1. Untersuchungen des Blutbildes | 52 |
| 2.4.1.1. Rotes Blutbild | 52 |
| 2.4.1.2. Weißes Blutbild | 52 |
| 2.4.1.3. Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil im Blutserum | 53 |
| 2.4.2. Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen | 54 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.2.1. Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen bei SPF- und Nicht-SPF-Katzen | 55 |
| 2.4.3. Lymphozytenproliferationstests | 56 |
| 2.4.3.1. Lymphozytenproliferationstests mit FHV 1 als spezifischem Stimulans bei Katzen | 58 |
| 2.4.3.1.1. Stimulationsreaktionen bei SPF-Katzen nach experimenteller FHV-1-Infektion | 59 |
| 2.4.3.1.2. Stimulationsreaktionen bei SPF-Katzen nach Impfung und experimenteller FHV-1-Infektion | 60 |
| 2.4.3.1.3. Stimulationsreaktionen bei klinisch gesunden, geimpften Katzen | 61 |
| 3. Eigene Untersuchungen | 62 |
| 3.1. Material und Methoden | 62 |
| 3.1.1. Probandenauswahl | 63 |
| 3.1.1.1. Kontrollkatzen | 63 |
| 3.1.1.2. Patienten | 64 |
| 3.1.2. Laborgeräte | 65 |
| 3.1.3. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien | 65 |
| 3.1.4. Medien | 66 |
| 3.1.5. Impfstoffe | 68 |
| 3.1.6. Antikörper für die Immunphänotypisierung | 69 |
| 3.1.6.1. Monoklonale Antikörper | 69 |
| 3.1.6.2. Polyklonale Antikörper | 69 |
| 3.1.7. Sonstiges | 69 |
| 3.2. Methoden | 71 |
| 3.2.1. Klinische Untersuchungen | 71 |
| 3.2.2. Blutentnahmen | 71 |
| 3.2.3. Laboruntersuchungen | 71 |
| 3.2.3.1. Bestimmung des Blutbildes | 72 |
| 3.2.3.2. Bestimmung des Differentialblutbildes | 72 |
| 3.2.3.3. Gesamteiweißkonzentration im Blutserum, Serumalbumin- und -globulinanteil | 72 |
| 3.2.3.4. Virologische Untersuchungen | 73 |
| 3.2.3.4.1. Kultivierung der Felinen Embryonalzelllinie | 73 |
| 3.2.3.4.2. Kultivierung des Felinen Herpesvirusstammes H39 | 73 |
| 3.2.3.4.3. Aufbereitung des FHV 1 | 74 |
| 3.2.3.4.3.1. Virustitrationen | 74 |
| 3.2.3.4.3.2. Inaktivierung des FHV 1 | 75 |
| 3.2.3.4.3.3. Kontrolle der Inaktivierung | 76 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.3.5. Immunologische Untersuchungen | 76 |
| 3.2.3.5.1. Das Prinzip der Durchflußzytometrie | 77 |
| 3.2.3.5.1.1. Immunphänotypisierung peripherer Blutlymphozyten | 77 |
| 3.2.3.5.2. Lymphozytenproliferationstests | 78 |
| 3.2.3.5.2.1. Gewinnung der feline T-Lymphozyten für die Proliferationstests | 79 |
| 3.2.3.5.2.2. Voruntersuchungen zu den Lymphozytenproliferationstests | 80 |
| 3.2.3.5.2.3. Lymphozytenproliferationstests, Hauptuntersuchung | 81 |
| 3.2.4. Statistische Methoden | 84 |
| 3.2.4.1. FeLV- und FIV-Status, FCoV- und FHV-1-Titer | 84 |
| 3.2.4.2. Weißes Blutbild und Lymphozytensubpopulationen | 84 |
| 3.2.4.3. Lymphozytenproliferationstests | 85 |
| 4. Ergebnisse | 86 |
| 4.1. Untersuchungen der Kontrollkatzen | 86 |
| 4.1.1. Ergebnisse der klinischen Untersuchungen | 86 |
| 4.1.2. Ergebnisse der Laboruntersuchungen | 87 |
| 4.1.2.1. Hämatologische Untersuchungen bei den gesunden Kontrollkatzen | 87 |
| 4.1.2.1.1. Rotes Blutbild | 87 |
| 4.1.2.1.2. Weißes Blutbild | 88 |
| 4.1.2.1.3. Gesamteiweißkonzentration im Blutserum, Serumalbumin und -globulinanteil der Kontrollkatzen | 89 |
| 4.1.2.2. Serologische Untersuchungen | 90 |
| 4.1.2.2.1. Untersuchungen auf FeLV und FIV bei den 15 Kontrolltieren | 90 |
| 4.1.2.2.2. Untersuchungen auf Antikörper gegen feline Coronaviren (FCoV-Titer) bei den 15 Kontrolltieren | 90 |
| 4.1.2.2.3. Neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1 | 91 |
| 4.1.2.3. Immunologische Untersuchungen | 91 |
| 4.1.2.3.1. Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen der Kontrollkatzen | 91 |
| 4.1.2.3.2. Ergebnisse der Voruntersuchungen zu den Lymphozytenproliferationstests | 92 |
| 4.1.2.3.2.1. Ergebnisse der FHV-1-Inaktivierung | 93 |
| 4.1.2.3.2.2. Ergebnisse der Lymphozytenisolation via Dichtegradientenzentrifugation | 94 |
| 4.1.2.3.2.3. Ergebnisse der Bestimmung der optimalen Lymphozytenzahl und Con A-Konzentration für den Einsatz in den Proliferationstests | 94 |
| 4.1.2.3.3. Lymphozytenproliferationstests von 15 Kontrollkatzen | 96 |
| 4.2. Ergebnisse der Untersuchungen an 30 Patiententieren | 99 |
| 4.2.1. Klinische Untersuchungen | 99 |
| 4.2.2. Laboruntersuchungen an den 30 Patiententieren | 101 |

| | |
|--|------------|
| 4.2.2.1. Hämatologische Untersuchungen | 101 |
| 4.2.2.1.1. Rotes Blutbild | 101 |
| 4.2.2.1.2. Weißes Blutbild | 102 |
| 4.2.2.1.3. Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil der 30 Patiententiere | 105 |
| 4.2.2.2. Serologische Untersuchungen | 108 |
| 4.2.2.2.1. Untersuchungen auf FeLV und FIV | 108 |
| 4.2.2.2.2. Untersuchungen auf Antikörper gegen feline Coronaviren bei 30 Patientenkatten (FCoV-Titer) | 109 |
| 4.2.2.2.3. Bestimmung der neutralisierenden Serumantikörper gegen das FHV 1 | 111 |
| 4.2.2.3. Immunologische Untersuchungen | 113 |
| 4.2.2.3.1. Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen von 30 Patientenkatten | 113 |
| 4.2.2.3.1.1. Pan T-Lymphozyten | 115 |
| 4.2.2.3.1.2. B-Lymphozyten | 116 |
| 4.2.2.3.1.3. CD4-Lymphozyten | 117 |
| 4.2.2.3.1.4. CD8-Lymphozyten | 118 |
| 4.2.2.3.1.5. CD4-CD8-Quotient | 119 |
| 4.2.2.3.1.6. Lymphozytensubpopulationen der Katzen mit nachgewiesener Retrovirusinfektion | 120 |
| 4.2.2.3.2. Ergebnisse der Lymphozytenproliferationstests der Hauptuntersuchung | 121 |
| 4.2.2.3.2.1. Ergebnisse der Stimulationen mit Con A | 121 |
| 4.2.2.3.2.1.1. Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit der Stimulation in den verschiedenen Gruppen | 121 |
| 4.2.2.3.2.1.2. Einfluß des Krankheitsgrades und des Untersuchungstages auf die Stimulationsfähigkeit der felines Lymphozyten | 122 |
| 4.2.2.3.2.2. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von UV-inaktiviertem FHV | 127 |
| 4.2.2.3.2.3. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von formalininaktiviertem FHV | 128 |
| 4.2.2.3.2.4. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von nicht inaktiviertem FHV | 131 |
| 4.2.2.3.3. Ergebnisse der spezifischen Stimulationen in den Lymphozytenproliferationstests der Hauptuntersuchung | 132 |
| 5. Diskussion | 135 |
| 5.1. Hämatologische Untersuchungen | 135 |
| 5.2. Serologische Untersuchungen auf Antikörper gegen das FHV 1 | 136 |
| 5.3. Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen | 137 |
| 5.4. Lymphozytenproliferationstests | 142 |

| | |
|---------------------------|------------|
| 6. Zusammenfassung | 149 |
| 7. Summary | 151 |
| 8. Literatur | 153 |
| 9. Anhang | I |

TABELLENVERZEICHNIS

| | | |
|-------------|--|-----|
| Tabelle 1: | Temperaturstabilität des FHV 1 (nach JOHNSON, 1966) | 6 |
| Tabelle 2: | Klinische Symptome bei FHV-1- und FIV-/ FHV-1-infizierten Katzen (nach REUBEL et al., 1992) | 10 |
| Tabelle 3: | Inkubationszeiten und Krankheitsdauer bei akuten FHV-1-Infektionen | 13 |
| Tabelle 4: | Prozentuale Häufigkeit der Isolation von Felinem Herpesvirus 1 (FHV 1) und Felinem Calicivirus (FCV) bei klinisch kranken Katzen | 17 |
| Tabelle 5: | Prozentuale Häufigkeit der Isolation von Felinem Herpesvirus 1 (FHV 1) und Felinem Calicivirus (FCV) bei klinisch gesunden Katzen | 19 |
| Tabelle 6: | Abfall der maternalen Antikörper im Serum von Katzenwelpen (nach EDWARDS et al., 1977) | 25 |
| Tabelle 7: | Mechanismen der humoralen und zellulären Immunität (nach KELLER, 1994) | 28 |
| Tabelle 8: | Mögliche Vor- und Nachteile von Impfstoffen (nach LAPPIN, 1998) | 47 |
| Tabelle 9: | Prozentuale Verteilung der Lymphozytensubpopulationen bei Katzen | 57 |
| Tabelle 10: | FHV-1-spezifische Lymphozytenproliferationstests bei Katzen | 58 |
| Tabelle 11: | Percoll-Gradienten-Herstellung | 79 |
| Tabelle 12: | Modifizierte Percoll-Gradienten | 79 |
| Tabelle 13: | Rassenzugehörigkeit, Geschlecht und Alter der 15 Kontrollkatzen | 86 |
| Tabelle 14: | Rotes Blutbild der Kontrollkatzen | 87 |
| Tabelle 15: | Weißes Blutbild der Kontrollkatzen | 88 |
| Tabelle 16: | Gesamteiweiß-, Serumalbumin- und Globulinwerte von 15 Kontrollkatzen | 89 |
| Tabelle 17: | FCoV-Titer der 15 Kontrollkatzen | 90 |
| Tabelle 18: | Neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1 bei 15 Kontrollkatzen | 91 |
| Tabelle 19: | Lymphozytensubpopulationen von 15 Katzen der Kontrollgruppe (prozentuale und absolute Werte) | 92 |
| Tabelle 20: | Voruntersuchung, Stimationsindizes von 9 Katzen bei Einsatz von zwei verschiedenen Zellzahlen und drei Mitogenkonzentrationen | 94 |
| Tabelle 21: | Positive Reagenten nach Con A-Stimulation in der Kontrollgruppe | 96 |
| Tabelle 22: | Stimationsindizes der Katzen der Kontrollgruppe nach Stimulation mit zwei verschiedenen Con A-Konzentrationen | 97 |
| Tabelle 23: | Positive Stimationsindizes in der Kontrollgruppe | 98 |
| Tabelle 24: | Gruppenzugehörigkeit der 30 Patientenkatten | 100 |
| Tabelle 25: | Rotes Blutbild der Patientenkatten | 101 |
| Tabelle 26: | Leukozytenzahlen und -verteilung von 30 Patiententieren, Gesamtübersicht | 102 |
| Tabelle 27: | Geometrische Mittelwerte \pm Streufaktoren ($\bar{x}_g \pm SF$) der Leukozytenzahlen | |

| | |
|---|-----|
| und des Differentialblutbilds der Kontrollkatzen sowie der Gruppen 1 - 3 | 103 |
| Tabelle 28: Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil von 30 Patienten | 105 |
| Tabelle 29: Vergleich der Kontrolltiere und der drei Patientengruppen in Hinblick auf den Globulinanteil im Blutserum | 106 |
| Tabelle 30: Untersuchungen auf das Feline Leukosevirus (FeLV) und das Feline Immundefizienzvirus (FIV) bei 30 Patiententieren | 108 |
| Tabelle 31: FCoV-Titer der 30 Patientenkatten | 109 |
| Tabelle 32: Mittlere FCoV-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3 | 110 |
| Tabelle 33: Mittlere FHV-1-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3 | 112 |
| Tabelle 34: Lymphozytensubpopulationen von 30 Patientenkatten | 113 |
| Tabelle 35: Gegenüberstellung der Lymphozytensubpopulationen der Kontrollgruppe und der 3 Patientengruppen (prozentuale Darstellung) | 114 |
| Tabelle 36: Lymphozytensubpopulationen der FeLV- oder FIV-infizierten Katzen | 120 |
| Tabelle 37: Mittelwerte (\bar{x}) der Stimulationsindizes der Kontrolltiere und der Gruppen 1 - 3 nach Stimulation mit zwei verschiedenen Con A-Konzentrationen | 123 |
| Tabelle 38: Übersicht über Anzahl und Verteilung der Stimulationsindizes $\bar{x} \geq 15$ der drei Krankheitsgruppen | 126 |
| Tabelle 39: Positive Stimulationsindizes durch verschiedene FHV-1-Zubereitungen in den Patientengruppen 1 - 3 und FHV-1-Titer der betreffenden Katzen | 132 |
| Tabelle 40: Anzahl der positiven Stimulationsergebnisse durch FHV-Zubereitungen | 133 |
| Tabelle 41: Von verschiedenen Untersuchern eingesetzte Materialien und Methoden der Probenvorbereitung für die Durchflußzytometrie | 141 |
| Tabelle 42: Lymphozytensubpopulationen bei Katzen (absolute Zahlen) | I |
| Tabelle 43: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 1 | II |
| Tabelle 44: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 2 | II |
| Tabelle 45: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 3 | III |
| Tabelle 46: Mittlere Serumalbumin- und Globulinwerte und die Albumin-Globulin-Quotienten der Gruppen 1 - 3 sowie der Kontrollkatzen | III |
| Tabelle 47: FCoV-Titer der Kontrolltiere und der Katzen der Gruppen 1 - 3 (absolute und prozentuale Werte) | IV |
| Tabelle 48: FHV-1-Neutralisationstiter der Kontrolltiere und der Gruppen 1 - 3 (absolute und prozentuale Werte) | IV |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | | |
|---------------|---|-----|
| Abbildung 1: | Ansatzschema einer 96-Loch-Flachbodenplatte der Hauptuntersuchung | 82 |
| Abbildung 2: | Hauptuntersuchung, Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf | 83 |
| Abbildung 3: | Voruntersuchung, mittlere Stimmulationsindizes von 9 Katzen bei Einsatz von zwei verschiedenen Zellzahlen und drei Mitogenkonzentrationen | 95 |
| Abbildung 4: | Stimmulationsindizes der Katzen der Kontrollgruppe nach Stimulation mit 2 verschiedenen Con A-Konzentrationen. | 97 |
| Abbildung 5: | Geometrische Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) der Eosinophilen Granulozyten der Kontrolltiere sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 104 |
| Abbildung 6: | Mittlere Serumglobulinanteile ($\bar{x} \pm s$) der Kontrolltiere sowie der Patientengruppen 1 - 3 | 106 |
| Abbildung 7: | Mittlere Albumin-Globulin-Quotienten ($\bar{x} \pm s$) der Kontrollgruppe sowie der Patientengruppen 1 - 3 | 107 |
| Abbildung 8: | Prozentuale Verteilung der FCoV-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3 | 110 |
| Abbildung 9: | FHV-1-Neutralisationstiter der Kontrollkatzen sowie der Gruppen 1 - 3 | 111 |
| Abbildung 10: | Mittelwerte \pm Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der Pan T-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 115 |
| Abbildung 11: | Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der B-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 116 |
| Abbildung 12: | Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der CD4-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 117 |
| Abbildung 13: | Mittelwerte \pm Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der CD8-Lymphozyten der Kontrollgruppe und der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 118 |
| Abbildung 14: | Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der CD4-CD8-Quotienten der Kontrollgruppe und der Gruppen 1 - 3 in Prozent | 119 |
| Abbildung 15: | Stimmulationsindizes ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen durch zwei verschiedene Con A-Konzentrationen an den 3 Untersuchungstagen | 122 |
| Abbildung 16: | Verläufe der mittleren Stimmulationsindizes ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit Con A 2,5 μ g/ml | 124 |
| Abbildung 17: | Verlauf der mittleren Stimmulationsindizes ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit Con A 5,0 μ g/ml | 125 |
| Abbildung 18: | Stimmulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Einsatz von zwei verschiedenen Konzentrationen UV-inaktivierten FHV 1 | 127 |
| Abbildung 19: | Stimmulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Einsatz von formalin- | |

| | |
|--|------|
| inaktiviertem FHV 1 | 128 |
| Abbildung 20: Verlauf der Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) der einzelnen Gruppen an den drei Untersuchungstagen nach Stimulation mit FHV F 10 | 129 |
| Abbildung 21: Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) der einzelnen Gruppen an den drei Untersuchungstagen nach Stimulation mit FHV F 50 | 130 |
| Abbildung 22: Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g SI \pm SF$) aller 4 Gruppen nach Einsatz von nicht inaktiviertem FHV | 131 |
| Abbildung 23: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (66-Stunden-Ansatz) | V |
| Abbildung 24: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (114-Stunden-Ansatz) | V |
| Abbildung 25: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (138-Stunden-Ansatz) | VI |
| Abbildung 26: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 1) | VI |
| Abbildung 27: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 5) | VII |
| Abbildung 28: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 10) | VII |
| Abbildung 29: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 50) | VIII |

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

| | | |
|--------------------|---|--|
| AAFP | = | American Association of Feline Practitioners |
| ALT | = | Alaninaminotransferase |
| bzw. | = | beziehungsweise |
| Con A | = | Concanavalin A |
| Cpm | = | Counts per minute |
| CsCl | = | Cäsiumchlorid |
| d | = | Dichte |
| d.h. | = | das heißt |
| DNA | = | Englischer Ausdruck für DNS |
| DNS | = | Desoxyribonukleinsäure |
| EDTA | = | Ethylendiamintetraessigsäure |
| evtl. | = | eventuell |
| FCV | = | Felines Calicivirus |
| FCoV | = | Felines Coronavirus |
| FeLV | = | Felines Leukosevirus |
| FE-Zellen | = | Feline Embryonalzellen |
| FHV 1 | = | Felines Herpesvirus Typ 1 |
| FIV | = | Felines Immundefizienzvirus |
| FKS | = | Fetales Kälberserum |
| FPV | = | Felines Parvovirus |
| GKID ₅₀ | = | Gewebekultur infektiöse Dosis 50 % |
| ggr. | = | geringgradig |
| IgA | = | Immunglobulin A |
| IgG | = | Immunglobulin G |
| IgM | = | Immunglobulin M |
| i.m. | = | intramuskulär |
| i.v. | = | intravenös |
| kD | = | Kilodalton |
| kg | = | Kilogramm |
| KM | = | Körpermasse |
| l | = | Liter |
| LPS | = | Lipopolysaccharid |
| m | = | männlich |

| | | |
|--------------------|---|---|
| MCH | = | Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten |
| MCHC | = | Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten |
| MCV | = | Mittleres Erythrozytenvolumen |
| mg | = | Milligramm |
| mk | = | männlich kastriert |
| n | = | Anzahl |
| Na | = | Natrium |
| n.u. | = | nicht untersucht |
| PCR | = | <u>P</u> olymerase <u>C</u> hain <u>R</u> eaction |
| PHA | = | Phytohämagglutinin |
| p.i. | = | post infectionem |
| p.vacc. | = | post vaccinationem |
| PWM | = | Pokeweed Mitogen |
| RNS | = | Ribonukleinsäure |
| S | = | Seite |
| s | = | Standardabweichung |
| s.a. | = | siehe auch |
| s.c. | = | subcutan |
| SDS-Page | = | <u>S</u> odium <u>d</u> odecyl <u>s</u> ulfat- <u>P</u> olyacrylamid- <u>G</u> el <u>E</u> lektrophorese |
| SI | = | Stimulationsindex |
| SPF | = | spezifiziert pathogenfrei |
| TCID ₅₀ | = | Tissue culture infective dose 50 % |
| U | = | Units |
| u.a. | = | unter anderem |
| USA | = | Vereinigte Staaten von Amerika |
| w | = | weiblich |
| wk | = | weiblich kastriert |
| z.B. | = | zum Beispiel |
| z.T. | = | zum Teil |
| \bar{x} | = | Mittelwert |

1. Einleitung

Infektiöse Erkrankungen der oberen Atemwege, der Mundschleimhaut sowie der Augen bei der Katze werden im deutschsprachigen Raum häufig unter dem Begriff "Katzenschnupfenkomplex" zusammengefasst.

Während das klinische Bild des Katzenschnupfens relativ einheitlich ist, kann eine Vielzahl von Erregern primär oder sekundär für die Symptome verantwortlich sein. Hierzu wird neben dem Felinen Herpesvirus 1 (FHV 1) vor allem das Feline Calicivirus (FCV) gezählt. Um eventuelle Unterschiede im Krankheitsverlauf und in den durch die verschiedenen Erreger hervorgerufenen Krankheitssymptomen feststellen zu können, wurden schon früh Untersuchungen an natürlich und an experimentell infizierten Katzen durchgeführt (CRANDELL et al., 1961; BÜRKI et al., 1964; HORVATH et al., 1965; LINDT et al., 1965; POVEY und JOHNSON, 1967; BREHAUT et al., 1969; HOOVER et al., 1970 und WALTON und GILLESPIE, 1970b).

In vorliegender Arbeit soll zunächst ein Überblick über die Ergebnisse gegeben werden, die von den verschiedenen Untersuchern hinsichtlich der einzelnen Krankheitserreger veröffentlicht wurden. Neben den klinischen Darstellungen der Krankheitsverläufe wurde vor allem in Hinblick auf die FHV-1-Infektion eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt, die die virologischen und immunologischen Grundlagen der immer wieder rekurrierenden Krankheitsepisoden klären sollten. In den frühen Jahren nach der Entdeckung des FHV 1 lag das Hauptaugenmerk der meisten Untersucher auf der Antikörperbildung bei infizierten und später auch bei geimpften Katzen. Im Laufe der Jahre rückte dann die zelluläre Abwehr von FHV-1-Infektionen immer mehr in den Mittelpunkt wissenschaftlicher Untersuchungen (WARDLEY et al., 1976; GODDARD, 1984; COCKER et al., 1986; THAM und STUDDERT, 1987; REUBEL et al., 1992).

Während die überwiegende Zahl der in der Literatur beschriebenen Untersuchungen an SPF-Katzen durchgeführt wurde, die vor experimentellen Infektion z.T. geimpft wurden, war es das Ziel der im folgenden beschriebenen eigenen Untersuchungen festzustellen, ob anhand ausgewählter klinischer, hämatologischer, serologischer und immunologischer Parameter Unterschiede zwischen gesunden geimpften Kontrollkatzen und chronisch kranken Patientenkatten, die aus einem privaten Katzenbestand stammten und unterschiedlich stark ausgeprägte Katzenschnupfensymptome zeigten, herauszuarbeiten sind.

2. Literaturübersicht

2.1. Katzenschnupfenkomplex, Ätiologie

Für infektiöse Erkrankungen der oberen Atemwege und/oder der Mundschleimhaut sowie der Augen bei der Katze kommen verschiedene Krankheitserreger in Frage. Neben dem Felinen Herpesvirus Typ 1 (FHV 1), welches 1957 erstmals von CRANDELL und MAURER isoliert wurde (CRANDELL und MAURER, 1958), ist als weiterer häufiger Erreger das Feline Calicivirus (FASTIER, 1957) zu nennen. Die von SCOTT et al. (1970), LAURENT et al. (1977) und KNECHT (1979) nachgewiesenen Antikörper gegen Reovirus Serotyp 1 und 3 zeigen, daß Katzen sich immunologisch mit diesen Viren auseinandergesetzt haben, während ihre klinische Bedeutung in natürlichen Katzenschnupfeninfektionen nach wie vor nicht nachgewiesen ist.

Als primäre nichtvirale Erreger des Katzenschnupfens werden Chlamydien angesehen. Durch Mykoplasmen oder bakterielle Sekundärinfektionen kann der Krankheitsverlauf bei allen oben aufgeführten Primärinfektionen kompliziert werden.

2.1.1. Felines Herpesvirus 1 (FHV 1)

Das zu den Alphaherpesvirinae zählende FHV 1 scheint weltweit in der Katzenpopulation verbreitet zu sein (CRANDELL, 1973). Nach seiner erstmaligen Isolierung im Jahr 1957 (CRANDELL und MAURER, 1958) prägten CRANDELL und DESPEAUX (1959) den ursprünglichen Namen: "feline rhinotracheitis virus". Seit seiner Klassifizierung als Herpesvirus durch DITCHFIELD und GRINYER (1965) wird das Virus heute weitestgehend als Felines Herpesvirus 1 (FHV 1) bezeichnet (PEDERSEN, 1987).

Erstmals außerhalb der USA nachgewiesen wurde das FHV 1 im Jahr 1963 in der Schweiz (BÜRKI et al., 1964), im Jahre 1965 dann auch von DITCHFIELD und GRINYER in Canada und HORVATH in Ungarn, JOHNSON und THOMAS (1966) in Großbritannien, BREHAUT et al. (1969) in Neuseeland und im Jahr 1970 auch von STUDDERT und MARTIN (1970b) in Australien. Erkrankungsfälle durch das FHV 1 wurden bisher nur bei Katzen gefunden, das Virus wurde aber auch aus Hunden isoliert. Infektionsversuche ergaben zwar den Aufbau

neutralisierender Antikörper, die betreffenden Hunde zeigten aber keine klinische Symptomatik (KRAMER et al., 1991).

2.1.1.1. Virusmorphologie und antigene Eigenschaften

Das FHV 1 ist mit 180 - 200 nm ein relativ großes, behülltes DNA-Virus. Sein Nukleokapsid hat einen Durchmesser von ca. 100 nm und besteht aus 162 hexagonalen Kapsomeren. Zwischen dem Nukleokapsid und der Lipidhülle liegt eine granuliert, aus Proteinen bestehende Masse, das sogenannte Integument. Im Nukleokapsid findet sich die doppelsträngige DNA, die ein Molekulargewicht von 8 bis 15×10^7 Dalton besitzt, die Dichte des Virions im Cäsiumchloridgradienten beträgt zwischen 1,20 und 1,29 g / cm³. Das FHV 1 besteht aus 23 Proteinen, von denen 6 glykosyliert sind, ihr Molekulargewicht liegt zwischen 15.000 und 300.000 Dalton. Elektrophoretische Aufspaltungen von komplettem Virus und dem Nukleokapsid ergaben, daß die meisten viralen Proteine hüllgebunden sind (MAEDA et al., 1998). BURGNER und MAES (1988) konnten aus dem Referenzstamm C 27 mindestens 17 virale Strukturproteine isolieren. Mittels Immunpräzipitation mit nachfolgender SDS-Page wurden drei Hauptglykoproteine charakterisiert, die hauptsächlich für die Induktion neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1 verantwortlich sind.

Während bereits CRANDELL (1973) von natürlich infizierten Katzen Stämme unterschiedlicher Virulenz isolieren konnte, ging man lange Zeit davon aus, daß feline Herpesviren antigenetisch einheitlich sind und daß nur ein Serotyp (CRANDELL et al., 1960; BITTLE et al., 1960; BÜRKI et al., 1964; DITCHFIELD und GRINYER, 1965) existiere. Serologische Kreuzreaktionen mit dem Felinen Cytomegalievirus (FHV 2) oder Herpesviren anderer Spezies wurden bisher nicht gefunden (POVEY, 1970). HERRMANN et al. (1982) stellten fest, daß das Genom des FHV 1 verglichen mit dem anderer Herpesviren eine ausgeprägte Stabilität besitzt. Mittels Restriktionsenzym-Analyse durchgeführte DNA-Charakterisierungen von FHV-1-Stämmen aus verschiedenen Ländern von klinisch kranken und auch latent infizierten Katzen ergaben keine großen Unterschiede zwischen den einzelnen Isolaten und dem Impfstamm F2. Auch neuere Untersuchungen von HORIMOTO et al. (1992) bestätigten, daß hinsichtlich Kultivierung, antigener und hämagglutinierender Eigenschaften keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Referenzstamm C 27, einem französischen und 6 japanischen Isolaten sowie dem attenuierten Impfstamm F2 bestanden. Mittels eines Immunoblots wurde bei 2 Stämmen das Fehlen eines viralen Strukturproteins festgestellt, die

drei von BURGNER und MAES (1988) beschriebenen Hauptglykoproteine waren aber bei allen untersuchten Stämmen gleichermaßen nachzuweisen.

2.1.1.2. Widerstandsfähigkeit des FHV 1 gegen äußere Einwirkungen

Die Widerstandsfähigkeit von Viren gegen verschiedene Einflußfaktoren wurde häufig als Kriterium zur Unterscheidung verschiedener Virusarten eingesetzt. So wird das FHV 1 als behülltes Virus sowohl durch chemische als auch durch physikalische Faktoren, die Einfluß auf seine Lipoproteinhülle nehmen können, inaktiviert.

2.1.1.2.1. Chemische Faktoren

Von den chemischen Substanzen, die eine Inaktivierung oder eine Abschwächung des FHV 1 bedingen, sind Diäthyläther und Chloroform zu nennen. Eine Ätherbehandlung über Nacht bewirkte einen deutlichen Titerrückgang von $10^{6,2}$ TCID₅₀ /ml auf $10^{3,8}$ TCID₅₀ /ml, die Behandlung mit Chloroform bei Raumtemperatur führte zu einem kompletten Infektiositätsverlust. Auch durch Inkubation des Virus in 0,5 % Phenol für 24 Stunden und anschließende Dialyse wurde ein kompletter Infektionsverlust festgestellt (JOHNSON, 1966).

Formalin zählt ebenso zu den Substanzen, die zu einer Inaktivierung des FHV 1 führen. So arbeiteten MILLER und CRANDELL (1962) mit Konzentrationen von 0,018 % bzw. 0,009 %, hierbei blieb das Virus noch bis zu 15 Tagen infektiös. JOHNSON (1966) konnte feststellen, daß nach Inkubation über 24 Stunden mit 0,05 %, 0,1 % und 0,2 % Formaldehyd keine Infektiosität mehr nachweisbar war.

Auch gegenüber Gallensäuren (Desoxycholat) zeigte sich das FHV 1 labil (JOHNSON, 1966, BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968, TEGTMEYER und ENDERS, 1969). Eine Ansäuerung des Virusmediums auf einen pH-Wert von 3 für einen Zeitraum von drei Stunden führte zu einem deutlichen Absinken des Virustiters von $10^{6,8}$ auf $10^{2,4}$ TCID₅₀ /ml, eine Alkalisierung auf pH 9 für den gleichen Zeitraum erbrachte nur einen geringgradigen

Titerverlust von $10^{6,8}$ auf $10^{6,2}$ TCID₅₀/ml, während durch Behandlung mit Trypsin ein deutlicher Titerabfall festzustellen war (JOHNSON, 1966).

Bereits die Untersuchungen von BÜRKI et al. (1964) ergaben, daß Basenanaloga wie Bromdesoxyuridin und Joddesoxyuridin einen hemmenden Einfluß auf feline Herpesviren 1 haben. JOHNSON (1966) konnte lediglich eine Verlangsamung aber keine komplette Hemmung des durch FHV 1 ausgelösten zytopathischen Effektes durch Zusatz von Bromdesoxyuridin zum Zellkulturmedium beobachten, während CRANDELL und WEDDINGTON (1967) durch Zugabe von Bromdesoxyuridin oder Joddesoxyuridin zu FHV-1- bzw. HSV-infizierten Zellkulturen die Virusreplikation komplett hemmen konnten, ohne daß zytopathische Effekte in der Zellkultur auftraten. In weiteren Versuchen stellten sie fest, daß diese Hemmung durch Thymidin wieder aufhebbar war und daß die Basenanaloga die Adsorption infektiösen Virus an die Zelle nicht verhinderten. Eine besonders schnelle Hemmung wird durch die Zugabe von β -Propiolacton zum Kulturmedium bewirkt. Wie CRANDELL im Jahr 1973 berichtete, führt es nach 1 - 2 Stunden zu einer Inaktivierung des FHV 1.

2.1.1.2.2. Physikalische Faktoren

Temperatur:

Bei Aufbewahrung im Kulturmedium konnten MILLER und CRANDELL (1962) nach 154 Tagen bei + 4° C noch Infektiosität messen, während sich mit steigenden Temperaturen die Inaktivierung beschleunigte. So wurde eine vollständige Inaktivierung bei 25° C nach 33 Tagen, bei 37° C in 3 Stunden und bei 56° C in 4 - 5 Minuten gefunden. Nach Lyophilisierung oder Einfrieren bei -70° C konnte auch nach Jahren kein deutlicher Titerverlust festgestellt werden. Die Daten, die JOHNSON (1966) für die Temperaturempfindlichkeit des FHV 1 ermittelte, sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Temperaturstabilität des FHV 1 (nach JOHNSON, 1966)

| Temperatur (°C) | Aufbewahrung (Monate) | Titer vor der Behandlung (TCID ₅₀ /ml) | Titer nach der Behandlung (TCID ₅₀ /ml) |
|-----------------|-----------------------|---|--|
| - 60 | 6 | 10 ^{7,0} | 10 ^{2,8} |
| - 22 | 6 | 10 ^{7,0} | negativ |
| + 4 | 3 | 10 ^{7,0} | negativ |
| + 18 | 1 | 10 ^{7,0} | negativ |
| + 37 | 24 Stunden | 10 ^{7,0} | 10 ^{1,2} |

Aus der Tabelle 1 ist abzulesen, daß mit steigenden Temperaturen eine umso schnellere Inaktivierung des Virus stattfand. POVEY (1970) untersuchte den Einfluß der Austrocknung auf die Inaktivierungsdauer und stellte fest, daß das FHV 1 in feuchter Umgebung bei ca. 15° C innerhalb von 18 Stunden, in trockener Umgebung bei gleicher Temperatur in weniger als 12 Stunden inaktiviert wurde.

2.1.1.3. Pathogenese

Eine Infektion mit dem FHV 1 kann sowohl oral, nasal als auch konjunktival erfolgen (POVEY, 1969). Die Virusreplikation findet im Kern der befallenen Zellen statt, hier finden sich auch die für die Herpesviren typischen Einschlußkörperchen, die bereits von CRANDELL und MAURER (1958) erwähnt wurden.

2.1.1.3.1. Lokale Entwicklung

Die Viren führen innerhalb von zwei Tagen zu einer Nekrose der befallenen Zellen mit einem Höhepunkt zwischen Tag 7 und 10 p.i. (HOOVER et al., 1970). Mit der Zerstörung der Zellen wird vermehrt Virus freigesetzt, welches sich danach rasch weiter in die Konjunktivalsäcke, Oropharynx, Trachea, Bronchien und Bronchioli verbreitet (PEDERSEN, 1987) und katarrhalische Entzündungssymptome bedingt, die nach LINDT (1965) auch ohne bakterielle Sekundärinfektionen in eitrig-eitrige Verlaufsformen übergehen können, während POVEY (1969)

angibt, daß auch mit Pneumonien und Pleuritiden einhergehende eitrig-eitrige Verlaufsformen, vor allem durch Sekundärinfektionen mit fakultativ pathogenen Bakterien, wie z.B. Streptokokken, Pasteurellen, hämolysierenden *Escherichia coli*, bedingt seien.

Zusätzlich zu den entzündlichen Schleimhautveränderungen treten auch rarefizierende Chondro- und Osteodystrophien der Konchien und Nasenwände auf, bei experimentellen Infektionen wurden diese bereits ab Tag 5 p.i. gefunden (LINDT, 1965). Die Bildung von Geschwüren wird auch in der Mundhöhle, speziell auf dem Zungenrücken häufiger beobachtet (JOHNSON und THOMAS, 1966; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; POVEY, 1969). JOHNSON und SABINE (1971) fanden bei 3 Katzen Geschwüre nicht nur in der Maulhöhle, sondern auch massive Hautgeschwüre, aus denen FHV 1 isoliert werden konnte, während die bakteriellen Untersuchungen ohne Befund blieben.

2.1.1.3.2. Systemische Auswirkungen

Im Jahr 1970 infizierten HOOVER und Mitarbeiter 8 Wochen alte SPF-Katzenwelpen mit FHV 1. Fieber trat bei den Tieren lediglich an Tag 3 bis 4 p.i. auf, während REUBEL et al. (1992) bei experimentell FHV-1-infizierten SPF-Katzen einen biphasischen Fiebertypus mit Fieberschüben an den Tagen 3 und 7 p.i. beobachteten. In Verbindung mit dem ersten Fieberschub zu Beginn der Erkrankung konnten BÜRKI et al. (1964) und auch HOOVER et al. (1970) bei einzelnen Katzen Virämien feststellen.

Die Möglichkeit des Auftretens von Virämien wird auch durch die Ergebnisse anderer Untersucher gestützt: so isolierten KARPAS und ROUTLEDGE (1968) aus einem Katzenwelpen, der nach experimenteller Infektion erkrankte und starb, FHV 1 aus der Niere. Bei einem weiteren Tier konnte Virus nicht nur aus Speicheldrüsen-, Zungen- und Lungengewebe, sondern auch aus Leber, Milz, Niere und Gehirn isoliert werden. Im Jahr 1971 wiesen SPRADBROW und Mitarbeiter bei einem Katzenwelpen, der eine typische Katzenschnupfensymptomatik zeigte, infektiöses Virus in den Nieren nach, in Lunge und Leber wurden für FHV 1 typische Einschlusskörperchen gefunden. Auch BITTLE und PECKHAM (1971) wiesen bei fünf Welpen von während der späten Gravidität experimentell vaginal FHV-1-infizierten Katzen, die bereits mit respiratorischen Symptomen geboren

wurden, postmortal eine generalisierte Herpesvirusinfektion nach: neben fibrinös-eitrigen Rhinitiden, Tracheitiden und Bronchopneumonien wurden auch fokale Lebernekrosen mit typischen Einschlusskörperchen gefunden.

2.1.1.3.3. Augenveränderungen durch FHV-1-Infektionen

An den Augen kommt es neben der schon erwähnten Konjunktivitis auch zu einem Befall der Hornhaut. Das Virus führt hier zu Keratitiden, teilweise auch zur Bildung von Geschwüren (KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; POVEY, 1969; NASISSE et al., 1989b und 1995). Verglichen mit dem ausgeprägten Tropismus des FHV 1 für konjunktivale Epithelzellen ist die Tendenz, Läsionen der Hornhaut hervorzurufen, aber nicht sehr auffallend (NASISSE, 1990). Nach BISTNER et al. (1971) ist das Auftreten von dendritischen Keratitiden häufig bei rekurrierenden FHV-1-Infektionen. Nach dem Auftreten kleiner punktförmiger Erosionen kommt es nach Verbreitung der Herpesviren zur Nekrose benachbarter Epithelzellen mit der Bildung großer dendritischer, unregelmäßig begrenzter Hornhautgeschwüre. Das Ausmaß der Veränderungen ist vor allem vom Funktionieren der Immunreaktionen gegenüber dem FHV 1 abhängig. So stellten NASISSE et al. (1989b) fest, daß nach experimenteller, primärer konjunktivaler Infektion mit verschiedenen Herpesvirusstämmen bei zehn infizierten Katzen außer Konjunktivitiden lediglich punktuelle und dendritische epitheliale Läsionen der Hornhaut auftraten, die bis zu 24 Tagen bestanden, während bei zehn Katzen, deren Immunsystem vor Infektion mit dem FHV 1 durch Behandlung mit Betamethason (einem Glucocorticoidderivat) beeinflusst wurde, neben Konjunktivitiden chronische (> 60 Tage andauernde) Keratitiden mit großen Defekten, interstitiellen Ödemen, tiefer Vaskularisation, verminderter Tränenproduktion und weitere Veränderungen auftraten. BISTNER et al. (1971) konnten bei den von ihnen untersuchten stromalen Keratitiden kein FHV 1 nachweisen, sie vermuteten eine Überempfindlichkeitsreaktion gegenüber viralem Antigen oder den Entzündungsprodukten, während NASISSE et al. (1989b) zwar nach experimenteller intrastromaler Injektion, nicht aber nach Infektion durch Einträufeln einer Virussuspension ins Auge Virusantigen im Stroma nachweisen konnten. Sie folgerten daraus, daß FHV 1 sich nicht ohne weiteres im Stroma repliziert.

2.1.1.4. Krankheitssymptome

Nach KRAFT (1991) leiden von der meist mit Fieber einhergehenden Erkrankung betroffene Tiere unter katarrhalischen bis eitrigen Entzündungen der Schleimhäute des Kopfes und des Respirationstraktes.

Die in der Literatur am häufigsten angegebenen Krankheitssymptome bei FHV-1-Infektionen sind **Niesen** und **Nasenausfluß** teilweise auch **Husten** (CRANDELL und MAURER, 1958; CRANDELL et al., 1961; LINDT, 1965; LINDT et al. 1965; JOHNSON und THOMAS, 1966; POVEY und JOHNSON, 1967; BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; HOOVER et al., 1970; BISTNER et al., 1971; HOOVER und GRIESEMER, 1971b; SPRADBROW et al., 1971; GASKELL und POVEY, 1979a; ORR et al., 1980; REUBEL et al., 1992), **Konjunktivitis mit Augenausfluß**, **Keratitis**, **Hornhautgeschwüre** (CRANDELL und MAURER, 1958; CRANDELL et al., 1961; LINDT, 1965; LINDT et al. 1965; JOHNSON und THOMAS, 1966; POVEY und JOHNSON, 1967; BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; BISTNER et al., 1971; HOOVER und GRIESEMER, 1971b; SPRADBROW et al., 1971; GASKELL und POVEY, 1979a; ORR et al., 1980; REUBEL et al., 1992; NASISSE et al., 1993); **Fieber** (CRANDELL und MAURER, 1958; CRANDELL et al., 1961; LINDT, 1965; LINDT et al., 1965; JOHNSON und THOMAS, 1966; POVEY und JOHNSON, 1967; BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; HOOVER et al., 1970; BISTNER et al., 1971; HOOVER und GRIESEMER, 1971b; SPRADBROW et al., 1971; GASKELL und POVEY, 1979a; ORR et al., 1980; REUBEL et al., 1992); **Gingivitis** und/oder **Ulcera im Mundbereich** und der **Zunge** (LINDT et al., 1965; JOHNSON und THOMAS, 1966; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; REUBEL et al., 1992), **Anorexie** (CRANDELL et al., 1961; LINDT et al., 1965; POVEY und JOHNSON, 1967; BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968; HOOVER et al., 1970; HOOVER und GRIESEMER, 1971b), **Aborte oder Geburt lebensschwacher Welpen** (LINDT et al., 1965; JOHNSON und THOMAS, 1966; BITTLE und PECKHAM, 1971; HOOVER und GRIESEMER, 1971b; SPRADBROW et al., 1971).

Weitere nicht so häufig beobachtetete Symptome waren Hautgeschwüre ohne respiratorische Symptomatik (JOHNSON und SABINE, 1971), Dermatosen (bis zu 14 Tagen) und auch zentralnervöse Störungen: LINDT et al. (1965) beobachteten Gliedmaßenzittern, Verlust der Sprungfähigkeit, Ataxien und Manegebewegungen. Eine Besonderheit ist das Auftreten von

Knochennekrosen an Gesichts-, Wirbel-, Rippen-, langen Röhrenknochen und dem Siebbeinlabyrinth, welche nach intravenöser FHV-1-Infektion neugeborener sowie 8 Wochen alter Katzenwelpen auftraten (HOOVER und GRIESEMER 1971a).

Die Krankheitssymptome können durch bestehende Organerkrankungen, bakterielle Sekundärinfektionen (LINDT et al. 1965; POVEY, 1969) oder bereits bestehende andere Viruserkrankungen wie z.B. FIV-Infektionen (REUBEL et al., 1992) verstärkt werden. Auch KAHN und HOOVER konstatierten bereits 1976, daß eine FeLV-Infektion durch Immunsuppression eine erhöhte Empfänglichkeit für weitere Infektionen begünstige.

Um die Rolle einer Sekundärinfektion auf den Verlauf einer bestehenden FIV-Infektion zu untersuchen, infizierten REUBEL et al. (1992) 20 SPF-Katzen mit FHV 1 und eine entsprechende Anzahl FIV-infizierter SPF-Tiere zusätzlich mit FHV 1. Ab dem dritten Tag p.i. traten in beiden Gruppen zu gleichen Anteilen klinische Erkrankungssymptome wie Fieber, Niesen und seröser Augen- und Nasenausfluß auf, ab dem vierten Tag war der Erkrankungsverlauf bei den FIV / FHV 1 doppelinfizierten Katzen schwerer. Zur besseren Übersicht sind die klinischen Befunde, die REUBEL und Mitarbeiter erheben konnten, in der Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2: Klinische Symptome bei FHV-1- und FIV-/ FHV-1-infizierten Katzen (nach REUBEL et al., 1992)

| Gruppen ^x | Symptome | | | | | | |
|----------------------|------------------------|---------------|-----------|-----------------------------|---------------------------|--------------------|----------------|
| | Pharyngitis / Rhinitis | Dehydratation | Pneumonie | Gingivitis/ orale Geschwüre | Konjunktivitis/ Keratitis | Hornhaut-Geschwüre | Fieber > 40° C |
| FIV + FHV 1 | 13 | 6 | 9 | 2 | 10 | 3 | 11 |
| FHV 1 | 8 | 3 | - | - | 10 | 0 | 5 |

^x Tierzahl pro Gruppe: n = 20; - = nicht untersucht

Aus der Tabelle 2 ist zu erkennen, daß bei den doppelinfizierten Katzen (FIV / FHV 1) häufiger schwerwiegende Krankheitsverläufe auftraten, als bei den nur mit FHV 1 infizierten Tieren. Lediglich bei dem Symptomenkomplex "Konjunktivitis / Keratitis" war das Verhältnis der betroffenen Tiere mit jeweils 10 Fällen gleich.

2.1.1.5. Epizootiologie

2.1.1.5.1. Virusausscheidung und Übertragung

Die Ausscheidung von infektiösem Virus mit dem Nasen- oder Augensekret dauert nach experimenteller Infektion (LINDT et al., 1965) über 9 - 16 Tage an, GASKELL und POVEY (1973) ermittelten für latent infizierte Katzen mit rekurrierenden Krankheitsschüben eine Dauer der Virusausscheidung von im Mittel 5,7 Tagen, bzw. zwischen 4 und 9 (im Mittel 7,2) Tagen (GASKELL und POVEY, 1973). Die Ausscheidung muß in diesen Zeiträumen nicht ständig erfolgen, verschiedene Autoren berichteten über Fälle, in denen Virus intermittierend (GASKELL und POVEY, 1977; HARDER et al., 1994) ausgeschieden wurde.

2.1.1.5.1.1. Horizontale Übertragung des FHV 1

Die Übertragung des FHV 1 von einem Tier zum anderen erfolgt nach KRAFT (1991) normalerweise vor allem durch das Versprühen virushaltiger Sekrete beim Niesen oder Husten und durch den Speichel. In Auswertung ihrer Untersuchungen hielten POVEY und JOHNSON (1970) in relativ unbewegter Luft eine Übertragung durch Tröpfchen beim Niesen über eine Distanz von bis zu 1,3 Meter für möglich, sie sehen als Hauptübertragungsweg aber den direkten "Nase zu Nase"-Kontakt an. Dies wird auch von GASKELL und POVEY bekräftigt, die im Jahr 1982 konstatierten, daß für eine Ansteckung ein engerer Kontakt wie z.B. durch gegenseitiges Belecken, Putzen und gemeinsames Benutzen von Futtergefäßen notwendig sei, da eine Tröpfcheninfektion durch niesende Virusausscheider nur auf kurze Entfernungen erfolge.

2.1.1.5.1.2. Vertikale Übertragung des FHV 1

Die Möglichkeit der vertikalen Infektion wird noch diskutiert. BITTLE und PECKHAM (1971) vermuteten, daß auch eine vertikale Übertragung des FHV möglich ist, da einige der von ihnen untersuchten Katzenwelpen von Muttertieren, die in späteren Stadien der Gravidität (ein bis zwölf Tage prä partum) vaginal infiziert worden waren, an generalisierten FHV-1-Infektionen starben. Diese Welpen wurden bereits mit respiratorischen

Erkrankungssymptomen geboren, z.T. schrien sie andauernd, wie es auch bei Hundewelpen mit caniner Herpesvirusinfektion beschrieben ist. Andere Untersucher berichteten über das Auftreten von Aborten bei tragenden Katzen nach FHV-1-Infektionen (LINDT et al., 1965; HOOVER und GRIESEMER, 1971b).

Es ist bis heute nicht völlig klar, ob als Grund hierfür ein Befall des Uterus und eine intrauterine Infektion der Föten anzusehen ist, oder ob Infektionen von Welpen FHV 1 infizierter Katzen intra partum erfolgen, da bisher nach natürlichen oder experimentellen oronasalen bzw. konjunktivalen Infektionen zwar Aborte erfolgten, in Uteri, Plazenten und Föten in diesen Fällen jedoch kein Herpesvirus nachgewiesen werden konnte (BITTLE und PECKHAM, 1971; HOOVER und GRIESEMER, 1971b).

Um diesen Sachverhalt weiter aufzuklären infizierten HOOVER und GRIESEMER (1971b) fünf trächtige Katzen intravenös (i.v.), vier weitere intranasal mit FHV 1. Während die i.v. infizierten Katzen lediglich eine leichte klinische respiratorische Symptomatik zeigten, fiel diese bei den intranasal infizierten Tieren deutlich schwerer aus. Alle neun Tiere abortierten bzw. wurden eingeschläfert, als vaginale Blutungen auf einen bevorstehenden Abort hindeuteten. Während in der Gruppe der i.v. infizierten Katzen aus allen Uteri, Plazenten und aus einem von fünf Föten FHV 1 isoliert werden konnte, wurde in der Gruppe der intranasal infizierten Katzen kein Virus nachgewiesen. Hieraus leiteten die Untersucher ab, daß die Aborte nach intranasaler Infektion eine unspezifische Folge der schweren, entkräftenden Erkrankung der oberen Atemwege waren. Auch GASKELL und POVEY (1982) fanden keinen Fall von diaplazentarer Infektion bei 10 latent FHV-1-infizierten Kätzinnen und deren Welpen, wobei aber in der Laktation eine Virusausscheidung bei vier von zehn Katzenmüttern Virus nachgewiesen wurde. Von den insgesamt elf Welpen aus drei Würfen schieden zwei Welpen für einen Tag Virus aus, zwei weitere, die aus dem dritten Wurf stammten, über 15 bzw. 25 Tage – diese wurden dann zu latenten Trägern. Keiner der vier Welpen zeigte klinische Erkrankungssymptome, obwohl nur eines der Tiere zum Zeitpunkt der Virusausscheidung maternale Antikörper gegen das FHV 1 aufwies.

2.1.1.5.1.3. Inkubationszeit und Krankheitsdauer

Über die Länge der Inkubationszeit und die Krankheitsdauer werden von verschiedenen Untersuchern sowohl bei natürlichen als auch bei experimentellen FHV-1-Infektionen unterschiedliche Daten angegeben. Zur besseren Übersicht sind diese in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3: Inkubationszeiten und Krankheitsdauer bei akuten FHV-1-Infektionen

| Autor | Inkubationszeit (Tage) | | Krankheitsdauer (Tage) | |
|--------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| | natürliche Infektion | experimentelle Infektion | natürliche Infektion | experimentelle Infektion |
| BÜRKI et al. (1964) | - | 5 | - | 42 ^X |
| LINDT (1965) | (9) ^{xxx} | ≥ 5 | - | 8 - 10 |
| LINDT et al. (1965) | (3) - 7 | 2 - 5 | 10 - 14 | - |
| POVEY (1969) | - 10 | 2 - 4 | 7 - 10 | - |
| HOOVER et al. (1970) | - | 1 - 2 | - | 11 ^{xx} |
| ROLLE und MAYR (1984) | 2 - 5 | - | 21 | - |
| PEDERSEN (1987) | - | 2 | - | 10 - 14 |
| BURGENER und MAES (1988) | - | 3 - 6 | - | 15 - 28 |

^X Tötung des Tieres am Versuchsende; ^{xx} ab 11. Tag p.i. schnelle Besserung der Symptome

^{xxx} Kontaktinfektion eines Tieres; - = nicht untersucht

Die Angaben über die Inkubationszeiten bei natürlicher Infektion variieren zwischen zwei und zehn Tagen, während sie bei experimentellen Infektionen mit einem bis zu sechs Tagen deutlich niedriger liegen.

In ihren Untersuchungen stellten GASKELL und POVEY (1979a) fest, daß die Länge der Inkubationszeit nach experimenteller Infektion von der Virulenz des verwendeten Stammes, aber auch der Infektionsdosis, d.h. der Menge des aufgenommenen Virus abhängig ist, ein Faktor, der bei natürlichen Infektionen nicht immer gleich ist und so auch eine Erklärung für die in der Tabelle 3 gefundenen, stark unterschiedlichen Inkubationszeiten darstellen könnte.

2.1.1.5.2. Krankheitsdauer und -verlauf

Wie weiterhin aus der Tabelle 3 zu ersehen, liegt die Krankheitsdauer bei natürlich infizierten Tieren zwischen 10 und 21 Tagen, bei experimentellen Infektionen werden 10 - 42 Tage angegeben. Diese Zahlen gelten für akute und unkomplizierte Erkrankungen, LINDT et al.

(1965) beobachteten aber auch Fälle, in denen eine eitrig Rhinitis nach dieser Zeit in ein chronisches Stadium überging, für Monate bis Jahre bestand und therapeutisch kaum beeinflussbar war. GASKELL und POVEY (1977) konnten feststellen, daß circa 20 % der infizierten Katzen das FHV 1 nach der primären Infektion eliminiert, der Rest der Tiere latent infiziert blieb.

Neben den Erkrankungsfällen, bei denen klinisch erkrankte Katzen Virus ausscheiden, existieren vor allem bei reaktiven Schüben latenter Infektionen sowohl Verlaufsformen mit leichter klinischer Symptomatik ohne Virusausscheidung, als auch eine Virusausscheidung ohne klinische Symptome (GASKELL und POVEY, 1977).

Die Dauer und die Schwere der Erkrankung werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst, deren wichtigster sicherlich das Alter des betroffenen Tieres ist. Unterschiedliche Untersucher (POVEY und JOHNSON, 1967; POVEY, 1969; SPRADBROW et al. 1971; KRAFT, 1991; FORD und LEVY, 1994) stellten fest, daß Jungtiere meist schwerwiegender erkranken als ältere Katzen, eine Beobachtung, die auch von HICKMAN et al. (1993) gemacht wurde. Sie untersuchten den Ausbruch einer eingeschleppten Katzenschnupfeninfektion in zwei SPF-Katzenzuchten. Die Erkrankung hatte eine relativ geringe Morbidität, nur ca. 50 % der empfänglichen Tiere zeigten klinische Symptome. Die erkrankten Tiere wiesen nur eine milde Symptomatik auf, vorwiegend wurden Konjunktividen beobachtet, Aborte bei trächtigen Katzen traten nicht auf. Bei Neonaten von während der Trächtigkeit und/oder früher Laktation erkrankten Muttertieren war die Mortalität jedoch hoch. Leider blieben die Todesursachen ungeklärt, da bei den Welpen kein Virusnachweis durchgeführt wurde.

Neben den klinisch apparenten waren in dem Bestand auch subklinische Verlaufsformen aufgetreten, da alle 65 zufällig unter den symptomlos gebliebenen Katzen ausgewählten Tiere Antikörper gegen das FHV 1 aufwiesen.

2.1.1.6. Nachweis von FHV-1-Infektionen

In der täglichen tierärztlichen Praxis ist die Frage nach der Ätiologie einer Katzenschnupfeninfektion bei einer Einzelkatze meist ohne Bedeutung, da bis heute keine ätiologische Therapie existiert. Wichtiger ist ein Erregernachweis bei der Betreuung und ggf. Sanierung von Zuchtbeständen und bei wissenschaftlichen Fragestellungen.

Da die klinische Symptomatik einer Katzenschnupfeninfektion allein keine sicheren Rückschlüsse auf das auslösende Agens zuläßt, muß der Erregernachweis durch virologische Methoden erfolgen. Der klassische FHV-1-Nachweis beruht auf der Kultivierung des FHV 1 in der Zellkultur. Hierbei kommen ausschließlich Katzenzellkulturen zum Einsatz. Die Versuche, das Virus auf anderen Zelllinien, wie z.B. Hela-, humanen Amnion- und Embryonalzellen oder auch Hundenierenzellen, anzuzüchten, verliefen negativ (KARPAS und ROUTLEDGE, 1968) wie auch jene von BREHAUT et al. (1969) mit Hamster- oder Schweinenierenzellkulturen und primären Hühnerembryozellen. Ebenso wenig kommt es im embryonierten Hühnerei oder im Tierversuch nach Infektion von Jungmäusen, Kaninchen (CRANDELL und MAURER, 1958), Meerschweinchen oder Hunden (HORVATH et al., 1965) zu einer Infektion.

Eine weitere Möglichkeit des FHV-1-Nachweises ist die Immunfluoreszenz. Es werden sowohl direkte als auch indirekte Immunfluoreszenztechniken eingesetzt, von denen die indirekte Methode als sensitiver für den Nachweis des FHV 1 gilt (NASISSE, 1990). NASISSE et al. (1993) setzten erfolgreich mono- und polyklonale, in Kaninchen erzeugte Antikörper im Vergleich zur klassischen Zellkulturmethode ein, um in Tupferproben bzw. Konjunktivalgeschabseln von Katzen mit chronischen Konjunktivitiden FHV 1 nachzuweisen. Mit Hilfe der Zellkultur, die in 12 von 63 Fällen (19 %) positive Befunde ergab, wurden mehr als doppelt so viele Nachweise wie mittels Immunfluoreszenz (6 von 68 Fällen oder 8,8 %) geführt, die χ^2 -Analyse ergab mit $p = 0,0028$ eine stark positive Assoziation beider Tests mit der Tendenz, die gleichen infizierten Katzen zu erkennen.

Die jüngste Methode zum Nachweis einer FHV-1-Infektion ist die Polymerasekettenreaktion PCR (Polymerase Chain Reaction). Mit ihrer Hilfe gelingt es, selbst geringe Mengen der Virus-DNA im Untersuchungsgut zu entdecken. REUBEL et al. (1993) wiesen nach, daß die von ihnen entwickelte PCR sich zum FHV-1-Nachweis in Speichel, Augensekreten und Weichteilgeweben von Katzen eignete. Sie war um 25 % sensitiver im Nachweis des FHV 1 in Rachen- und Augentupfern als herkömmliche Zellkulturtechniken und um 100 % sensitiver im Nachweis von FHV 1 in Zellkulturüberständen. Auch die Untersuchung von SYKES et al. (1997) ergab eine vierfach höhere Sensitivität der PCR im Vergleich zu herkömmlichen Untersuchungen in der Zellkultur.

2.1.1.6.1. Nachweishäufigkeit von FHV-1-Infektionen bei klinisch kranken Katzen

Bei Katzen, die FHV-1-bedingt eine akute respiratorische Symptomatik zeigen, ist der Erregernachweis mittels Zellkultur leicht zu führen, da während akuter Infektionen oder reaktivierten Schüben latenter Infektionen große Virusmengen ausgeschieden werden (BISTNER et al., 1971; GASKELL und POVEY, 1979b; FINDIK, 1994).

WALTON und GILLESPIE (1970a) untersuchten die Beteiligung von FHV 1 und FCV bei klinisch kranken Katzen. Sie konnten belegen, daß in Rachentupfern mit größerer Regelmäßigkeit Virus nachgewiesen werden konnte als in Nasentupfern oder Bindehautabstrichen. Für Tiere aus Privathaushalten kamen sie zu dem Ergebnis, daß FCV-Infektionen geringgradig häufiger auftraten als FHV 1, bei 44 Tieren aus vier Katzenzuchten konnte nur FCV isoliert werden.

Eine Abhängigkeit der Isolationshäufigkeit vom Zeitpunkt der Tupferprobenentnahme konnten POVEY und JOHNSON (1971) beobachten. Sie stellten fest, daß der Anteil der Fälle, in denen keine zytopathogenen Isolate gewonnen werden konnten, bei Proben, die in der ersten Krankheitswoche genommen wurden, bei 47,7 % lag, bei Proben aus der zweiten Krankheitswoche stieg diese Zahl auf 76 %.

Die Untersuchungsergebnisse von HERBST et al. (1988) von Sektions- und Tupferproben von 380 Katzen mit einer respiratorischen Symptomatik ergaben 147 zytopathogene Isolate. Hiervon konnten 85 (57,8 %) als FHV 1 und 60 als FCV (40,8 %) charakterisiert werden, bei einer Katze wurde ein nicht zu klassifizierendes Herpesvirus nachgewiesen, bei einem weiteren Tier ein bovines Herpesvirus. In den Untersuchungen von FINDIK (1994) an Proben von 166 Katzen mit Erkrankungen der Atemwege erwiesen sich 15,7 % der Tiere als FHV-1- und 21,1 % als FCV-Ausscheider. Auch HARBOUR et al. (1991) werteten in einer retrospektiven Studie über die Jahre 1980 bis 1989 die Isolationsergebnisse für FHV 1 und FCV aus eingesandten Tupferproben klinisch kranker und gesunder Katzen aus. Insgesamt waren 19,9 % der nachgewiesenen Isolate feline Caliciviren, während die Zahl der FHV-Isolate bei 4,2 % lag. In den einzelnen Jahren lag das Verhältnis FCV : FHV 1 zwischen 1,3 : 1 und 15 : 1 im Mittel bei 4,8 : 1.

NASISSE et al. (1992) wiesen bei vier Katzen, die vier Tage nach experimenteller Infektion mit akuten Krankheitssymptomen eingeschlafert wurden, FHV 1 sowohl in Rachen- und Augentupfern als auch in Zellkulturen von Trigeminalganglienzellen nach.

Zur besseren Übersicht sind in Tabelle 4 die Isolationshäufigkeiten, die von den verschiedenen Untersuchern angegeben wurden, aufgeführt.

Tabelle 4: Prozentuale Häufigkeit der Isolation von Felinem Herpesvirus 1 (FHV 1) und Felinem Calicivirus (FCV) bei klinisch kranken Katzen

| Autor | % | | | |
|---------------------------|------------|------|---------------|------|
| | Hauskatzen | | Katzenzuchten | |
| | FHV 1 | FCV | FHV 1 | FCV |
| POVEY und JOHNSON (1971) | - | - | 24,6 | 17,4 |
| HERBST (1988) | 57,8 | 40,8 | - | - |
| HARBOUR et al. (1991) | | | | |
| - akut kranke Katzen | 13,7 | 29,5 | - | - |
| - chronisch kranke Katzen | 3,0 | 17,1 | - | - |
| FINDIK (1994) | 15,7 | 21,1 | - | - |
| MAGGS et al. (1999) | 33,3 | - | - | - |

- = nicht untersucht

Wie aus der Tabelle 4 ersehen werden kann, ist die durchschnittliche Isolationshäufigkeit des FHV 1 bei klinisch kranken Katzen in einigen Untersuchungen deutlich niedriger als die des FCV. GASKELL et al. führten im Jahr 1985 verschiedene mögliche Gründe für diese geringe FHV-1-Nachweishäufigkeit an. So kann sich das Virus z.B. in nicht replizierbarer Form intrazellulär befinden und die Reaktivierung könne schwierig sein. Es könnten nur sehr wenige Zellen infiziert sein, der Entnahmezeitpunkt zu spät im Lauf der Erkrankung liegen, oder Probleme mit der Zellkulturtechnik könnten eine Virusanzucht erschweren. So konnten z.B. HARBOUR et al. (1991) feststellen, daß die Sensitivität der von ihnen eingesetzten felines Embryonalzelllinie besonders für FHV 1 mit zunehmender Passagedauer absank. Die daraufhin von ihnen eingesetzte neue Zelllinie war gleichbleibend gut für die Anzucht von FCV, für FHV 1 aber 10-fach sensitiver.

2.1.1.7. Begriffsbestimmung: Viruslatenz

Nach GASKELL et al. (1985) definiert sich Latenz als maskierte Persistenz eines Virus in seinem Wirt, so daß es mit herkömmlichen virologischen Methoden nicht entdeckt werden

kann. Die Definition von KELLER (1994) präzisiert diese Aussage, indem sie die Virusvermehrung mit einbezieht. So stellt er fest, daß latente Virusinfektionen dadurch gekennzeichnet sind, daß das Virusgenom in die Wirtszelle integriert wird, aber keine neuen Viren produziert werden. Im Gegensatz hierzu ist bei einer chronischen Virusinfektion nach STEVENS (1978) zu jeder gegebenen Zeit infektiöses Virus aus den jeweiligen Geweben zu isolieren. Nach ROLLE und MAYR (1984) ist die lebenslange Persistenz in einem einmal infizierten Wirt ein Hauptmerkmal aller Herpesviren, wobei STEVENS (1978) konstatierte, daß die Gewebe, in denen verschiedene Herpesviren bevorzugt persistieren, variieren. So unterscheidet er Herpesviren, die vornehmlich oder ausschließlich in neuralen (Herpes simplex), lymphoiden (Marek'sche Erkrankung) oder epithelialen Geweben (Luck'sches Nierenkarzinomvirus der Frösche) persistieren.

2.1.1.7.1. Latenz bei FHV-1-Infektionen

Auch bei Katzen ist das Verschwinden der klinischen Symptome nach einer primären FHV-1-Infektion nicht mit einer Heilung gleichzusetzen. Wie bei Herpesvirusinfektionen anderer Tierspezies und des Menschen kann das Virus im Organismus persistieren. So identifizierten GASKELL und POVEY (1977) 82 % der von ihnen untersuchten Katzen, die alle von einer FHV-1-Infektion genesen waren, als latent mit dem FHV 1 infiziert.

Der Ort der Viruspersistenz im Organismus ist noch nicht endgültig geklärt. Während es bei akut erkrankten Tieren leicht möglich ist, das Virus aus Augen-, Nasen- oder Mundhöhlentupfern oder Gewebeproben v.a. aus dem Siebbeinlabyrinth, weichem Gaumen, Tonsillen, weiteren Anteilen des Nasen-Rachen-Raumes und teilweise auch der tieferen Atemwege zu isolieren (BÜRKI et al., 1964; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; HOOVER et al., 1970; GASKELL und POVEY, 1979b), gelingt die Virusisolation bei latent infizierten Katzen nur unregelmäßig (GASKELL und POVEY, 1979b).

2.1.1.7.1.1. Virusisolation bei latenten FHV-1-Infektionen

PLUMMER et al. (1970) konnten nach Anzuchtversuchen in den Trigeminal und/oder Sakralganglien von 20 jung adulten Katzen kein Virus nachweisen, obwohl die Seren von 11 Tieren neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1 in Titerhöhen zwischen 1 : 4 und 1 : 32 aufwiesen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Tupferproben klinisch gesunder Katzen auf FHV 1 und FCV, die von verschiedenen Untersuchern angegeben wurden, sind in der Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Prozentuale Häufigkeit der Isolation von Felinem Herpesvirus 1 (FHV 1) und Felinem Calicivirus (FCV) bei klinisch gesunden Katzen

| Autor | % | | | | | |
|--------------------------|------------|------|--------------------|-------|---------------|------|
| | Hauskatzen | | Ausstellungskatzen | | Katzenzuchten | |
| | FHV 1 | FCV | FHV 1 | FCV | FHV 1 | FCV |
| POVEY und JOHNSON (1971) | 4,3 | 19,1 | – | – | – | – |
| WARDLEY et al. (1974) | 1,0 | 8,0 | 1,75 | 24,02 | A: 0,8 | 40,0 |
| | – | – | – | – | B: 0,0 | 43,0 |
| ELLIS (1981) | A: 1,5 | 19,7 | – | – | – | – |
| | B: 1,5 | 15,0 | – | – | – | – |
| HARBOUR et al. (1991) | 1 Tier | 18,5 | – | – | – | – |
| MAGGS et al. (1999) | 28,0 | – | – | – | – | – |

Bei den klinisch gesunden Katzen fällt der Unterschied in der Isolationshäufigkeit beider Viren besonders ins Auge. Für das FCV lag sie bei Hauskatzen bei den meisten Untersuchern zwischen 15 und 19 % gegenüber 1 - 4 % für das FHV 1. So fanden HARBOUR et al. (1991) bei 18,5 % der asymptomatischen Katzen FCV, während nur bei einem von 601 Tieren FHV 1 isoliert werden konnte. Bei den Ausstellungskatzen wurde in 1,75 % der Fälle FHV 1 isoliert, während der Prozentsatz an FCV mit 24,02 % sogar noch höher lag als bei den Hauskatzen. Ganz außerordentlich groß stellt sich der Unterschied bei den Zuchtkatzen dar, hier liegt der Anteil der Caliciviren bei ≥ 40 %. WARDLEY und Mitarbeiter (1974) kommentierten die von ihnen gefundenen Ergebnisse so, daß im Gegensatz zu Infektionen mit Felinen Caliciviren die Virusausscheidung nach Infektion mit dem FHV 1 intermittierend erfolge, so daß die Ergebnisse der Reihenuntersuchungen an klinisch gesunden Katzen, die von verschiedenen

Autoren veröffentlicht wurden, sicher nicht die wahre Inzidenz der FHV-1-Infektion in der Katzenpopulation widerspiegeln und auch nichts über ihre Wichtigkeit im Infektionsgeschehen der Gesamtpopulation aussagen.

Um die Schwierigkeiten im FHV-1-Nachweis bei gesunden oder gesund erscheinenden Katzen zu umgehen, wurden von verschiedenen Untersuchern Studien durchgeführt, die das Ziel hatten, latente Infektionen zu reaktivieren (PLUMMER et al., 1970; GASKELL und POVEY, 1973; 1977; 1979b; ELLIS, 1981), um einen Virusnachweis führen zu können.

2.1.1.8. Reaktivierung von latenten FHV-1-Infektionen

Eine latente FHV-1-Infektion kann spontan, durch natürliche oder auch exogene Streßfaktoren reaktiviert werden und zu einer erneuten Virusausscheidung führen, muß aber nicht erneut klinische Erkrankungssymptome bei den betroffenen Tieren hervorrufen (POVEY und JOHNSON, 1970; GASKELL und POVEY, 1977; ELLIS, 1981). Vor allem spielen die Katzen eine wichtige Rolle in der Epizootiologie der FHV-1-Infektion, die zwar Virus ausscheiden, aber keine klinischen Erkrankungssymptome zeigen.

2.1.1.8.1. Nachweis des FHV 1 in der Zellkultur nach Reaktivierung latenter Infektionen

An natürlichen Streßfaktoren, die eine Virusreaktivierung bedingen können, sind v.a. Umgebungswechsel, Geburt und Laktation (GASKELL und POVEY, 1973 und 1977) zu nennen. Auch durch "medikamentellen" Streß lassen sich latente Herpesvirusinfektionen reaktivieren. So konnten PLUMMER et al. (1970) eine erneute Virusausscheidung bei einer von sechs genesenen Katze durch Applikation von Adrenalin auslösen. Herbeigeführt werden kann eine Virusreaktivierung vor allem auch durch eine Immunsuppression nach Verabreichung von Glukokortikoiden (GASKELL und POVEY, 1973 und 1977; 1979b; ELLIS, 1981; HICKMANN et al., 1993). Auf diese Weise konnten GASKELL und POVEY (1977) nach i.m. Applikation von 0,75 mg Dexamethason und 2,25 mg Prednisolon am Untersuchungstag 0, Tag 2 und Tag 4 insgesamt 69 % (22/32 Katzen) der von ihnen untersuchten Tiere als latente Träger des FHV 1 identifizieren, während durch natürlichen

Streß ausgelöste oder spontane Virusausscheidung lediglich bei 45 % der in dieser Studie untersuchten Katzen auftrat. Alle Reaktivierungsmöglichkeiten zusammengenommen ergab sich eine Zahl von 82 % latenter Virusträger in dieser Studie. Die Wirksamkeit einer Glukokortikoidapplikation zur Identifizierung latenter Virusträger wird auch durch die Untersuchung von ELLIS (1981) an 66 klinisch gesunden Katzen unterstrichen. Nach der s.c. Verabreichung von 3 mg Triamcinolon schieden 16 Katzen (24,2 %) FHV 1 aus, vor der Kortisongabe war es lediglich ein Tier (1,5 %). Wird der Serumspiegel neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1 in die Berechnung mit einbezogen, ergibt sich, daß 16 von 18 Katzen (89 %) mit Antikörpern nach Kortisongabe Virus ausschieden.

Zur Erkennung aller latenten Träger bei Befall eines größeren Bestandes kann die einmalige Kortisonbehandlung aller Katzen ungenügend sein. So fanden HICKMANN et al. (1993) in einem Zuchtbetrieb initial 4 % aktiv FHV 1 ausscheidende Katzen. Nach Entfernung dieser Tiere und der Gabe von 5 mg/kg KM Methylprednisolon wurden 21 % der verbliebenen Tiere als Virusausscheider identifiziert und aus dem Bestand entfernt. Sechs Wochen später - nach erneuter Gabe des Kortisons - schieden erneut 12 % der verbliebenen Tiere Virus aus.

ELLIS (1982) provozierte durch die Verabreichung von Kortison eine FHV-1-Aktivierung, die bei 16 latent infizierten Katzen zum erneuten Ausscheiden von Virus führte. Nach Tötung der Tiere wurden neuronale Gewebe von Trigemininalganglien, Nervi maxillares, Riechlappen und Nervenendigungen, lymphatische Gewebe aus Tonsillen, Lnn. submandibulares und der Milz sowie auch Gewebe der Ohrspeicheldrüse virologisch untersucht. Mit keiner der von ihm eingesetzten Zellkulturtechniken konnte aus irgendeiner Probe FHV 1 isoliert werden. GASKELL et al. (1985) konnten aus den Trigemininalganglien von nur 3/17 (18 %) latent mit einem Feldvirus infizierten Katzen mittels einer "tissue fragment culture technique" FHV 1 anzüchten. Diese Zahl entspricht ziemlich genau den 19 % (5/26 Tieren), die NASISSE et al. (1992) ebenfalls bei latent infizierten Tieren ermitteln konnten. Bei keinem der Tiere war zum Zeitpunkt der Tötung Virus aus Rachen- / Augentupfern nachzuweisen.

2.1.1.8.2. Nachweis des FHV 1 mittels PCR nach Reaktivierung latenter Infektionen

Die in den letzten Jahren verstärkt zur Diagnostik eingesetzte PCR erleichtert gerade bei latent infizierten Katzen den Nachweis einer FHV-1-Infektion. Die Studie von REUBEL et al.

(1993) zeigte deutlich die Vorteile der PCR auf: während die zellkulturellen Virusnachweise bei latent infizierten Tieren durchweg negativ verliefen, konnte FHV-1-Antigen mittels PCR aus Nervus trigeminus und Riechkolben bei 3/4, den Nasenturbinalien von 2/4 Tieren und den Sehnerven und Corneae von 2 der untersuchten Katzen nachgewiesen werden. Bei latent infizierten Katzen, die nach Kortisongabe Virus akut ausschieden, wurde das Virus in Rachentupfern gleichermaßen mittels PCR und Zellkultur gefunden. Deutliche Unterschiede ergaben Untersuchungen der Nervi trigemini, der Sehnerven, der Nasenturbinalien sowie der Corneae: in der Zellkultur wurden nur negative Ergebnisse erzielt, während mittels PCR bei allen untersuchten Tieren Virusnukleinsäure nachweisbar war. Bei 4/5 der untersuchten Tiere konnte auch in den Riechkolben FHV 1 mittels PCR entdeckt werden, während die Zellkultur negativ blieb. Bei einzelnen Tieren wurde FHV-1-DNA auch in Speicheldrüse, Tränendrüse und auch Tonsillen nachgewiesen, in Trachea, Lunge, Milz und anderen Organen, mit Ausnahme eines einzelnen Fundes in einem Mesenteriallymphknoten hingegen in keinem Fall. Insgesamt bestätigen diese Funde die Neurotropie des FHV 1.

Auch die Untersuchungen von STILES et al. (1997) bekräftigen die Überlegenheit der PCR gegenüber der Virusisolation, auch geringe Mengen FHV-1-DNA bei akut und chronisch kranken Katzen sowie inapparenten Virusträgern nachzuweisen. Bei Katzen mit einer respiratorischen Symptomatik konnte mittels PCR bei 80 % der Rachentupfer und 87 % der Konjunktivaltupfer ein FHV-1-Nachweis geführt werden, während eine Virusisolation aus Rachentupfern in 20 % und aus Konjunktivaltupfern in nur 7 % der Fälle gelang. Bei 16 Katzen mit Konjunktivitis als einzigem Symptom konnte kein Virus aus Konjunktivaltupfern gewonnen werden, während die PCR in 50 % der Fälle positiv war. SYKES et al. (1997) untersuchten die Sensitivität der PCR für die Erkennung von FHV 1 bei geimpften und ungeimpften Katzen. Geimpfte Katzen waren zu 34,1 % positiv in der PCR und zu 8,2 % in der Zellkultur, während bei ungeimpften Tieren die Isolationshäufigkeit bei 80,6 % lag, mit Hilfe der PCR aber 96,8 % positive Proben gefunden wurden.

2.1.1.9. Bildung von Serumantikörpern gegen das FHV 1

2.1.1.9.1. Antikörperbildung nach experimenteller Infektion

Schon früh wurde die Antikörperbildung nach experimenteller Infektion mit dem FHV 1 untersucht. So konnten CRANDELL et al. (1961) am 21. Tag p.i. neutralisierende

Serumantikörper gegen das FHV 1 feststellen, an Tag 24 p.i. lag der Titer bei zwei von acht Katzen bei 1 : 4. Auch WALTON und GILLESPIE (1970b) konnten erst 21 Tage nach experimenteller Infektion bei sieben von 12 Katzen Antikörpertiter zwischen 1 : 7 und 1 : 27 messen. Nach einer erneuten Infektion an Tag 21 zeigte kein Tier Krankheitssymptome oder schied Virus aus. Die an Tag 42 bestimmten Antikörpertiter lagen zwischen 1 : 11 und 1 : 53. Am Tag 150 nach der Erstinfektion standen noch 7 der 12 Tiere zur Verfügung. Zwei dieser Katzen wiesen Antikörpertiter von 1 : 64 bzw. 1 : 38 auf, die restlichen 5 Katzen hatten Titer von $\leq 1 : 4$. Eine erneute Infektion führte bei allen Tieren zu milden Krankheitssymptomen, eine Virusausscheidung über mehrere Tage wurde aber nur bei den 5 Katzen mit den niedrigeren Antikörpern gefunden. Sieben Tage nach der 3. Infektion hatten sich die Titer von 4 Katzen signifikant erhöht, ein Tier zeigte nur einen leichten Anstieg, während 2 Tiere bei Titern von 1 : 4 blieben. Nach weiteren 7 Tagen wiesen alle Tiere signifikante Titeranstiege mit Werten zwischen 1 : 22 und 1 : 250 auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß rekonvaleszente Katzen 21 Tage nach der Erstinfektion vor einer Zweitinfektion geschützt waren und auch kein Virus ausschieden, während am Tag 150 nach der Erstinfektion nur noch eine partielle Immunität bei einigen Tieren bestand und Krankheitssymptome und Virusausscheidung beobachtet wurden.

In der von GASKELL und POVEY (1979a) durchgeführten Untersuchung wurden bei 6 von 15 experimentell infizierten Katzen (40 %) nach 16 bis 20 Tagen p.i. neutralisierende Serumantikörper gegen das FHV 1 gefunden. Dieser Anteil stieg auf 73 % (11 von 15 Tieren) zwischen Tag 30 und 34 p.i. an. Die Neutralisationstiter blieben in allen Fällen relativ niedrig; sie lagen zwischen 1 : 4 und 1 : 64 bei einem gemittelten Wert von 1 : 12.

Im Jahre 1970 konnten HOOVER und Mitarbeiter bis zum Tag 13 p.i. bei keiner der von ihnen FHV-1-infizierten SPF-Katzen neutralisierende Serumantikörper nachweisen und auch REUBEL et al. (1992) fanden erst ab dem 14. Tag p.i. Serumantikörperspiegel, welche nach 8 Wochen ihren Höchststand erreichten, während GODDARD (1984) ein Antikörpernachweis bereits zwischen Tag 6 und Tag 13 p.i. gelang. Auch NASISSE et al. (1989b) konnten bei einer von zwanzig Katzen 10 Tage p.i. neutralisierende Antikörper (Titerhöhe 1 : 4) im Serum messen, nach 31 Tagen wiesen alle Tiere Antikörper auf, wobei die Titer zwischen 1 : 4 und 1 : 16 (im Mittel 1 : 8) variierten. Nach 60 Tagen lag der mittlere Titer aller Tiere bei 1 : 16.

BURGENER und MAES (1988) untersuchten die Bildung neutralisierender Antikörper nach experimenteller Infektion mit FHV 1 bei 10 Katzen. Zwei der Tiere wiesen erstmals am Tag 9

p.i. Titer von 1 : 4 auf. An Tag 12 p.i. hatten 9 Katzen positive Titer zwischen 1 : 8 und 1 : 16, beim letzten Tier dieser Gruppe wurde erst an Tag 15 p.i. ein mit 1 : 8 positiver Titer gemessen. Im Laufe der Studie wurden bei 4 Katzen maximale Titerhöhen von 1 : 32 festgestellt, nach 90 Tagen p.i. - am Ende der Untersuchung - konnte bei 9 Tieren ein Titer zwischen 1 : 4 und 1 : 16 gemessen werden. Vom letzten Tier lag nicht genügend Serum für die Untersuchung vor. Weiterhin entdeckten BURGNER und MAES, daß die Antikörperbildung bei allen Katzen in engem zeitlichen Zusammenhang mit dem Nachweis der Immunpräzipitate von 3 viralen Glycoproteinen auftrat, die sie mittels Immunpräzipitation und SDS-Page nachwiesen. Sie folgerten hieraus, daß diese viralen Glyoproteine eine wichtige Rolle in der Induktion neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1 spielen würden.

Übergreifend kann gesagt werden, daß ein direkter Vergleich der Ergebnisse, die von verschiedenen Autoren veröffentlicht wurden, nur begrenzt möglich ist, da die Versuchsprotokolle unter anderem in Hinsicht auf die Gruppenzusammensetzung, Infektionsstamm- und -dosis sowie die Tage (p.i.), an denen Antikörper bestimmt wurden, stark voneinander abwichen.

2.1.1.9.2. Antikörperbildung nach Impfung gegen das FHV 1

Auch im Rahmen der Impfstoffentwicklung wurde neben den klinischen Befunden immer die Antikörperbildung nach Impfung für die Beurteilung der zu testenden Vakzinen herangezogen. So konnten BITTLE und RUBIC (1974) in einer Studie über die Wirksamkeit eines subcutan applizierten Lebendimpfstoffs feststellen, daß 97 % der geimpften Katzen innerhalb von 4 Wochen signifikante Antikörpertiter aufgebaut hatten und nach experimenteller Infektion deutlich mildere Krankheitssymptome zeigten als ungeimpfte Tiere. Die von DAVIS und BECKENHAUER (1976) mit einem modifizierten Lebendimpfstoff gegen FHV 1 und FCV intranasal geimpften Katzen wiesen 21 Tage nach der Impfung mittlere Neutralisationstiter von 1 : 44 für das FHV 1 und 1 : 656 für das FCV auf und waren gegen Belastungsinfektionen weitestgehend geschützt. Auch in der Untersuchung von EDWARDS et al. (1977) konnte bei allen geimpften Tieren eine Serokonversion festgestellt werden. Die 7 Wochen nach der Impfung untersuchten Antikörpertiter lagen im Mittel bei $\geq 9,4$. ORR et al. (1980) impften Katzen mit einer Vakzine intranasal, die attenuierte,

temperatursensitive feline Herpesviren und auch Caliciviren enthielt. Nach dem Auftreten leichter klinischer Krankheitssymptome bei 5 von 8 Katzen konnten sie ab dem 20. Tag nach der Impfung steigende Titer neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1 messen, die am 79. Tag zwischen 1 : 5,0 und 1 : 5,5 (im Mittel 1 : 5,2) lagen. Am 79. Tag wurde den Tieren ein aufgereinigtes, virulentes FHV-1-Feldisolat intranasal appliziert, woraufhin die Neutralisationstiter im Serum der Katzen bis zum Versuchsende am 261. Tag kontinuierlich auf Werte zwischen 1 : 6,0 und 1 : 7,5 (im Mittel 1 : 6,7) anstiegen. Den ungeimpften Kontrollkatzen, die keinen positiven FHV-1-Neutralisationstiter aufwiesen, wurde am 79. Untersuchungstag ebenfalls das virulente Feldvirus intranasal verabreicht - sie zeigten in der Folge langsamere Anstiege der Neutralisationstiter, die am Ende der Untersuchung Werte zwischen 1 : 4,5 und 1 : 6,0 (im Mittel 1 : 5,2) erreichten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß durch alle o.a. Vakzinen ein begrenzter Impfschutz aufgebaut wurde. Die Katzen erkrankten zwar nicht so schwer wie ungeimpfte Tiere, ein vollständiger Schutz wurde aber nicht erreicht. Eine Korrelation zwischen der Höhe des Neutralisationstiter nach Impfung und dadurch bestehendem Schutz wurde von keinem Untersucher beobachtet.

2.1.1.9.3. Übertragung von Antikörpern vom Muttertier auf die Katzenwelpen

Eine Übertragung von maternalen Antikörpern vom Muttertier auf die Welpen erfolgt bei Katzen primär postnatal über die enterale Resorption aus dem Kolostrum. Eine transplazentare Passage von Immunglobulinen kann aufgrund der placentaren Verhältnisse (Placenta endotheliochorialis) bei der Katze nicht erfolgen (SCHNORR, 1985).

Im Jahr 1977 veröffentlichten EDWARDS et al. Daten über den Abfall maternaler Antikörper bei Katzenwelpen. Diese von ihnen genannten Zahlen sind in der Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Abfall der maternalen Antikörper im Serum von Katzenwelpen
(nach EDWARDS et al., 1977)

| Lebensalter (Wochen) | 5 - 6 | 6 - 7 | 7 - 8 | 8 - 9 | 9 - 10 | 10 - 11 | 11 - 12 |
|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Antikörpertiter | 1 : 9,2 | 1 : 8,7 | 1 : 6,0 | 1 : 3,2 | 1 : 1,6 | 1 : 0,7 | 0 |

Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich, kommt es ab ca. der 8. Woche zu einem starken Abfall der maternalen Antikörpertiter, die sich dann innerhalb von Wochenfrist ungefähr halbieren. Nach der 11. Woche war kein positiver Titer mehr nachzuweisen.

GASKELL und POVEY (1982) fanden keine Korrelation zwischen den prä partum bestimmten Antikörpertitern bei 9 von 10 Kätzinnen und den Titern, die innerhalb der ersten Lebenswoche bei deren Welpen erhoben wurden. Lediglich bei der zehnten Katze, die mit 1 : 512 den höchsten Titer aufwies, schien ein Zusammenhang erkennbar, da ihre Welpen die höchsten und am längsten anhaltenden Titer zeigten. Bei den einzelnen Welpen fielen die Antikörperspiegel zwischen zwei und zehn Wochen unterhalb von 1 : 4, anhand einer Regressionsanalyse wurde die Halbwertszeit der Antikörper auf 18,5 Tage berechnet.

2.1.1.9.4. Antikörperprävalenz in natürlichen FHV-1-Infektionen

Im Rahmen von epidemiologischen Studien über die Verbreitung von FHV-1-Infektionen in der Katzenpopulation wurden von verschiedenen Autoren stark unterschiedliche prozentuale Anteile FHV-1-seropositiver Katzen veröffentlicht. So fanden STUDDERT und MARTIN (1970a) bei der Untersuchung von 45 Serumproben, die in einer großen australischen Tierklinik sowohl bei an Katzenschnupfensymptomen als auch an anderen Erkrankungen leidenden Tieren entnommen wurden, bei 50 % der Tiere Antikörper gegen das FHV 1 und Antikörper gegen zwei verschiedene feline Calicivirustämme bei 87 % bzw. 96 % der Katzen. Diese Zahlen entsprechen ungefähr den auch von POVEY und JOHNSON (1971) gefundenen. Sie stellten bei 52,4% der Katzen aus Privathaushalten und bei 76,5 % der Katzen aus Katzensuchten oder Versuchstierhaltungen Antikörper gegen das FHV 1 fest, während 82% der Tiere Antikörper gegen verschiedene Calicivirustämme aufwiesen. LAURENT et al. (1977) fanden in drei verschiedenen Regionen Frankreichs Antikörpertiter von 27 %, 30 % bzw. 44 % gegen FHV 1, Antikörper gegen verschiedene feline Calicivirustämme wiesen über 80 % der untersuchten Katzen auf. Die Untersuchung von HERBST et al. (1988) ergab in 86/170 (50,6 %) zufällig gesammelten Katzenserum neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1. Da die Untersuchungen unter einer anderen Fragestellung durchgeführt wurden, erfolgte ebenso wie bei NASISSE et al. (1993) keine Bestimmung gegen FCV gerichteter Antikörper: hier konnten die Untersucher bei 35/42

Katzen (83 %) mit chronischer Konjunktivitis Antikörper gegen das FHV 1 nachweisen. Die Untersuchung von 203 Serumproben von 166 klinisch kranken Katzen mit respiratorischen Symptomen durch FINDIK (1994) ergab in 59,1 % der Proben neutralisierende Antikörper gegen FHV 1 und in 85,3 % der Seren Antikörper gegen FCV.

Die Zusammenfassung der Resultate der verschiedenen Untersucher hinsichtlich der Betrachtung der Serumantikörperspiegel in Kombination mit den klinischen Befunden erbringt eine Vielzahl unterschiedlicher Ergebnisse. Das wichtigste ist die Erkenntnis, daß die Höhe der Antikörpertiter allein keinesfalls als Maß für eine Immunität gegen Wiederholungsinfektionen anzusehen ist. So wurden Katzen gefunden, die nach primärer Infektion keine meßbaren Serumantikörperspiegel ausbildeten und trotzdem vor einer Zweitinfektion geschützt waren wie auch Katzen, die ohne Krankheitsanzeichen eine Serokonversion durchmachten. Einzelne Tiere infizierten sich ohne klinische Symptome zu zeigen, wurden zu latenten Trägern und schieden nach Immunsuppression infektiöses Virus aus (GASKELL und POVEY, 1979a).

Die von experimentell infizierten Katzen aufgebauten Antikörpertiter waren meist relativ niedrig und lagen zwischen 1 : 4 und 1 : 64 (CRANDELL et al., 1961; WALTON und GILLESPIE, 1970b; POVEY, 1970; GODDARD, 1984; BURGNER und MAES, 1988; NASISSE et al, 1989b). Bei Erstinfektionen verlief das erste Auftreten von Antikörpern häufig parallel zu einer Verminderung oder Beendigung der Virusausscheidung (GASKELL und POVEY, 1979a), eine Beobachtung die auch von WALTON und GILLESPIE (1970b), (s.o.) bei einer Wiederholungsinfektion gemacht wurde, bei der die Katzen mit den höchsten Antikörpertitern zwar auch Symptome zeigten, aber kein Virus ausschieden.

Im Allgemeinen stiegen nach Wiederholungsinfektionen die Antikörpertiter an und blieben dann auch längere Zeit erhöht. Trotzdem kam es immer wieder bei einzelnen Katzen zu Krankheitsschüben, während derer auch Virus ausgeschieden wurde. Aus der Beobachtung dieses Phänomens resultierte die Vermutung, daß ähnlich wie bei der Herpes-simplex-Infektion des Menschen (LOPEZ und O'REILLY, 1977), nicht die Serumantikörper allein entscheidend für die Verhinderung von latenten Infektionen sind, sondern auch anderen Faktoren der humoralen und der zellulären Immunität eine wichtige Rolle hierbei zufällt.

2.1.1.10. Grundsätzliche Mechanismen der humoralen und der zellulären Immunität

Die zelluläre Immunität stellt zusammen mit der humoralen Immunität ein Netzwerk eng miteinander verknüpfter und sich ergänzender unspezifischer und spezifischer Mechanismen dar, das den Säugetierorganismus vor Infektionen mit pathogenen Erregern schützen soll. In der Tabelle 7 ist eine kurze tabellarische Übersicht über diese Mechanismen dargestellt, die modifiziert nach KELLER (1994) wiedergegeben wurde.

Tabelle 7: Mechanismen der humoralen und zellulären Immunität (nach KELLER, 1994)

| Art der Immunität | Mechanismen | |
|-------------------|---|---|
| | Unspezifische | Spezifische |
| Humoral | Komplementsystem, natürliche Antikörper, Interferone, Lysozym u.a. bakterizide Stoffe | Antikörper: Immunglobuline der Klassen IgM, IgG, IgA, IgE |
| Zellulär | Neutrophile, Basophile und Eosinophile Granulozyten, Monozyten/ Makrophagen | Immunkompetente T-Zellen, T-Helferzellen, T-Suppressorzellen, Zytotoxische T-Zellen |
| | Natürliche Killer-Zellen, LAK-Zellen (Lymphokin-aktivierte Killerzellen) | |

Die unspezifischen Abwehrmechanismen humoraler und zellulärer Art werden auch als angeborene Immunität bezeichnet (KELLER, 1994), da sie bei gesunden Individuen von Geburt an vorhanden und reaktionsfähig sind. Im Gegensatz hierzu entwickeln sich die spezifischen humoralen und zellulären Mechanismen, die von den Lymphozyten getragen werden, erst nach Kontakt mit den verschiedensten Substanzen, die als Antigene bezeichnet werden, zu ihrer vollen Leistungsfähigkeit. Für die optimale Reaktion des Körpers auf ein Antigen ist allerdings ein enges Zusammenspiel der spezifischen mit den unspezifischen Mechanismen notwendig.

Es existieren verschiedene Testverfahren, um in vivo oder in vitro Informationen über die zellvermittelte Immunität zu sammeln. Eines der ersten Testverfahren waren Intrakutantests zur Feststellung von Allergien vom verzögerten Typ. Weiterhin werden Adoptive-Transfer-Versuche durchgeführt, in denen z.B. immunkompetente Zellen zwischen Tieren übertragen

werden, Leukozyten-Migrations-Inhibitions-Versuche, Zytotoxizitätstests und Lymphozytenproliferationstests. In Zytokin-Tests werden entweder Zytokinkonzentrationen direkt, die Effekte von Zytokinen auf andere Biosysteme, oder die für diese Zytokine codierende mRNA gemessen (COE CLOUGH und ROTH, 1995).

2.1.1.10.1. Zelluläre und humorale Abwehrmechanismen bei FHV-1-Infektionen

In ihren Untersuchungen über mögliche immunologische Mechanismen, die eine interzelluläre FHV-1-Ausbreitung kontrollieren können, stellten WARDLEY et al. (1976) fest, daß hierfür prinzipiell drei Möglichkeiten existieren. So können FHV-1-infizierte Zellen durch FHV-1-spezifische Antikörper und Komplement oder durch antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität zerstört werden, bevor sich das Virus interzellulär verbreitet, während die direkte T-Zell-bedingte Zytotoxizität nicht früh genug auftritt, um eine Virusverbreitung zu verhindern.

COCKERELL et al. (1975) konstatierten, daß Lymphozytenproliferationstests ein in vitro Korrelat der T-Lymphozytenfunktion darstellen. Deshalb wurden in einigen Untersuchungen neben Stimulationen der Lymphozyten mit Mitogenen auch FHV-1-spezifische Lymphozytenproliferationstests durchgeführt. Es war GODDARD (1984), die in ihrer Studie die Untersuchungsansätze von WARDLEY et al. (1976) weiter verfolgte und ausbaute und auch die ersten Ergebnisse über einen FHV-1-spezifischen Proliferationstest veröffentlichte. In ihren serologischen Untersuchungen stellte sie fest, daß ungefähr gleichzeitig mit dem Auftreten neutralisierender Antikörper auch Antikörper gemessen werden konnten, die in Verbindung mit Komplement direkt zytotoxisch wirkten und die Ausbreitung des FHV 1 in vitro reduzierten, eine Virusausbreitung aber nicht sicher verhinderten.

Die Studie von COCKER et al. (1986) ergab, daß neben der Bildung von FHV-1-spezifischen IgA- und IgM-Antikörpern, die allerdings keine neutralisierende Aktivität zeigten, auch erhöhte Interferonspiegel bei experimentell FHV-1-infizierten Katzen gemessen werden konnten. Die von ihnen nach der Methode von GODDARD (1984) durchgeführten Lymphozytenproliferationstests ergaben sechs Tage nach einer Belastungsinfektion mit virulentem FHV 1 bei geimpften Katzen niedrig positive Stimulationsergebnisse.

THAM und STUDDERT (1987) untersuchten ebenfalls humorale und zelluläre immunologische Parameter. Sie konnten für das FHV 1 eine MHC-restringierte Zytotoxizität

durch zytotoxische T-Zellen nachweisen und vermuteten NK-Zellen sowie Neutrophile Granulozyten als Effektorzellen der von ihnen festgestellten antikörperabhängigen Zytotoxizität. Spezifische Zytotoxizität wurde zwar auch bei einer ungeimpften Katze beobachtet, trat bei den geimpften Tieren jedoch deutlich häufiger auf. In den von ihnen durchgeführten Proliferationstests konnten sie eine FHV-1-spezifische Proliferation von Lymphozyten bei geimpften und anschließend experimentell infizierten Katzen nachweisen, wobei die höchsten Werte ca. 14 Tage p.i. gefunden wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß von o.a. Autoren vornehmlich mit Hilfe von Zytotoxizitäts- und Lymphozytenproliferationstests gewonnene Ergebnisse über Abwehrmechanismen bei FHV-1-Infektionen veröffentlicht wurden. Sie stellten dar, wie ein Organismus durch das Zusammenspiel verschiedener humoraler oder aber zellulärer und humoraler Faktoren die Ausbreitung einer FHV-1-Infektion stoppen oder zumindest verlangsamen kann.

Die hierbei von einzelnen Untersuchern durchgeführten Lymphozytenproliferationstests mit FHV 1 als spezifischem Stimulans erbrachten bei geimpften Tieren nach einer Belastungsinfektion niedrig positive Ergebnisse, während vor einer Belastungsinfektion oder bei ungeimpften Katzen keine positiven Stimulationsreaktionen gemessen wurden.

2.1.2. Feline Caliciviren (FCV)

Im Rahmen des Katzenschnupfenkomplexes sind Feline Caliciviren neben dem FHV 1 das wichtigste Pathogen. Sie wurden erstmals im Jahr 1957 von FASTIER in Neuseeland isoliert und in den folgenden Jahren von vielen Untersuchern auf verschiedenen Kontinenten (BITTLE et al., 1960; CRANDELL und MADIN, 1960; LINDT et al., 1965; KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; SPRADBROW et al., 1970b) als Auslöser von Krankheitssymptomen bei Katzen gefunden.

2.1.2.1. Virusmorphologie und antigene Eigenschaften

Feline Caliciviren sind unbehüllte RNS-Viren. Nach ihrer Entdeckung zunächst als Picornaviren klassifiziert, wurden sie dann aber aufgrund physikalisch-chemischer und morphologischer Kriterien als Caliciviren eingestuft (BURROUGHS und BROWN, 1974). Elektronenmikroskopisch stellen sie sich als sphärische, nackte Partikel dar, deren Größe zwischen 37 und 40 nm beträgt. Das Nukleokapsid besteht aus 32 hohlen, becherförmigen, hexagonal angeordneten Kapsomeren. Sie weisen ein einziges Strukturprotein auf, dessen Molekulargewicht 65 kD beträgt (GILLESPIE und SCOTT, 1973), seine Dichte im CsCl - Gradienten liegt bei $1,38 \text{ g/cm}^3$ (BURROUGHS und BROWN, 1974).

Alle feline Caliciviren gehören dem gleichen Serotyp an. Es existiert eine große Anzahl verschiedener Stämme, die Serovarianten darstellen (GASKELL und WARDLEY, 1977), da die Kreuzneutralisation einzelner Stämme sehr unterschiedlich ist (TRUYEN, U. und SCHUNCK, B., 1996). Von verschiedenen Untersuchern wurden FCV-Stämme untersucht, die sich in unterschiedlichem Grade serologisch unterscheiden (BITTLE et al., 1960; BÜRKI, 1965; PRYDIE, 1966; CRANDELL, 1967; STUDDERT und MARTIN, 1970a; POVEY, 1970; STUDDERT, 1978). Als Referenzstamm wird der Stamm FCV-F9 angesehen (KNOWLES et al., 1990), der von den meisten Antisera gegen Feldisolate neutralisiert wird. Gegen FCV-F9 selber gerichtete Antisera neutralisieren die meisten anderen Stämme, wobei von PEDERSEN et al. (1983) zwei Stämme isoliert wurden, die von diesen Antisera nicht neutralisiert wurden.

2.1.2.2. Widerstandsfähigkeit des FCV gegen äußere Einflüsse

Auch das FCV wird sowohl durch chemische als auch physikalische Einflüsse inaktiviert, seine Stabilität ist etwas größer als die des FHV 1.

2.1.2.2.1. Chemische Faktoren

Das FCV wird als unbehülltes Virus durch Chloroform oder Äther nicht inaktiviert (BÜRKI, 1965; BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968). BÜRKI (1965) und CRANDELL und WEDDINGTON (1967) wie auch STUDDERT und MARTIN (1970a) stellten fest, daß auch halogenierte Basenanaloga wie Joddesoxyuridin, Bromdesoxyuridin und Fluordesoxyuridin es nicht inaktivieren. Das FCV ist nur bedingt säurestabil. Bei pH-Werten von 2 - 3 treten signifikante Titerabfälle auf. Seine Stabilität nimmt aber mit steigendem pH-Wert zu (STUDDERT und MARTIN, 1970; LEE und GILLESPIE, 1973) und bei einem pH-Wert von 5 war das Virus stabil.

2.1.2.2.2. Physikalische Faktoren

Während das Virus durch Einfrieren seine Infektiosität nicht verliert, nach GILLESPIE und SCOTT (1973) war es bei -65°C über 4 Jahre ohne Titerverluste lagerfähig, ist es anfällig gegen Erwärmung. Eine Inaktivierung trat nach Erhitzung auf 50°C für 30 Minuten ein (BÜRKI, 1965; CRANDELL und WEDDINGTON, 1967; KAHN und GILLESPIE, 1971). Durch Gefriertrocknung wird das Virus kaum beeinträchtigt (CRANDELL et al. 1960; GILLESPIE und SCOTT, 1973).

2.1.2.3. Pathogenese

Die Infektion mit FCV erfolgt in den meisten Fällen über den Nasen-Rachenraum. Nach primärer Vermehrung der Viren an der Eintrittspforte erfolgt eine transiente Virämie (CRANDELL und MADIN, 1960; POVEY, 1970), bei der es zur Vermehrung in den Epithelien des Nasen-Rachenraumes, Konjunktiven, Zunge, Gaumen, Tonsillen und anderen

Gewebe (BÜRKI, 1965; GILLESPIE und SCOTT, 1973) kommt. Nach experimentellen Infektionen mittels eines Aerosols wird ein biphasischer Fieberverlauf beobachtet. Der erste Temperaturanstieg tritt 24 Stunden p.i. auf, der zweite nach 4 - 7 Tagen (KAHN und GILLESPIE, 1971).

2.1.2.4. Epizootiologie

2.1.2.4.1. Übertragung und Inkubation

Von akut kranken aber auch von genesenen, klinisch unauffälligen Katzen wird das Virus mit dem Speichel und mit Augen- und Nasensekret ausgeschieden (POVEY und JOHNSON, 1970; GILLESPIE und SCOTT, 1973; WARDLEY und POVEY, 1976). Die Ausscheidung mit Kot und Urin kommt wohl vor, ist aber epizootologisch eher nicht als Hauptproblem anzusehen (BARTHOLOMEW und GILLESPIE, 1968; POVEY und JOHNSON, 1970; WARDLEY und POVEY, 1976).

Neben der direkten Übertragung von einem Tier zum anderen spielt nach WARDLEY und POVEY (1977a) die indirekte Übertragung z.B. durch Personen oder Gegenstände wie z.B. Futterschüsseln bei der Übertragung von Caliciviren eine wichtige Rolle, während weder akut noch chronisch infizierte Katzen Virus als Aerosol ausscheiden.

Im Gegensatz zum FHV 1 erfolgt die Virusausscheidung bei von FCV Infektionen genesenen Tieren kontinuierlich und zwar fast ausschließlich über den Oropharynx, wobei keine Beeinflussung durch künstliche (Adrenalin bzw. Glukokortikoidapplikation) oder natürliche Streßfaktoren (Temperaturänderungen) feststellbar war (WARDLEY, 1976).

Bei einem über 11 Monate isoliert gehaltenen Tier, das regelmäßig untersucht wurde, konnte aus 35 von 37 Rachentupfern, sowie aus einzelnen, rektal entnommenen Tupfern FCV isoliert werden (POVEY und JOHNSON, 1970). POVEY et al. (1973) wiesen nach, daß betroffene Katzen nach dem Überstehen einer Infektion über 2,5 Jahre hinweg durchgehend infektiöses Virus ausschieden, ohne klinische Symptome zu zeigen. Auch WARDLEY und POVEY (1976) konnten noch lange nach Verschwinden aller klinischen Symptome eine Virusausscheidung feststellen.

Verschiedene Studien (PIERCY und PRYDIE, 1963; WALTON und GILLESPIE, 1970b, BÜRKI, 1965; POVEY und JOHNSON, 1971; WARDLEY et al., 1974) ergaben positive

FCV-Nachweise aus Rachentupfern bei klinisch gesunden Katzen, wobei nicht klar ist, ob es sich um Tiere handelte, die zu diesem Zeitpunkt keine Symptome mehr zeigten, oder um Tiere, die mit einem wenig pathogenen FCV-Stamm infiziert waren und niemals eine klinische Symptomatik gezeigt hatten. Diese symptomlosen Ausscheider spielen eine wichtige Rolle in der Epizootiologie der Erkrankung.

Die Inkubationszeit nach experimenteller Infektion liegt bei 1 - 2 Tagen (WARDLEY und POVEY, 1976), STUDDERT (1978) gibt eine Spanne von 3 - 5 Tagen an. Bei direkter Übertragung von kranken auf gesunde Tiere stellte WARDLEY (1976) eine Abhängigkeit von der Menge der ausgeschiedenen Viren fest. Während hochgradige Virusausscheider empfängliche Kontrolltiere innerhalb von 2 - 3 Tagen infizierten, lag diese Zeitspanne für geringgradige Ausscheider bei 11 - 13 Tagen.

2.1.2.4.2. Krankheitssymptome, -dauer und -verlauf

Die von felinen Caliciviren vorgerufenen Symptome sind sehr vielfältig, was darin begründet ist, daß Calicivirusstämme verschiedener Virulenz existieren. So gibt es Stämme, die symptomlose Infektionen hervorrufen, wie auch hochgradig virulente, wie z.B. der pneumotrope Stamm FCV-255, der zu interstitiellen Pneumonien führt (KAHN und GILLESPIE, 1971, HOOVER und KAHN, 1973). FASTIER (1957), BÜRKI (1965) und auch POVEY und HALE (1974) beobachteten völlig symptomlos verlaufende Infektionen, CRANDELL und MADIN (1960), FLAGSTAD (1973) und auch WARDLEY und POVEY (1976) mild verlaufende, respiratorische Symptome. Neben respiratorischen Symptomen werden auch Ulcera der Mundschleimhaut und vor allem der Zunge durch die Caliciviren ausgelöst (KARPAS und ROUTLEDGE, 1968; FLAGSTAD, 1973; WARDLEY und POVEY 1976), die bei einigen Katzen das einzige Symptom sind (POVEY und JOHNSON, 1971). KAHN und GILLESPIE (1971), HOOVER und KAHN (1973) wie auch WARDLEY und POVEY (1977b) beobachteten dahingegen auch schwere Verläufe mit interstitiellen Pneumonien und Todesfällen.

Die Untersuchungen von LINDT et al. (1965) ergaben, daß die serös-katarrhalischen Entzündungssymptome im Laufe einer Calicivirusinfektion meist auf das Gebiet des Nasenrachenringes beschränkt blieben, chronisch-katarrhalische Veränderungen wurden nur

bei bakteriellen Sekundärinfektionen gefunden. Eine Gruppe experimentell infizierter Katzen zeigte intermittierenden serösen, wenig produktiven Schnupfen und Husten, weitere mit einem anderen Serotyp infizierte Tiere erschienen nur matter und hatten subfebrile Temperaturen, litten aber weder an Husten noch an Schnupfen. Ein seltener beobachtetes Krankheitsbild ist das Auftreten von Lahmheiten infolge von Gelenkentzündungen durch Infektionen mit bestimmten FCV-Stämmen, wie sie von CRANDELL und MADIN (1960) sowie PEDERSEN et al. (1983) beschrieben wurden.

Die Krankheitsdauer ist variabel und hängt neben der Virulenz des FCV-Stammes auch davon ab, ob Sekundärinfektionen hinzukommen. Nach KAHN und GILLESPIE (1971) und PRYDIE (1966) beträgt sie zwischen 7 und 10 Tagen, kann aber auch mehrere Wochen andauern. HOOVER und KAHN (1973), die mit dem pneumotropen Stamm FCV-255 arbeiteten, konnten feststellen, daß die Pneumonien nach 3 Wochen abgeheilt waren.

Natürliche Infektionen werden vornehmlich bei Katzenwelpen und Jungkatzen (HOOVER und KAHN, 1973; WARDLEY und POVEY, 1977a,b) v.a. in Katzensuchten und Mehrkatzenhaushalten, also in Fällen gefunden, in denen die Katzendichte hoch ist. Die meisten Katzen machen im Laufe ihres Lebens Infektionen mit verschiedenen FCV-Stämmen durch. Diese Infektionen sind aber nach PEDERSEN et al. (1983) meist aufgrund einer sich entwickelnden Altersresistenz ohne große klinische Relevanz, wenn keine anderen Erkrankungen hinzukommen.

2.1.2.5. Nachweis von FCV-Infektionen

In klinischen Erkrankungsfällen wird ein FCV-Nachweis meist nicht geführt, da wie auch bei FHV-1-Infektionen aus einem positiven Befund keine therapeutische Konsequenz resultieren würde. Für wissenschaftliche Fragestellungen ist der Virusnachweis in Zellkulturen felines Ursprungs (GILLESPIE und SCOTT, 1973) leicht zu führen, da infizierte Katzen das Virus nahezu kontinuierlich ausscheiden.

2.1.2.6. Bildung von Serumantikörpern gegen das FCV

Die Antikörperbildung nach experimenteller Infektion wurde von verschiedenen Autoren untersucht. So fanden KAHN und GILLESPIE (1971) bei den von ihnen experimentell infizierten Katzen ab dem fünften Tag p.i. Antikörper, an Tag 7 p.i. lagen die Antikörpertiter zwischen 1 : 4 und 1 : 64, stiegen bei allen Katzen an und lagen an Tag 34 zwischen 1 : 16 und 1 : 190. FLAGSTAD (1973) konnte innerhalb von 10 bis 17 Tagen Antikörpertiter von 1 : 40 feststellen, die in den nächsten Wochen noch auf Werte von 1 : 160 bis 1 : 1280 anstiegen.

Ein interessantes Phänomen ist das Auftreten von heterologen Antikörpern, wie es erstmalig von KAHN et al. (1975) für das FCV beschrieben wurde. Bei experimentell mit einem FCV-Stamm niedriger Virulenz infizierten Katzen kam es bis zum Tag 14 p.i. zur Bildung von homologen, neutralisierenden Antikörpern, d.h. Antikörpern gegen den Infektionsstamm selber. Bis zum Tag 35 wiesen 4 von 6 Katzen auch heterologe Antikörper gegen einen weiteren FCV-Stamm auf, die sie auch gegen eine Belastungsinfektion mit diesem Stamm schützten. Serumneutralisationstests ergaben, daß die homologen Antikörpertiter aber immer in höheren Titern vorlagen.

Trotz des Vorhandenseins von neutralisierenden Serumantikörpern können bei Katzen neben Reinfektionen mit demselben Virusstamm auch Infektionen mit anderen FCV-Stämmen auftreten, da die Kreuzneutralisation einzelner Stämme zwischen 50 und 95 % variiert (TRUYEN, 1995).

Maternale Antikörper gegen das FCV werden über das Kolostrum vom Muttertier auf die Welpen übertragen. Die Untersuchungen von JOHNSON und POVEY (1983) ergaben, daß die Antikörpertiter der von ihnen untersuchten Welpen 7 Tage post partum ebenso hoch waren wie die ihrer Mütter, um danach langsam abzufallen. Zwischen der zehnten und vierzehnten Woche waren keine Antikörper mehr nachzuweisen. Die Halbwertszeit der maternalen Antikörper lag bei ca. 15 Tagen. Die Ergebnisse verschiedener Untersucher besagen, daß diese maternalen Antikörper zwar einen gewissen Schutz bieten, der aber niemals vollständig ist (GILLESPIE und SCOTT, 1973). Auch KAHN und GILLESPIE (1971) stellten fest, daß Katzenwelpen mit niedrigen maternalen Antikörpertitern vor Infektionen nicht geschützt waren, die Mortalität aber niedriger war, als bei Welpen ohne Antikörper.

Von verschiedenen Autoren wurden Daten über die Prävalenz von Antikörpern gegen das FCV in der Katzenpopulation veröffentlicht. Da diese Untersucher meist auch gleichzeitig

Antikörper gegen das FHV 1 bestimmten, sind diese Daten zur besseren Übersicht unter Punkt 2.1.1.9.4 zusammen aufgeführt worden.

2.1.3. Reoviren

Alle bisher bei Säugern bekannt gewordenen Reoviren gehören einem von 3 Serotypen an, eine Speziesspezifität existiert bei ihnen nicht.

Antikörper gegen Reoviren konnten von verschiedenen Untersuchern bei Katzen gefunden werden. So fanden SCOTT et al. (1970) in 50 % der untersuchten Seren Antikörper gegen Reovirus Typ 3, HONG (1970) (zitiert nach GILLESPIE und SCOTT, 1973) in 71 % der von ihm untersuchten Seren Antikörper gegen Reovirus Typ 1. KNECHT (1979) untersuchte im Rahmen ihrer Dissertation Serumproben von Katzen auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen verschiedene Erreger, die mit dem Katzenschnupfenkomplex in Zusammenhang gebracht werden. Sie fand hierbei in 1 von 76 Proben Antikörper gegen Reovirus Typ 1 und in 17 von 76 Proben gegen Reovirus Typ 3. Auch MOCHIZUKI et al. (1992) stellten fest, daß Antikörper gegen Reovirus Typ 3 weiter verbreitet waren als jene gegen Reovirus Typ 1, Antikörper gegen Reovirus Typ 2 wurden am seltensten gefunden.

In Einzelfällen wurde das Virus aus klinisch kranken Katzen isoliert, die unter Durchfällen bzw. Ataxien litten, aber keine respiratorischen Symptome aufwiesen (SCOTT et al., 1970; CZISA et al., 1972). Nach experimenteller Infektion von 2 Katzen mit Reovirus Typ 3 (SCOTT et al., 1970) traten bei diesen Tieren sowie bei 16 von 28 Kontakttieren Krankheitssymptome wie Gingivitiden und Konjunktivitiden mit Photophobie und serösem Augenausfluß ohne Fieber auf, eine Katze litt unter geringgradigem Nasenausfluß.

Die erstmalige Isolation von Reovirus Typ 2 gelang MUIR et al. (1992) aus Kotproben von Katzen mit und ohne Durchfall. Kurze Zeit nach ihm gelang dies auch MOCHIZUKI et al. (1992) und MOCHIZUKI und UCHIZONO (1993). Experimentelle Infektionen von Katzen mit den gefundenen Isolaten führten bei einigen Tieren zu milden Diarrhoen, es kam bei allen Katzen zur Ausbildung eines Antikörpertiters, während Erkrankungssymptome von Seiten des Respirationstraktes bisher nicht dokumentiert wurden.

Die Anzucht der Reoviren stellt besondere Ansprüche an die Zellkultur. Mit den herkömmlichen Methoden, die für den Nachweis von FHV 1 und FCV eingesetzt werden, ist

er nicht möglich. Das Auftreten eines für Reo-Viren spezifischen zytopathischen Effekts mit Auftreten von typischen Einschlusskörperchen ist nicht vor Ablauf von 10 Tagen zu erwarten (GILLESPIE und SCOTT, 1973).

Insgesamt gesehen kann man davon ausgehen, daß Infektionen mit Reoviren, v.a. mit Reovirus Typ 3, bei Katzen vorkommen. Diese Tiere reagieren auch mit Antikörperbildung, in natürlichen Infektionen konnten bisher aber nur leichte gastrointestinale Symptome bei Katzen beobachtet werden, so das eine Bedeutung in natürlichen Katzenschnupfeninfektionen aufgrund der aus der Literatur bekannten Daten nahezu ausgeschlossen werden kann.

2.1.4. Chlamydien

Die zur Familie der Chlamydiaceae gehörenden Chlamydien, früher auch Miyagawanellen oder Bedsonien genannt, wurden erstmals von BAKER (1942, 1944) beschrieben und von ihm als Viren eingeschätzt. Sie sind die einzigen Erreger, die neben Herpes- und Caliciviren im Rahmen des Katzenschnupfens als primäre Pathogene einzuschätzen sind (FORD und LEVY, 1994).

Chlamydien leben streng intrazellulär und weisen sowohl Charakteristika auf, die Bakterien zuzuordnen sind, als auch solche, die sie den Viren zugehörig erscheinen lassen. BAKER (1944) beschrieb sie als Erreger chronischer Erkrankungen der Atemwege und der Konjunktiven bei Katzen. Da vereinzelt auch Pneumonien bei Katzen auftraten, wurden Chlamydieninfektionen im englischen Sprachraum lange als "feline Pneumonitis" bezeichnet, die typischen Symptome bei infizierten Katzen sind aber eher Entzündungen der Schleimhäute von Augen und Nase (CELLO, 1971; OTT, 1971; HOOVER et al., 1978).

Bei experimenteller Infektion (HOOVER et al., 1978) lag die Inkubationszeit zwischen 5 und 10 Tagen. Die ersten Symptome waren zumeist einseitige Konjunktivitiden, die dann auf das zweite Auge übergreifen und auch in chronisch-rezidivierende Verlaufsformen übergehen können (GASKELL, 1986). Es treten auch schwerer wiegende Verlaufsformen auf, bei denen eine Schnupfensymptomatik oder fokale Pneumonien beobachtet werden (HOOVER, 1978). So isolierte auch JOHNSON (1984) aus Nasen- und Augentupfern einer Katze, die unter einer bilateralen Konjunktivitis, Augen- und Nasenausfluß verbunden mit Niesen, Dyspnoe und

Apathie litt, feline Chlamydien. Ob zusätzlich noch eine Virusinfektion bei dem Tier vorlag, wurde nicht untersucht.

Ein gleichzeitiges Auftreten von Chlamydien und Caliciviren beobachteten WILLS et al. (1984) in einem Zuchtbetrieb, in dem immer eitrig Konjunktivitiden, Niesen, Zungenulcera sowie Aborte unter den Katzen auftraten. Über das gleichzeitige Vorliegen von Chlamydien und FHV 1 bei Katzen mit chronischen Konjunktivitiden berichteten NASISSE et al. (1993).

Nach Infektionen mit Chlamydien scheint nur eine kurz andauernde Immunität zu bestehen, die Erkrankung neigt zu Rezidiven. Daher kommt es, vor allem in Katzenkolonien, immer wieder zum Aufflackern von latenten Infektionen, so daß sich die Erkrankung enzootisch in einem Bestand halten kann (CELLO, 1971).

Da die Chlamydien gegen Tetracycline und Chloramphenicol empfindlich sind, ist eine mehrtägige Antibiotikabehandlung die Therapie der Wahl, prinzipiell sind aber auch Impfungen gegen Chlamydien möglich.

2.1.5. Mykoplasmen

Es ist unwahrscheinlich, daß Mykoplasmen im natürlichen Infektionsgeschehen eine Rolle als Primärerreger zukommt, da bisher verschiedene Spezies der Gattung Mykoplasma aus Tupferproben sowohl klinisch kranker, als auch gesunder Katzen isoliert wurden (HEYWARD et al., 1969; SPRADBROW et al., 1970a; TAN und MILES, 1973; 1974; TAN et al. 1977). Nach CELLO (1971) werden sekundäre Mykoplasmeninfektionen der Konjunktiven und des Nasenraumes häufig im Anschluß an Chlamydieninfektionen beobachtet.

TAN und MILES (1974) isolierten 407 Mykoplasmenspezies aus Tupferproben von 236 klinisch kranken Katzen, sowie 508 Mykoplasmenspezies von 319 klinisch gesunden Katzen (TAN et al., 1977). Die weitaus meisten Isolate stammten aus Rachentupfern (80,7 % bei den kranken bzw. 93 % bei den gesunden Katzen), wobei katzenspezifische Spezies, wie Mykoplasma (M.) felis und M. gatae, Spezies anderer Tierarten, des Menschen und auch als unschädlich geltende Saprophyten gefunden wurden. Die Autoren räumen lediglich M. felis eine Rolle als pathogenem Keim, vor allem für die Augen und den oberen Respirationstrakt ein, da die Isolationshäufigkeit aus Augentupfern mit 86,9 % bei kranken Katzen bzw. 76,3 %

bei getöteten kranken Tieren deutlich höher lag als bei gesunden Tieren mit 4,4 % (TAN und MILES, 1974) bzw. 15,9 %. Die am häufigsten gefundenen Symptome bei Fehlen einer viralen Beteiligung waren schwere eitrige Konjunktivitiden.

Als bakterielle Erreger sind Mykoplasmen empfindlich gegen Antibiotika. Sie sind generell hoch sensibel gegen Penicilline und ihre halbsynthetischen Derivate (ROLLE und MAYR, 1984). Eine spezifische Bekämpfung sollte möglichst nach Erregernachweis mit Resistenztestung erfolgen.

2.2. Therapeutische Ansatzpunkte bei Katzenschnupfenerkrankungen

2.2.1. Ätiologische Therapieversuche bei FHV-1-Infektionen

In vitro-Untersuchungen mit verschiedenen Chemotherapeutika haben gezeigt, daß das FHV 1 gegen einzelne Wirkstoffe, die auch in der Humanmedizin bei Herpesvirusinfektionen eingesetzt werden, mehr oder weniger empfindlich ist. So ergab die von NASISSE et al. (1989a) durchgeführte Studie, daß die Wirkstoffe Trifluridin, Idoxuridin, Vidarabin, Bromovinyldeoxyuridin und Acyclovir in absteigender Reihenfolge wirksam gegen das FHV 1 sind. Diese Wirkstoffe haben lediglich eine virustatische Wirkung. Sie hemmen kompetitiv den Einbau der Nukleinsäure Thymidin in die virale DNS und stoppen so nach Einbau in das Virusgenom die weitere Replikation von infektiösem Virus.

Die in vitro-Untersuchungen von WEISS (1989) ergaben, daß das FHV 1 relativ resistent gegen Acyclovir ist. Eine gewisse Steigerung des virustatischen Effektes konnte er durch Kombination mit humanem α -Interferon erzielen. HIRSCHBERGER (1988) untersuchte in einer Studie die Akzeptanz und Verträglichkeit von s.c. verabreichtem Acyclovir an 6 gesunden Katzen. Er stellte fest, daß eine Applikation von 5 mg/kg KM Acyclovir s.c. 3 x täglich über 7 Tage keine klinisch oder labordiagnostisch feststellbaren Nebenwirkungen hervorrief. FINDIK (1994) verabreichte an FHV-1-infizierte Katzen drei mal täglich 10 mg/kg KM Acyclovir zusätzlich zu einer Antibiotikabehandlung. Sie konstatierte, daß die Patienten im Allgemeinen eine gute Verträglichkeit gegenüber dem Virustatikum zeigten. Im Vergleich mit einer Kontrollgruppe, die kein Acyclovir erhielt, war innerhalb einer 8-tägigen Beobachtungsphase kein therapeutischer Effekt durch die Gabe von Acyclovir objektivierbar. Beurteilt wurden neben dem klinischen Verlauf die Dauer der Virusausscheidung bzw. eine

Serokonversion. Im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführte in vitro-Untersuchungen bestätigten die Resistenz des FHV 1 gegenüber Acyclovir, nur eines von 26 FHV-Isolaten wurde durch vergleichsweise hohe Dosen gehemmt.

2.2.1.1. Therapieversuche bei FHV-1-bedingter okulärer Symptomatik

LINDT et al. (1965) empfahlen den Einsatz von Antibiotika um bakterielle Superinfektionen zu bekämpfen sowie bei Keratitiden die Behandlung mit 5-Iodo-2-Desoxyuridin. Neben begleitenden symptomatischen Behandlungen bezeichnet SCHMIDT (1993) bei FHV-1-bedingten Konjunktivitiden eine ätiologische lokale Therapie mit Acyclovir (6x täglich) als sehr effektiv, Idoxuridin- und Trifluorothymidin-Augensalben (5x täglich über 3 Wochen) werden ebenfalls angeraten. Auch bei Keratitiden spricht sie sich für den Einsatz verschiedener Virustatika (Acyclovir, Idoxuridin, Adeninarabinosid, Trifluorothymidin) aus, die aber nur sich in Teilung befindliches Virus hemmen und keinesfalls positive Effekte auf Regeneration oder Heilung der Hornhaut haben. Je nach Schwere des Falles sind weitere konservative und/oder chirurgische Behandlungen notwendig.

STILES (1995) faßte in einer retrospektiven Untersuchung die Ergebnisse von Nachuntersuchungen bei 17 Katzen zusammen, die wegen verschiedener FHV-1-bedingter Augenerkrankungen mit Virustatika behandelt worden waren. Die Wirkstoffe Idoxuridin (7x), und Trifluridin (3x) wurden als Augentropfen, Vidarabin (4x) als Augensalbe, Interferon (insgesamt 4x per os) wurde in Kombination mit Acyclovir (1x per os) oder zusammen mit einem der lokal am Auge anzuwendenden Virustatika eingesetzt. Der Autor zog das Fazit, das die Behandlungserfolge mit oberflächlich applizierten Medikamenten insgesamt schlecht waren. Bei nur 3 von 17 Katzen heilten die Beschwerden ab (2 Katzen aus der Idoxuridin-Gruppe und ein gleichzeitig mit Interferon behandeltes Tier), 8 Katzen zeigten eine klinische Verbesserung, wobei 4 von ihnen aber Rückfälle hatten, während sich bei 6 Tieren keine Besserung zeigte oder die Symptome sich verschlimmerten. Als Gründe für das schlechte Ansprechen sieht STILES einerseits nicht ausreichende Applikationshäufigkeit bei Medikamenten in Tropfenform, andererseits das Stadium der Erkrankung zu Beginn der Therapie. Er postuliert, daß eine Kombinationstherapie, die über mehrere Applikationswege erfolgen sollte, erfolgreicher sein könne als eine rein lokale Monotherapie, die auch in der

Humanmedizin nicht ausreichend sei, um durch Herpesviren bedingte Langzeitschäden zu verhindern.

Als Therapieempfehlung bei akuten Viruskonjunktividen geben WALDE et al. (1997) Idoxuridin-, Arabinofuranosyladenin-, Acyclovir- bzw. Trifluridin-Augensalben bzw. -tropfen an. Auch STADES et al. (1996) erwähnen Acyclovir-, Trifluothymidin- sowie Idoxuridin-Augensalben als Virustatika bei Herpesvirusinfektionen, bezeichnen die Wirkung aber als zweifelhaft. Sie empfehlen als Therapie bei akuten und chronischen Bindehautentzündungen regelmäßige Augenspülungen, Verabreichung von antibiotikahaltigen Augensalben bzw. -tropfen sowie ggf. auch systemische Antibiotikagaben.

Der Einsatz von Glukokortikoiden wird bei bestehenden oder vermuteten FHV-Infektionen kontrovers beurteilt. Da durch die Beeinflussung des Immunsystems schwererwiegende Krankheitsverläufe auftreten können (NASISSE et al., 1989b) und Glukokortikoide außerdem bei bestehenden Defekten die Epithelisierung der Hornhaut hemmen (STADES et al., 1996), wird ihr Einsatz beim Vorliegen von Virusinfektionen und/oder Läsionen der Hornhaut abgelehnt. Gegensätzlich hierzu ist der Bericht von BISTNER et al. (1971), sie berichteten über gute Erfolge beim kombinierten Einsatz von Idoxuridin und Glukokortikoiden zur Bekämpfung von stromalen Keratitiden. Auch STILES (1995) konnte bei zwei Katzen mit dendritischen Hornhautgeschwüren, von denen eine zusätzlich unter einer Uveitis, die andere unter einer eosinophilen Keratitis litt, eine Heilung der Geschwüre unter Kortisonbehandlung feststellen.

2.2.2. Weitere Therapieansätze bei FHV-1-bedingter Symptomatik

2.2.2.1. Paramunitätsinducer und Katzenschnupfen

Die bisher in der Literatur beschriebenen Versuche, das FHV 1 bei infizierten Katzen durch spezifische antivirale Präparate zu bekämpfen (s.a. 2.2.1. und 2.2.1.1), haben insgesamt keine Vorteile für die behandelten Katzen erkennen lassen. Aus diesem Grund wurde auch über den Einsatz von sogenannten "Paramunitätsinducern" bei an Katzenschnupfen erkrankten Tieren berichtet (STRUBE et al., 1989; KLIMENTOWSKI et al., 1992). MAYR et al. (1979) definierten Paramunität als einen "Zustand des Nicht-Erreger und Nicht-Antigen spezifischen Schutzes eines Individuums gegenüber verschiedenartigen Infektionen". Dieser soll durch Stimulation humoraler und zellulärer Abwehrmechanismen erreicht werden. In einer Untersuchung im Jahr 1989 schloß STRUBE, der den Paramunitätsinducer Baypamun® einsetzte, eine Prophylaxe/ Metaphylaxe mit diesem sei geeignet, eine deutliche Reduktion bzw. Heilung bei an Katzenschnupfen erkrankten Katzen zu erreichen. Die von KLIMENTOWSKI et al. (1992) durchgeführte Studie konnte diese Aussage von STRUBE nicht bestätigen. In Auswertung ihrer Untersuchungsergebnisse konstatierten sie, daß nach dreimaliger subcutaner Applikation von Baypamun® HK (an Behandlungstag 1, 2 und 9) ein Effekt auf den Gesundheitszustand der untersuchten Tiere aus klinischer Sicht nicht zu bestätigen war. In ihrer Beurteilung über den weiteren Einsatz schlossen sie nicht aus, daß die "Anwendung von Baypamun® HK in Tierheimen mit "Crowding Effekt" einen zusätzlichen positiven Einfluß auf den Gesundheitszustand der Population ausüben kann".

2.2.2.2. Interferone und Katzenschnupfen

FULTON und BURGE (1985) sprachen den Interferonen ein mögliches Potential in Bezug auf antivirale Wirkung gegen FHV- und FCV-Infektionen zu, nachdem sie in vitro eine Reduktion der FHV-1- und FCV-Titer nach Vorbehandlung feliner Lungenzellkulturen mit verschiedenen rekombinanten humanen und einem feline Interferon nachweisen konnten.

COCKER et al. (1987) bezogen sich direkt auf diese, von FULTON und BURGE (1985) festgestellte, anti-FHV-1-Wirkung von humanem α -Interferon und behandelten 7 Katzen mit jeweils 10^8 U/kg KM 2 x täglich s.c. über 2 Tage. Nach der dritten Injektion wurden 5 der 7 Tiere sowie 5 Kontrollkatzen intranasal mit FHV 1 infiziert und der Krankheitsverlauf beider

Gruppen über 14 Tage verfolgt. Vor allem in den ersten 6 Tagen p.i. verlief die Erkrankung bei den mit Interferon vorbehandelten Tieren deutlich milder, danach näherten sich die klinischen Befunde immer weiter an. Die Dauer der Virusausscheidung war in beiden Gruppen mit 10 Tagen gleich lang. Während die maximale Virusausscheidung bei den Kontrollkatzen an Tag 3 p.i. stattfand, wurde diese bei den mit Interferon behandelten Tieren an Tag 5 p.i. gefunden, woraus die Untersucher ableiteten, daß das Interferon für zwei Tage einen maximalen inhibitorischen Effekt auf die Virusreplikation ausgeübt hatte und schlossen, daß humanes α -Interferon ein nutzvolles Medikament zur Therapie von FHV-1-Infektionen sein könne.

Auch die Untersuchungen von WEISS und OOSTROM-RAM (1990), die nach intramuskulärer Injektion von 10^4 oder 10^2 U / kg humanen rekombinanten α -Interferons eine signifikante Erhöhung der durch Con A bedingten Lymphozytenproliferation bei Katzen feststellten, deuten darauf hin, daß niedrig dosiertes Interferon positive Einflüsse auf das feline Immunsystem haben könnte. Allerdings forderten die Autoren noch weitere in vivo und in vitro Untersuchungen, um Behandlungsempfehlungen bei viralen und anderen Erkrankungen geben zu können.

2.2.3. Therapiemöglichkeiten bei Calicivirusinfektionen

POVEY (1978) stellte fest, daß die Verabreichung von Ribavirin, das in vitro die Replikation von feline Caliciviren hemmt, in vivo keine positiven Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf bei erkrankten Tieren hat. In einer Dosierung von 25 mg / kg KM 3 x täglich per os eingesetzt, verursachte es bei den behandelten Katzen eine schwerwiegende Symptomatik mit Blutungen aufgrund von Thrombozytopenien, Depression der Erythrozyten- sowie Leukozytenzahlen, erhöhte ALT-Werte, Ikterus und Gewichtsverlust. Eine Woche nach Absetzen der Therapie waren diese toxisch bedingten Erscheinungen weitestgehend wieder kompensiert.

Da für Infektionen mit feline Caliciviren ebenso wie für die FHV-1-Infektionen bisher keine ätiologische Therapie existiert (EIKMEIER, 1986; LUTZ, 1992), ist eine an die Krankheitserscheinungen angepaßte symptomatische Therapie notwendig.

2.2.4. Symptomatische Therapie bei an Katzenschnupfensymptomen leidenden Tieren

Die von GASKELL und WARDLEY (1977) empfohlenen Therapieansätze sind nach wie vor aktuell. Das Hauptaugenmerk der Therapie liegt auf der antibiotischen Behandlung von Sekundärinfektionen (v.a. bei Pneumonien). Die Katzen sollten in warmer, trockener gut belüfteter Umgebung gehalten und möglichst von den Tierbesitzern gepflegt werden. Neben der regelmäßigen Entfernung von Nasen- und Augensekreten und der Verabreichung von Augen- und eventuell auch Nasentropfen (PALMER, 1980) können gegebenenfalls auch Mukolytika oder Antihistaminika eingesetzt werden. Bei Anorexie kann eine Sondenernährung notwendig werden, bei Dehydratation sollte ein Ausgleich des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts durch Infusionen erfolgen.

Die bisher einzige Möglichkeit, die Wahrscheinlichkeit des Auftretens lebensbedrohlicher Infektionen zu minimieren, ist die Vorbeugung durch Impfungen. Dies wurde bereits früh erkannt und verschiedene Untersucher arbeiteten an der Herstellung und Testung von Impfstoffen gegen Feline Herpes- und auch Caliciviren (BITTLE und RUBIC, 1974, 1975, 1976; KAHN et al., 1975; DAVIS und BECKENHAUER, 1976; KAHN und HOOVER, 1976).

2.3. Immunprophylaxe gegen FHV-1- und FCV-Infektionen

2.3.1. Impfstoffarten

Die heute eingesetzten Impfstoffe sind in der Regel Kombinationsimpfstoffe, die eine gleichzeitige Immunität gegen FHV 1 und FCV hervorrufen sollen. Es existieren sowohl Impfstoffe die attenuiertes Lebendvirus beinhalten, als auch Totimpfstoffe.

Lebendimpfstoffe haben den Vorteil des schnellen Wirkungseintritts. Obwohl erst ca. 7 Tage nach der Impfung Antikörper im Serum gefunden werden, sind Katzen bereits nach 8 - 48 Stunden gegen natürliche Infektionen geschützt. Für einen Impfschutz ausreichend sind FHV-1-Antikörpertiter von 1 : 2 bzw. 1 : 16 für das FCV. Durch eine Zweitimpfung nach 3 - 4 Wochen steigen die Titer weiter an und persistieren für mindestens 10 - 12 Monate.

Totimpfstoffe weisen zwar nicht den Vorteil des rasch einsetzenden Schutzes bereits wenige Stunden nach der Impfung auf, Antikörper im Serum werden aber ebenso schnell wie bei Lebendimpfstoffen gebildet. Erfahren die Katzen dann noch eine Boosterung durch eine

Wiederholungsimpfung nach 3 - 4 Wochen, werden sogar noch höhere Antikörpertiter als bei Lebendimpfstoffen erzielt, die auch für ca. 1 Jahr bestehen (MAYR et al., 1984).

LAPPIN (1998) unterscheidet zwischen attenuierten, d.h. abgeschwächten Lebendimpfstoffen und nichtinfektiösen Impfstoffen, die für Hunde und Katzen zur Verfügung stehen. Zu letzteren zählen Präparate, die abgetötete Bakterien oder Viren als Basis haben, oder Subunit-Impfstoffe, welche nur die immunogenen Anteile des betreffenden Organismus beinhalten. Die Vorteile der attenuierten und der subunit-Vakzinen werden in gentechnisch hergestellten, sogenannten Vektor- oder DNA-Vakzinen ausgenutzt. Hierbei wird die DNA, die für die immunogenen Anteile des betreffenden Pathogens codiert, in das Genom eines apathogenen Trägers (Vektors) eingebaut. Nach der Verimpfung kommt es zur Vermehrung des Vektors unter Expression der immunogenen Anteile des Pathogens. Da lediglich die DNA innerhalb des Vektors verimpft wird, besteht kein Risiko einer Rückerlangung der Virulenz des Pathogens, wie es bei attenuierten Impfstoffen der Fall sein kann.

Zur besseren Übersicht sind in der Tabelle 8 die möglichen Vor- und Nachteile von Lebend- bzw. Totimpfstoffen aufgeführt, wie sie von LAPPIN (1998) gegenübergestellt wurden.

Tabelle 8: Mögliche Vor- und Nachteile von Impfstoffen (nach LAPPIN, 1998)

| Impfstoff-Typ | Vorteile | Nachteile |
|-------------------------------|---|---|
| Lebendimpfstoffe (attenuiert) | <ul style="list-style-type: none"> - schnell einsetzender Impfschutz - langanhaltende Immunität - evtl. keine Zweitimpfung notwendig - induziert gute zellvermittelte Immunantwort - Möglichkeit der Ig A - Induktion - können Interferon - Produktion stimulieren - günstige Produktionskosten - keine Adjuvantien notwendig | <ul style="list-style-type: none"> - potentiell Rückkehr der Virulenz - potentiell virulent bei Immunsupprimierten Individuen - potentiell immunsuppressiv - negative Auswirkungen auf Föten |
| Nichtinfektiöse Impfstoffe | <ul style="list-style-type: none"> - keine Rückkehr der Virulenz möglich - selten Kontaminationen - kaum Immunsuppression - relativ sicher in Trächtigkeit | <ul style="list-style-type: none"> - Überempfindlichkeitsreaktionen möglich - zwei oder mehr Immunisierungen notwendig - kurz anhaltende Immunität - gewöhnlich Adjuvans notwendig - schlechte zellvermittelte Immunstimulation - schlechte Stimulation von sekretorischem Ig A |

Wie aus der Tabelle 8 ersichtlich, weisen Lebendimpfstoffe bzw. nichtinfektiöse Vakzinen unterschiedlich gelagerte Vor- und Nachteile auf, die vor der Impfung eines Patienten gegeneinander abgewogen werden sollten. Abhängig von der Indikation sollte dann der entsprechende Impfstoff ausgewählt werden.

2.3.2. Applikationsarten von Katzenschnupfenimpfstoffen

Sowohl Lebend- als auch Totimpfstoffe sind parenteral, d.h. intramuskulär oder subcutan zu verabreichen und geben eine gute systemische, aber nur eine schwache lokale Immunität (PEDERSEN, 1987) und verhindern nicht die Entstehung latenter Infektionen. So konnten HARBOUR et al. (1991) feststellen, daß 417/963 geimpften Katzen (43,3 %) FCV und 126/204 (61,8 %) FHV 1 ausschieden. Im Jahr 1997 konnten SYKES und Mitarbeiter eine Verkürzung der Virusausscheidung durch Impfungen feststellen, da bei geimpften Katzen mittels PCR nur über durchschnittlich 5,8 Tage eine Virusausscheidung nachzuweisen war, bei ungeimpften Tieren hingegen über 12,7 Tage.

Der von ORR et al. (1980) intranasal verabreichte Impfstoff, der avirulentes FHV 1 enthielt, verhinderte die Entstehung von latenten Trägern zwar unter experimentellen Bedingungen, unter Feldbedingungen konnte diese Wirkung aber nicht nachgewiesen werden.

Das zentrale Problem in der Epidemiologie der FHV-1- und FCV-Infektionen stellen latent infizierte, asymptomatische Katzen sowie geimpfte Katzen dar, die infektiöses Virus ausscheiden. Während in frühen Studien nahezu gleiche Isolationshäufigkeiten für FHV 1 und FCV bei klinisch kranken Katzen gefunden wurden, oder ein Übergewicht zugunsten des FHV 1 bestand (POVEY und JOHNSON, 1971; JENSEN et al., 1977; MacLACHLAN und BURGESS, 1978; BECH-NIELSEN et al., 1980), zeigen die Studien aus Großbritannien und den USA von KNOWLES et al. (1989) und HARBOUR et al. (1991) eine Verschiebung dieses Verhältnisses (s.a. **Tabelle 4**). So identifizierten HARBOUR et al. (1991) für die Jahre 1985 - 1989 insgesamt 25,5 % (348/1180) der untersuchten klinisch akut kranken Tiere als FCV- und 13,7 % (162/1180) als FHV-1-Ausscheider. Bei den chronisch kranken Katzen schieden 17,1 % (102/597) FCV und 3% (18/597) FHV 1 aus. Harbour und Mitarbeiter vermuteten, daß diese Verschiebung durch Impferfolge gegen das FHV 1 bedingt sein könnten, während bei dem antigenetisch uneinheitlicheren FCV eventuell Stämme, die nicht mehr durch die Impfungen erfaßt werden, zu Erkrankungen führen, so daß sich die Zahl der Virusträger seit Beginn der Impfungen kaum geändert hat. Hierzu scheint auch das Phänomen der antigenen Variation beizutragen. Nach experimenteller Infektion von Versuchskatzen konnte JOHNSON (1992) zwischen Tag 35 und 159 p.i. bei 5 von 9 Tieren Virus rückisolieren, das sich antigenetisch vom ursprünglichen Infektionsstamm unterschied.

2.3.3. Neuere Wege in der Impfstoffforschung

Da die Lösung der Katzenschnupfen-Infektionsproblematik aufgrund der hohen Vorkommenshäufigkeit gerade der latent oder chronisch infizierten Tiere mit klinisch inapparenten Verlaufsformen nicht in der Erkennung und Ausmerzungen der Träger zu finden ist, besteht Bedarf an Impfstoffen, die dem Einzeltier einen sicheren Schutz vor Erkrankungen bieten und die Entstehung von Latenzen und chronischen Infektionen verhindern.

Hierbei müssen durch Impfungen nicht nur hohe Titer neutralisierender Serumantikörper erzielt werden, nach WILLEMSE et al. (1996) sollte das Hauptziel der Aufbau einer lokalen Immunität sein. Schon WALTON und GILLESPIE (1970b) und KAHN und WALTON (1971) hatten festgestellt, daß rekonvaleszente Katzen auch ohne meßbare Antikörper im Serum gegen Wiederholungsinfektionen nicht mehr so empfindlich waren wie nach Erstexposition und schlossen, daß hierfür eine lokale Immunität in den Epithelien des Atmungsapparates verantwortlich sein könnte. Forschungen zu diesem Thema beschäftigen sich z. Zt. mit der Herstellung von Lebendvakzinen aus gentechnisch veränderten FHV-1-Stämmen (WILLEMSE et al., 1996; KRUGER et al., 1996; SUSSMAN et al., 1997). Auch an den Einsatz von Vektorvakzinen wird gedacht, so arbeitet eine Arbeitsgruppe um YOKOYAMA (1996a,b, 1998) an der Herstellung einer Vakzine, die rekombinantes FHV 1 enthält, in welches mittels gentechnischer Methoden immunogen wirkende FCV-Anteile eingebaut wurden.

2.3.4. Impfschemata

Während nach den bisher üblichen Grundimmunisierungen sowie einer oder zwei Boosterimpfungen eines Tieres von den Impfstoffherstellern jährliche Wiederauffrischungen empfohlen wurden, ist in den letzten Jahren über die jährliche Auffrischung von Schutzimpfungen gegen das FHV 1 und FCV, aber auch das Feline Parvovirus (FPV) und das FeLV in den letzten Jahren eine wissenschaftliche Diskussion aufgekommen, die mittlerweile auch die tägliche tierärztliche Praxis erreicht hat. So hat im Jahr 2000 die American Association of Feline Practitioners (AAFP) in ihrem „Report 2000“ neue Impfprogramme vorgestellt, in denen die jährlichen Wiederholungsimpfungen gegen Katzenschnupfen und Katzenseuche nicht mehr vorkommen.

Sie empfiehlt nach einer Grundimmunisierung im Alter von 8 und 12 Wochen und einer Auffrischung nach einem Jahr nur noch eine Revakzinierung im 3-Jahresrhythmus. Die AAFP bezieht sich hierbei auf eine Studie von SCOTT und GEISSINGER (1999), welche die Bildung und Persistenz von Antikörpern gegen FHV 1, FCV und FPV über einen Zeitraum von 7,5 Jahren untersuchten und die Katzen anschließend experimentell mit den jeweiligen Erregern infizierten, um die Belastbarkeit der Immunität zu testen.

Die Untersuchungen ergaben, daß neutralisierende Antikörper gegen FHV 1 und FCV langsam absanken und nach 3 - 4 Jahren nicht mehr nachzuweisen waren, während gegen das FPV gerichtete Antikörper auch am Ende der Studie noch gefunden wurden. Während gegen das FPV nach 7,5 Jahren noch ein vollständiger Impfschutz bestand, lag der gegen das FHV 1 - gemessen an der Reduktion klinischer Symptome nach experimenteller Infektion - bei 52 %, für das FCV bei 63 % .

Für die Impfung gegen eine FeLV-Infektion mittels des rekombinanten Impfstoffs Leucogen® der Firma Virbac konnten HOFMANN-LEHMANN et al. bereits im Jahr 1995 nachweisen, daß zweimal innerhalb von 3 Wochen grundimmunisierte Katzen Antikörpertiter aufbauten, die langsam abfallend bis zu 3 Jahren Bestand hatten. Bei den geimpften Katzen, die über einen Zeitraum von 3 Jahren in einer Gruppe mit FeLV-positiven, virämischen Katzen gehalten wurden, kam es zu keiner Ansteckung.

Diese unter Versuchsbedingungen gehaltenen SPF-Katzen geben die Situation in einem geschlossenen Bestand wieder, in dem sich - optimale Haltungsbedingungen vorausgesetzt - ein relativ streßarmes Zusammenleben der Katzen untereinander eingependelt hat. Hierbei erfahren die durch Vakzination geschützten Katzen quasi täglich eine natürliche Boosterung ihres Impfschutzes. Solcherart gewonnene Ergebnisse sind nur bedingt auf die Situation von Katzen mit Freigang anzuwenden, die in einer mehr oder weniger offenen Population leben, in die immer wieder Tiere hinzukommen und auch noch weitere Streßfaktoren auf die Katzen einwirken. So spielen bei Freigängern äußere Einflüsse, wie Ernährungszustand, Primärinfektionen mit anderen Viren, Bakterien, Pilzen oder Parasiten und die Reaktionslage des Immunsystems eine Rolle. Bei potentiellen Krankheitserregern ist zu beachten, daß die Virulenz des jeweiligen Stammes (insbesondere bei Caliciviren), die Eintrittspforte und auch die Infektionsdosis, d.h. diejenige Menge infektiösen Materials, die von der Katze aufgenommen wird, das Angehen einer Infektion und den Grad ihrer Ausprägung beeinflussen, so daß eine einfache Übertragung der unter Laborbedingungen erzielten Ergebnisse mit Vorsicht zu betrachten ist.

Hieraus folgt, daß es fraglich ist, ob vergleichbare Ergebnisse auch mit anderen Impfstoffen erzielt werden können und ob diese, unter Laborbedingungen gewonnenen Ergebnisse, sich auch unter Feldbedingungen bestätigen lassen, was bisher noch nicht nachgewiesen ist.

In der vorliegenden Arbeit wurden bisher verschiedene Erreger beschrieben, die an einer Katzenschnupfenerkrankung beteiligt sein können. Hierbei wurden ihre morphologische Eigenschaften angesprochen, Einzelheiten über die Entstehung und den Verlauf der durch sie hervorgerufenen klinischen Symptomatik wie auch die Ausbildung einer Immunität dargelegt. Nach der Wiedergabe verschiedener therapeutischer Möglichkeiten, die sich in der Literatur fanden, wurde die Möglichkeit der Immunprophylaxe gegen Herpes- und Caliciviren als wichtigste Erreger einer Katzenschnupfeninfektion angesprochen.

In den folgenden Abschnitten soll nun ein Überblick über die in der Literatur beschriebenen labordiagnostischen Untersuchungen gegeben werden, die bei Katzen durchgeführt wurden, die unter Katzenschnupfensymptomen litten.

2.4. Labordiagnostische Untersuchungen bei Katzenschnupfenpatienten

2.4.1. Untersuchungen des Blutbildes

Im folgenden soll ein Überblick über die in der Literatur gefundenen Daten von an Schnupfensymptomen leidenden Katzen gegeben werden. Hierbei erfolgt eine Unterteilung in das "Rote Blutbild", hierunter fallen die Erythrozytenzahlen, der Hämatokritwert, der Hämoglobingehalt und die Erythrozytenindizes (MCHC, MCH, MCV) sowie das "Weiße Blutbild" mit der Gesamtleukozytenzahl und dem Differentialblutbild.

2.4.1.1. Rotes Blutbild

Die Bestimmung der Erythrozytenzahlen ergab nach CRANDELL et al. (1961) keinerlei Veränderungen bei den von ihnen untersuchten FHV-1-infizierten Katzen. Zu gleichem Ergebnis kamen auch HOOVER et al. (1970), die auch beim Hämoglobingehalt sowie dem Hämatokrit keine signifikanten Veränderungen feststellen konnten.

2.4.1.2. Weißes Blutbild

CRANDELL et al. (1961) konnten bei den von ihnen experimentell infizierten Katzen ab dem zweiten Tag p.i. das Vorliegen einer Leukozytose feststellen. Der mittlere Wert aller Katzen lag an Tag 3 p.i. bei $3,8 \times 10^9/l$ mit einem Maximum von $9,8 \times 10^9/l$ bei einer Katze. Die Werte kehrten innerhalb von 14 Tagen in den Normalbereich zurück.

In ihrer Untersuchung im Jahr 1970 fanden HOOVER et al. eine Leukozytose mit einer Lymphopenie bei einer gleichzeitig bestehenden Neutrophilie, wobei die stabkernigen (jugendlichen) Neutrophilen Granulozyten gegenüber den Präinfektionswerten 2 - 15 mal stärker erhöht waren.

REUBEL et al. (1992) beobachteten ab Tag 7 p.i. eine Neutrophilie mit geringem Anstieg der stabkernigen Neutrophilen, toxisch veränderte Neutrophile wurden bei den am schwersten erkrankten Katzen gefunden. Ihren Ausgangswert erreichte die mittlere Zahl der Neutrophilen zwischen Tag 21 und 28 p.i.. Die Untersuchung der Lymphozytenzahlen ergab ab dem 7. Tag p.i. das Vorliegen einer ausgeprägten Lymphopenie, die Prä-Infektionswerte wurden an Tag

14 p.i. wieder erreicht. Auch NASISSE et al. (1995) stellten 8 Tage nach experimenteller konjunkivaler Infektion einen starken Abfall der Lymphozytenzahlen fest, ab Tag 15 p.i. stiegen die Werte schnell wieder an.

2.4.1.3. Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil im Blutserum

Das Gesamteiweißkonzentration im Blutserum läßt sich in die Albumin- und die Globulinfraktion unterteilen, letztere beinhaltet die α -, β -, sowie die γ -Globuline. Das Albumin wird in der Leber synthetisiert und in den peripheren Geweben verstoffwechselt, es hat eine Halbwertszeit von 7 bis 10 Tagen. Seine Hauptfunktionen sind die Aufrechterhaltung des onkotischen Druckes im Blutplasma und der Transport von Hormonen und Ionen (RADIN, 1994). Die Bestimmung von Gesamteiweiß und Albumin erfolgt aus Blutplasma oder -serum (KRAFT et al., 1995).

Zum Globulinanteil werden verschiedene Transportproteine sowie die Immunglobuline gerechnet. Der Globulinanteil läßt sich einfach durch Subtraktion des naß- oder trockenchemisch bestimmten Albuminanteils vom Gesamteiweiß bestimmen (RADIN, 1994). Bei Erhöhungen oder Erniedrigungen des Globulinanteils kann dieser mittels einer Serumeiweißelektrophorese in die Subfraktionen der α -, β -, sowie der γ -Globuline aufgespalten werden, die dann eine Zuordnung der jeweiligen Veränderung erlaubt. So sind nach KRAFT et al. (1995) Erhöhungen der α - und β -Globuline häufig bei akuten und chronischen Entzündungen, Lebererkrankungen und Tumoren zu finden, Erhöhungen der γ -Globuline treten v.a. bei chronischen Infektionserkrankungen, aber auch akuten Entzündungen, immunologisch bedingten Erkrankungen, Tumoren und anderen Erkrankungen auf.

Da die Höhe von Gesamteiweiß, Albumin- und Globulinanteil individuellen Schwankungen unterworfen ist, hat es sich bewährt, durch Bildung des Albumin-Globulin-Quotienten den Globulinanteil ins Verhältnis zum Albumin zu setzen. Dieser liegt bei Katzen zwischen 0,6 und 1,2 (KRAFT et al., 1995). In der Literatur wurden keine Untersuchungen gefunden, in denen diese Parameter bei Katzen mit einer Schnupfensymptomatik erhoben wurden. Dies schließt nicht aus, daß diese Werte im Rahmen einer Katzenschnupfeninfektion - wie bei anderen Infektionskrankheiten (z.B. FIP, FIV u.a.) auch, nicht Veränderungen aufweisen können. Vor dem Hintergrund, daß die im Rahmen der vorliegenden Arbeit eingesetzten

Patienten aus einem Bestand stammten, in dem einige Katzen unter Virusinfektionen litten, und viele Tiere chronische oder rezidivierende Schnupfensymptome zeigten, erschien es sinnvoll, diese Parameter in die Untersuchung mit einzubinden. Sie bieten ohne großen Aufwand zusätzliche Informationen - nicht nur über eine mögliche Aktivierung des Immunsystems - sondern geben durch die Albuminkonzentration im Serum auch Hinweise auf den allgemeinen Zustand des Patienten (Ernährung, Leber-, Nieren-, Bauchspeicheldrüsenerkrankungen u.a.).

2.4.2. Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen

Die Lymphozyten von Menschen und Tieren stellen keine uniforme Masse an Zellen dar, die alle dieselbe Aufgabe erfüllen. Vielmehr existieren verschiedene Populationen, die jede für sich aber meist in Verbindung mit anderen Zellen unterschiedliche Funktionen erfüllen.

Untersuchungen einzelner Zellpopulationen ergaben, daß verschiedenen Entwicklungsstadien mit bestimmten Funktionen regelmäßig bestimmte Kombinationen von Oberflächenmolekülen zuzuweisen waren. Diese wurden ursprünglich als Differenzierungsantigene bezeichnet. Bestimmte Gruppen monoklonaler Antikörper, die dieselben Antigene erkennen, bilden sogenannte Differenzierungscluster, im englischen Sprachraum clusters of differentiation oder kurz CD (JANEWAY und TRAVERS, 1994).

Im Rahmen von Untersuchungen an Katzen legten die meisten Untersuchern ihr Hauptaugenmerk bisher auf der Bestimmung der Gesamtheit der T-Lymphozyten mittels Erkennung ihrer CD3-Antigene, die auf allen T-Zellen vorkommen (Pan-T-Zell-Marker), der CD4⁺-T-Lymphozyten sowie der CD8⁺-T-Lymphozyten, die mittels monoklonaler Antikörper bestimmt werden können, sowie der B-Lymphozyten, zu deren Markierung polyklonale Antikörper existieren.

Innerhalb der CD4-Zellen, die auch als Helferzellen (TH) bezeichnet werden, existieren noch Subpopulationen (TH1, TH2), die bei anderen Tierarten und dem Menschen besser untersucht sind als bei Katzen. So regulieren sie durch Produktion und Sekretion von Zytokinen z.B. Wachstum und Antikörperbildung der B-Lymphozyten oder aktivieren Zellen des Monozyten- / Makrophagen-Systems. Es existieren aber auch Subpopulationen, die mit Allergieauslösung oder in bestimmten Fällen auch direkter Zytotoxizität in Verbindung gebracht werden. CD8-

Zellen werden in der Literatur häufig allgemein als Suppressorzellen bezeichnet und den CD4-Zellen quasi als Gegenpart gegenübergestellt, der die Immunantwort zu unterdrücken vermag. Eine Existenz dieser Zellen ist aber nach wie vor umstritten. Die Immunsuppression wird eher als Folge der Vielfalt der gegenseitigen Einflüsse betrachtet, die die Lymphozyten und ihre verschiedenen Produkte aufeinander ausüben (KELLER, 1994). Die Hauptaufgabe der CD8-Zellen, neben der Sekretion von Zytokinen, ist nach KELLER (1994) und JANEWAY und TRAVERS (1997) die direkte Zytotoxizität, d.h. die Elimination von körperfremden aber auch veränderten körpereigenen Zellen (z.B. virusinfizierte oder Tumorzellen).

Wie auch beim Menschen kann es bei Katzen im Laufe verschiedener Erkrankungen zu Verschiebungen der Lymphozytensubpopulationen kommen. Diese wurden bisher vornehmlich unter den verschiedensten Fragestellungen bei der FIV-Infektion der Katze bestimmt (NOVOTNEY et al., 1990; BARLOUGH et al., 1991; VAHLENKAMP, 1993; WILLETT et al., 1993; WALKER et al., 1994), da diese als Modell für die humane HIV-Infektion gilt und aus diesem Grund für viele Wissenschaftler von Interesse ist. Über Katzen mit FHV-1-Infektionen wurden bisher Ergebnisse von REUBEL et al. (1992) und NASISSE et al. (1995) veröffentlicht.

2.4.2.1 Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen bei SPF- und Nicht-SPF-Katzen

Während die Mehrzahl der Untersuchungen, die meist nicht alle Lymphozytensubpopulationen umfaßten, bei SPF-Katzen oder bei experimentell infizierten Tieren durchgeführt wurden, gibt es wenige vergleichende Untersuchungen zwischen SPF- und Nicht-SPF-Tieren. Eine Übersicht über die in der Literatur aufgeführten, prozentualen Anteile der einzelnen Lymphozytensubpopulationen ist in der Tabelle 9 zu finden, eine Darstellung der absoluten Zahlen findet sich in der Tabelle 42 im Anhang. In der Tabelle 9 sind die von ACKLEY et al. (1990) für die CD4-Lymphozyten genannten $25,0 \pm 5,0$ % nicht aufgeführt. Gleiches gilt für die von KLOTZ und COOPER (1986) veröffentlichten $15,0 \pm 9,0$ % für den von ihnen erstmalig beschriebenen feline CD8-Marker, sowie für die von OHNO et al. (1992) veröffentlichten Daten. In ihrer Untersuchung lag der mittlere CD4-CD8-

Quotient von 6 untersuchten Katzen bei $2,0 \pm 0,46$, was bedeutet, daß er im oberen Bereich der in der Tabelle 9 (S. 57) angegebenen Werte angesiedelt ist.

Die Werte der CD4- und CD8-Lymphozyten wurden von den meisten in der Tabelle 9 und der Tabelle 42 im Anhang aufgeführten Untersuchern bestimmt, während B-Lymphozyten und die Gesamtheit der T-Lymphozyten nicht immer erfaßt wurden. DEAN (1991), der sowohl SPF-Katzen als auch Nicht-SPF-Tiere untersuchte, stellte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen fest.

Zwischen den Werten der einzelnen Untersucher finden sich mehr oder weniger große Differenzen, die neben der unterschiedlichen Gruppenzusammensetzung auch auf verschiedene Analyseverfahren zurückzuführen sind. Es ist festzustellen, daß der CD4-CD8-Quotient bei den meisten Untersuchern mit Werten zwischen 1,5 und 2,0 in einem ähnlichen Rahmen liegt. Die von WALKER (1993) angegebenen 1,3 liegen deutlich unter diesem Wert, die von HOFFMANN-FEZER (1991) gefundenen 3,3 deutlich darüber.

2.4.3. Lymphozytenproliferationstests

Lymphozyten von Menschen und Tieren teilen und vermehren sich, wenn sie mit einem Antigen in Kontakt kommen, zu dem sie bereits Kontakt hatten, um ihre Funktionen im Rahmen der Immunantwort erfüllen zu können (JANEWAY und TRAVERS, 1997). Dies macht man sich in den Lymphozytenproliferationstests zu Nutze, die eine Aussage über die zellvermittelte Immunität eines Organismus ermöglichen.

Neben der Stimulation durch spezifische Antigene, gegen die die betreffenden Lymphozyten sensibilisiert sein müssen, um Stimulationsreaktionen zu zeigen, können Lymphozyten auch unspezifisch stimuliert werden. Hierzu dienen meist aus Pflanzen stammende Lektine, die auch als polyklonale Mitogene bezeichnet werden. Zu den am häufigsten eingesetzten Lektinen zählen das aus der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) stammende Concanavalin A (im folgenden als Con A bezeichnet), welches wie auch das Phytohämagglutinin (kurz PHA), das aus der Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) gewonnen wird, vornehmlich T-Lymphozyten stimuliert. Das Pokeweed-Mitogen (PWM) stammt aus einem Beerengewächs (*Phytolacca americana*) und stimuliert T- und B-Zellen, während das LPS, ein Lipopolysaccharid aus *Escherichia coli*-Bakterien, als ein B-Zell-Stimulans gilt (KELLER, 1994; JANEWAY und TRAVERS, 1997).

Tabelle 9: Prozentuale Verteilung der Lymphozytensubpopulationen bei Katzen

| Autor | Probanden | Anzahl (n) | Parameter (%) | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-----------|---------------|------------------|------|---------------|------|------|------|------|------|---------|------|---|
| | | | Pan T | s | B- Lymphos | s | CD4 | s | CD8 | s | CD4:CD8 | s | |
| NOVOTNEY et al. (1990) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 39 | 66,4 | - | 27,4 | - | 30,5 | - | 27,7 | - | 1,13 | - | - |
| MILLER-EDGE UND WORLEY (1991) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | - | - | - | 31,2 | 17,3 | - | - | 28,7 | 11,4 | - | - | - |
| BARLOUGH et al. (1991) | SPF | 18 | - | - | - | - | 34,6 | 3,1 | 18,8 | 2,2 | 2,0 | 0,19 | - |
| | Nicht SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DEAN et al. (1991) | SPF | 11 | 51,0 | 10,0 | - | - | 32,3 | 7,4 | 18,5 | 4,6 | 1,8 | 0,5 | - |
| | Nicht SPF | 31 | 54,8 | 11,4 | - | - | 33,9 | 7,5 | 19,1 | 5,8 | 1,9 | 0,7 | - |
| HOFFMANN-FEZER et al. (1991) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 33 | - | - | 24,8 | 12,7 | 38,7 | 9,7 | 13,4 | 4,3 | 3,3 | 1,40 | - |
| TOTH et al. (1992) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 8 | - | - | - | - | 42,0 | 12,7 | 21 | 7,6 | 2,0 | 0,5 | - |
| BISHOP et al. (1992) | SPF | 5 | - | - | - | - | 35,1 | 3,6 | 27,5 | 2,96 | 1,3 | 0,37 | - |
| | Nicht SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| WALKER et al. (1994) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 46 | 63,5 | 16,8 | 29,7 | 14,8 | 32,3 | 9,17 | 23,4 | 8,75 | 1,6 | 0,76 | - |

- = in dieser Studie nicht untersucht oder Ergebnisse nicht angegeben, s = Standardabweichung

Die Stimulation von Lymphozyten mit inaktivierten Herpesviren wurde in der Humanmedizin bereits zu Studien der zellvermittelten Immunität bei Herpes-simplex-Patienten herangezogen (LOPEZ und O'REILLY, 1977), in der Veterinärmedizin wurden bisher häufiger Proliferationstests mit Bovinem Herpesvirus 1 (BHV 1) bei Rindern im Rahmen von BHV-1-Impfungen und Infektionen (MILLER-EDGE und SPLITTER, 1986; CARTER et al., 1989; RUTTGEN et al., 1990; DENIS et al., 1994) aber auch bei Katzen mit FHV-1-Infektionen durchgeführt.

2.4.3.1. Lymphozytenproliferationstests mit FHV 1 als spezifischem Stimulans bei Katzen

Von verschiedenen Untersuchern wurden Proliferationstests mit FHV 1 als spezifischem Stimulans für Katzenlymphozyten durchgeführt. Diese sind in der Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: FHV-1-spezifische Lymphozytenproliferationstests bei Katzen

| Autor | Proliferations-test | Impf- und Infektions-Status | FHV-1-Inaktivierung | Inkubation (Tage) |
|-------------------------------|-----------------------------------|--|--|-------------------|
| GODDARD (1984) | Vollblut | SPF-Katzen, exp. Infektion | UV-Strahlung plus Hitze (56°C, 30 min) | 7 |
| COCKER et al. (1986) | Vollblut | SPF-Katzen, intranasale Impf. + exp. Infektion (6 Tage p. vacc.) | UV-Strahlung | 6 |
| THAM und STUDDERT (1987) | Vollblut und gewaschenes Vollblut | SPF-Katzen, s.c. Impf. + exp. Infektion (7 Tage p. vacc) | Betapropiolacton | 5 |
| MILLER-EDGE und WORLEY (1992) | Isolierte Lymphozyten | Klinisch gesunde Nicht-SPF-Katzen | UV-Strahlung | 7 |
| REUBEL et al. (1992) | Vollblut | SPF-Katzen, exp. Infektion | Hitzeinaktivierung (56°C, 30 min) | 5 |

Wie aus der Tabelle 10 zu ersehen ist, wurden die meisten der Tests in Vollblutansätzen durchgeführt. Die von GODDARD (1984) und REUBEL (1992) in den Tests eingesetzten Probanden waren SPF-Katzen, die experimentell FHV-1-infiziert wurden, während COCKER et al. (1986) und THAM und STUDDERT (1987) ihre SPF-Versuchstiere zunächst impften und anschließend experimentell infizierten. Bei den von MILLER-EDGE und WORLEY (1992) eingesetzten Katzen handelte es sich um klinisch gesund erscheinende Tiere, die aus

einem Tierheim stammten. Wie der Tabelle 10 weiterhin zu entnehmen ist, wählten die einzelnen Untersucher unterschiedliche Inaktivierungsverfahren und Inkubationszeiten.

2.4.3.1.1. Stimulationsreaktionen bei SPF-Katzen nach experimenteller FHV-1-Infektion

GODDARD (1984) stellte bei einer Gruppe experimentell FHV-infizierter Katzen - nach dem Auftreten **akuter** Krankheitserscheinungen - ab Tag 6 und bis Tag 23 p.i. vorübergehend sehr niedrige spezifische Stimulationswerte fest. Bei einer zweiten Gruppe, die mit demselben Virusstamm infiziert wurde, traten innerhalb von 18 Tagen stark positive Stimulationswerte auf, vorübergehende Höchstwerte wurden zwischen Tag 17 und 22 p.i. gefunden, die dann wieder zu niedrigeren Werten abfielen.

Die Untersuchungen von Katzen, die an einer **rekurrierenden** FHV 1 Infektion litten, ergaben bei 3 Katzen keine signifikanten Erniedrigungen der FHV-1-spezifischen Proliferationswerte bevor eine Virusausscheidung auftrat, während der Virusausscheidung wurden bei 2 von 3 Ausscheidern sehr niedrige Werte gefunden. Nach Ende der Ausscheidungsepisode kam es zu einem signifikanten Anstieg der Proliferationswerte. In Auswertung ihrer Untersuchungsergebnisse kam GODDARD (1984) zu dem Schluß, daß sowohl die durch Con A bedingte, als auch die FHV-1-spezifische Stimulation in einigen Fällen erniedrigt war und diese verminderte Immunität mit einer Virusausscheidung in Zusammenhang stehen könnte. Sie konnte aber keine signifikanten Erniedrigungen der von ihr gemessenen Immunparameter feststellen, die mit einer Aktivierung der Virusausscheidung in Zusammenhang zu bringen wären.

REUBEL et al. (1992) untersuchten die Proliferation von Lymphozyten in Vollblut nach Zugabe der Mitogene Concanavalin A (Con A) oder Pokeweed Mitogen (PWM) als unspezifische Stimulantien, sowie von hitzeinaktiviertem FHV 1 als spezifischem Stimulans. Sie stellten fest, daß die Lymphozyten FHV-1- und FIV-/ FHV-1-infizierter Katzen eine höhere spontane ³H-Thymidinaufnahme zeigten als die nur FIV-infizierter oder gesunder Kontrollkatzen. Die Proliferation der Lymphozyten nach unspezifischer Stimulation mit PWM ergab die höchsten cpm für die gesunden Kontrollkatzen, während die Lymphozyten der nur mit dem FIV, dem FHV 1 bzw. FIV-/ FHV-1-infizierten Tiere über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant niedrigere Werte zeigten.

Auch nach Stimulation mit Con A wurden die höchsten Cpm in der gesunden Kontrollgruppe gefunden, die Lymphozyten der FHV-1- bzw. FIV-/ FHV-1-infizierten Katzen zeigten am Tag 7 p.i. mit dem FHV 1 einen signifikanten Abfall der Cpm, der in der Folge rasch wieder anstieg. Ähnliche Ergebnisse weisen auch NASISSE et al. (1995) vor, die im Rahmen einer Verlaufsuntersuchung bei experimentell FHV-1-infizierten Katzen einen Anstieg der Proliferationswerte nach Stimulation mit Con A feststellten, der um so höher ausfiel, je länger die Infektion zurücklag.

Die von REUBEL et al. (1992) durchgeführte Studie ergab, daß die spezifische Stimulation mit dem hitzeinaktivierten FHV 1 bei den FHV-1 und den FIV-/ FHV-1-infizierten Katzen verglichen mit den Ausgangswerten einen deutlichen Anstieg der Cpm am Tag 7 p.i. erbrachte. Die Aussage dieses Ergebnisses bleibt aber fraglich, da die Werte an diesem Tag im selben Bereich lagen wie die der unstimulierten Kontrolle. An den Untersuchungstagen 14, 21 und 28 p.i. waren die Stimulationsindizes teilweise doppelt so hoch wie bei den unstimulierten Kontrollen. Die Lymphozyten der ungeimpften SPF-Kontrollkatzen, die nicht mit dem FHV 1 infiziert waren, zeigten im Verlauf dieser Untersuchung keine Proliferation gegenüber dem FHV 1.

2.4.3.1.2. Stimulationsreaktionen bei SPF-Katzen nach Impfung und experimenteller FHV-1-Infektion

COCKER et al. (1986) stellten fest, daß weder periphere Blutlymphozyten noch aus Tonsillen isolierte Lymphozyten der von ihnen mit einem **attenuierten Lebendimpfstoff intranasal** geimpften Katzen sechs Tage nach der Impfung eine spezifische Proliferationsreaktion auf FHV 1 zeigten. Während 48 Stunden nach einer Belastungsinfektion mit FHV 1 bei 3 von 4 geimpften Katzen niedrige Stimulationsindizes gemessen wurden, konnte dies bei ungeimpften Katzen nach experimenteller Infektion nicht nachgewiesen werden.

Bei Katzen, die mit einer **inaktivierten FHV-1-Vaccine subcutan** geimpft wurden, führten THAM und STUDDERT (1987) neben der Bestimmung neutralisierender Serumantikörper und der Durchführung von Zytotoxizitätstests auch Lymphozytenproliferationstests mit inaktiviertem FHV 1 als spezifischem Stimulans vor und nach Belastungsinfektion mit virulentem FHV 1 durch (10 Monate p. vacc.). Vor der Belastungsinfektion zeigte keines der

Tiere FHV-1-antigenspezifische Proliferationsreaktionen, diese wurden frühestens 10 bis 14 Tage nach der Belastungsinfektion gefunden. Neben den Vollblut-Testansätzen hatten THAM und STUDDERT parallel Ansätze mit gewaschenem Blut durchgeführt, in letzteren waren die erzielten Stimulationsindizes immer höher, was die Autoren darauf zurückführten, daß die Anti-FHV-1-Antikörper hier entfernt waren.

2.4.3.1.3. Stimulationsreaktionen bei klinisch gesunden, geimpften Katzen

MILLER-EDGE und WORLEY (1992) stellten bei den von ihnen untersuchten, geimpften Katzen relativ niedrige, breit gestreute Stimulationsreaktionen fest, die insgesamt aber höher lagen als diejenigen von geimpften Geparden, wobei die Unterschiede mit $p < 0,05$ signifikant waren.

Die Kapitel 2.4.3.1.1. bis 2.4.3.1.3. lassen sich wie folgt zusammenfassen.

- ◆ Die Lymphozyten von experimentell FHV-1-infizierten Katzen zeigen in wechselndem Maße Stimulationsreaktionen, welche in Phasen der Virusausscheidung erniedrigt sein können (GODDARD, 1984).
- ◆ Stimulationsreaktionen bei SPF-Katzen nach Impfung und experimenteller FHV-1-Infektion sind möglich bei:
 - Katzen, die mit einer inaktivierten Vakzine subcutan geimpft wurden, aber erst nach einer Belastungsinfektion (THAM und STUDDERT, 1987)
 - Katzen, die mit einer attenuierten Lebendvakzine intranasal geimpft wurden (COCKER et al., 1986).
- ◆ Klinisch gesunde, ungeimpfte Katzen zeigten keine Stimulationsreaktionen gegen inaktiviertes FHV 1 (REUBEL et al., 1992).

Nach der Darstellung der in der Literatur gefundenen Daten zu verschiedenen Aspekten von Katzenschnupfeninfektionen werden im folgenden die eigenen Untersuchungen sowie deren Ergebnisse vorgestellt.

3. Eigene Untersuchungen

Das Ziel der im folgenden dargelegten Untersuchungen war es, bei Katzen mit differenzierten Schweregraden einer Katzenschnupfenerkrankung - verglichen mit klinisch gesunden, regelmäßig geimpften Tieren, die bisher noch keine Schnupfensymptomatik gezeigt hatten - neben der klinischen Symptomatik mögliche Unterschiede hämatologischer, serologischer und immunologischer Parameter herauszuarbeiten.

Für die verschiedenen, im folgenden genauer beschriebenen Untersuchungen wurden deshalb neben den klinischen Untersuchungen Blutproben von überwiegend chronisch kranken Katzen bzw. Tieren, die immer wieder Krankheitsschübe zeigten, aus einem privat gepflegten Bestand eingesetzt, da eigens für diesen Zweck gehaltene, experimentell infizierte Versuchskatzen nicht zur Verfügung standen.

Die Blutmenge, die diesen Katzen ohne Narkose steril entnommen werden konnte und aus der sämtliche Untersuchungen durchgeführt werden mußten, war auf ca. 7 – 9 ml begrenzt. Deshalb war es notwendig, einen Lymphozytenproliferationstest zu etablieren, der bei möglichst geringem Aufwand an Material (v.a. feline Blutlymphozyten aber auch spezifischem Antigen und Lektinen) optimale Stimulationsergebnisse erbringt, um so ggf. in späteren Studien weitere spezifische Antigene mit einzubinden.

Für den Einsatz in dieser Arbeit wurde das FHV 1 ausgewählt, da es sich in einer Untersuchung von HERBST und Mitarbeitern (1988), die Sektionsmaterial respiratorisch erkrankter Katzen aus dem Institut für Veterinärpathologie der Justus-Liebig-Universität untersuchten, aus 85/147 Tupferproben (57,8 %) und somit deutlich häufiger isolieren ließ, als das FCV, das in nur 60/147 Proben (40,8 %) nachweisbar war.

3.1. Material und Methoden

In den folgenden Kapiteln werden nach dem eingesetzten Patientengut die für die Untersuchungen benötigten Materialien aufgeführt und anschließend die Methodik der klinischen und labordiagnostischen Arbeiten beschrieben.

Die Patiententiere wurden aufgrund einer gründlichen klinischen Untersuchung (s.a. unter 3.2.1.) in Krankheitsgruppen aufgeteilt. Die weiteren labordiagnostischen Untersuchungen erfolgten für alle Tiere gleichermaßen. Hierzu zählten im einzelnen die Bestimmungen des Roten und Weißen Blutbildes (s.a. 3.2.3.1.), sowie der Gesamteiweiß- und der Serumalbuminkonzentration (vgl. 3.2.3.3.). An serologischen Untersuchungen wurden neben der Bestimmung neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1, der FeLV- und FIV-Status jeden Tieres sowie der Coronavirustiter bestimmt (s.a. 3.1.1.). Weitere - zum Vergleich der Gruppen untereinander herangezogene Parameter - waren die Lymphozytensubpopulationen (vgl. 3.2.3.5.1.1.) sowie Lymphozytenproliferationstests (s.a. 3.2.3.5.2.). In letzteren wurde neben verschiedenen inaktivierten FHV-1-Zubereitungen auch nicht inaktiviertes FHV 1 eingesetzt – ein Ansatz, der für feline Lymphozytenproliferationstests bisher nicht beschrieben wurde.

3.1.1. Probandenauswahl

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 15 Kontrolltiere sowie 30 Patientenkatten eingesetzt, auf die in den nächsten beiden Abschnitten näher eingegangen wird.

3.1.1.1. Kontrollkatten

Als Kontrolltiere wurden zehn adulte, klinisch gesunde, weiblich-kastrierte Katzen (wk) sowie eine männlich-kastrierte Katze (mk), die in der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. E.-G. Grünbaum) in Gruppen als Blutspender gehalten werden, eingesetzt. Alle Tiere waren regelmäßig gegen Katzenschnupfen geimpft. Vier weiteren Katzen, die wegen chirurgischer Probleme stationär in der Chirurgischen Veterinärklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. E. Schimke) untergebracht waren, wurde routinemäßig zur Kontrolle ihres Gesundheitszustandes Blut abgenommen. Ein Teil dieses Blutes wurde in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Tests eingesetzt. Vorberichtlich hatten alle vier Katzen bisher niemals eine Schnupfensymptomatik gezeigt und waren regelmäßig geimpft. Sie wurden ebenfalls als Kontrolltiere verwendet.

Alle Katzen der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des Snap Kombi Tests der Fa. Idexx auf Antigene des Felinen Leukosevirus (FeLV), sowie auf Antikörper gegen das Feline Immundefizienzvirus (FIV) untersucht.

Eine Bestimmung der Antikörper gegen feline Coronaviren wurde vom Labor Biocontrol in Mainz (Leiter: Dr. K. Leidinger) durchgeführt. Die Bestimmung von Antikörpern gegen Feline Coronaviren mittels eines Immunfluoreszenz - Antikörpertests wird zur Diagnostik der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) genutzt. Diese Infektion wird durch ein felines Coronavirus hervorgerufen. Da aber durch den Test auch Antikörper gegen das feline enterale Coronavirus, ein humanes, porcines sowie ein Coronavirus des Hundes mitbestimmt werden, ist seine Aussagekraft nur begrenzt. Ein positiver Titer besagt nur, daß das betreffende Tier Kontakt mit Coronaviren hatte. Die Höhe des Titer allein erlaubt keine Aussage, ob ein bestimmtes Tier an einer FIP-Infektion leidet oder jemals an einer FIP-Infektion erkranken wird.

Die Bestimmung neutralisierender Antikörper gegen das FHV 1 wurde freundlicherweise von Herrn Dr. Herbst und Mitarbeitern aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere (Leiter: Prof. Dr. Dr. G. Baljer) durchgeführt.

3.1.1.2. Patienten

Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten 14 weiblichen und 16 männlichen kastrierten Europäischen Kurzhaarkatzen (EKH) stammten aus einem Bestand von ca. 130 Tieren, die gemeinsam in einem Haus mit einem angrenzenden abgezäunten Grundstück gehalten wurden. In diesem Tierkollektiv, in dem theoretisch jede Katze zu jeder anderen Kontakt hatte, befand sich eine unbekannte Zahl von FeLV- und/oder FIV-positiven Tieren. Auch FIP-Erkrankungen wurden immer wieder beobachtet, und viele Tiere zeigten Symptome eines Katzenschnupfens. Alle ausgewählten Patienten hatten im Laufe ihres Lebens bereits Symptome einer Katzenschnupfenerkrankung wie Fieber, Niesen, serösen oder eitrigen Nasen- und Augenausfluß u.a. gezeigt, oder litten zum Untersuchungszeitpunkt darunter. Anhand der klinischen Erkrankungssymptome, die die Tiere zum Zeitpunkt der Untersuchung aufwiesen, wurden sie in verschiedenen Erkrankungsstadien eingeteilt.

Die Testungen auf FeLV, FIV, feline Coronaviren sowie die Bestimmung neutralisierender Antikörper gegen FHV 1 wurden analog zu den Untersuchungen der Kontrolltiere

durchgeführt. Bei im Snap-Test FeLV-positiven Ergebnissen wurden Blutausstriche des betreffenden Tieres im Institut für Veterinärpathologie der Justus-Liebig-Universität (Leiter: Prof. Dr. M. Reinacher) immunzytologisch auf das Vorliegen einer FeLV Infektion hin überprüft.

3.1.2. Laborgeräte

Für die verschiedenen Laboruntersuchungen wurden folgende Geräte verwendet.

| | |
|--|--|
| Branson-Ultraschall-Desintegrator | Heinemann , Schwäbisch-Gmünd |
| EPICS-Elite-Durchflußzytometer | Coulter , Krefeld |
| Multikanalpipetten | Flow Laboratories , Meckenheim |
| Skatron Titertek Cell Harvester | Skatron , Schweden |
| Sysmex Microcellcounter F 800 | Digitana , Hamburg |
| Tricarb-Flüssigkeitsszintillationszähler | Canberra Packard , Frankfurt |
| Ultrazentrifuge L8-70 | Beckman , Fullerton (Kalifornien) |

3.1.3. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

| | |
|---|--|
| Fetales Kälberserum (FKS), | |
| Glasgow Modified Eagle's Medium (GMEM), | |
| Instamed Iscove Modified Dulbecco's | |
| Medium (IMDM) | Biochrom (Seromed) , Berlin |
| Concanavalin A (Con A) | Pharmacia Biotech AB , Freiburg |
| Formalin, Rotiszint eco | Roth , Karlsruhe |
| Gentamycin, Glutamin | Serva , Heidelberg |
| Gewebekulturflaschen, Mikrotiterplatten | Greiner GmbH , Nürtingen |
| GF 50 Glasfaser - Papier | Dunn Labortechnik , Asbach |
| Mercaptoethanol | Merck , Darmstadt |
| Percoll-Lösung | Sigma , Deisenhofen |
| Reaktionsgefäße | Eppendorf , Hamburg |
| Spritzen, Kanülen, Vigonylen | Braun , Melsungen |
| Sterilfilter | Millipore , Eschborn |

3.1.4. Medien

Im folgenden werden die Medien, Mediumzusätze, Lösungen und Puffer aufgeführt, die im Rahmen der virologischen und immunologischen Versuchsansätze verwendet wurden. Alle diese Substanzen wurden freundlicherweise vom Institut für Virologie der Justus Liebig-Universität in Gießen (Leiter: Prof. Dr. H. J. Thiel) zur Verfügung gestellt.

| <u>Bezeichnung</u> | <u>Zusammensetzung</u> |
|---|---|
| a) Glasgow Modified Eagle's Medium (GMEM) (bezogen auf 10 Liter Medium) | 129,9 g GMEM-Pulver 18,0 g Natriumbicarbonat |
| Das Wasser wurde vorher aktivkohlegerührt. Dem gebrauchsfertigen Medium wurden 200 mM L-Glutamin, 50 mg/ml Gentamycin (s.a. 3.1.4.c) und 10 % bei 56 °C für 30 Minuten hitzeinaktiviertes, fetales Kälberserum (FKS) zugegeben. | |
| b) Instamed Iscove Modified Dulbecco's Medium (IMDM) (bezogen auf 20 Liter Medium) | 354,6 g IMDM-Pulver 60,4 g Natriumbicarbonat |
| Dem Medium wurden ebenfalls L-Glutamin, Gentamycin und ggf. hitzeinaktiviertes, fetales Kälberserum in entsprechenden Konzentrationen zugefügt. | |
| c) T-Zellmedium | |
| Zu dem fertigen IMDM-Medium ohne FKS (100 ml) wurde jeweils 10 % fetales Kälberserum und 5×10^{-5} M β -Mercaptoethanol (25 μ l) gegeben und anschließend sterilfiltriert. | |
| d) Mediumzusätze | |
| L-Glutamin: | 200,00 mM 14,62 g / 500 ml Aqua bidest |
| (2,9 %-ige Stammlösung), sterilfiltrieren, 5 ml Aliquots, 5 ml pro 500 ml Medium | |

| <u>Bezeichnung</u> | <u>Zusammensetzung</u> |
|---|--|
| Gentamycin: | 5,0 g / 100 ml Aqua bidest (5,0 %-ige Stammlösung) |
| sterilfiltrieren, 1 ml Aliquots, 1 ml pro 500 ml Medium | |
| e) Lösungen und Puffer | |
| 1) Versenpuffer: | 8,00 g NaCl 1,15 g Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O 0,20 g Tritriplex III 0,20 g KCl 0,02 g KH ₂ PO ₄ |
| in 1 Liter Aqua bidest lösen, pH: 7,2 | |
| 2) Trypsinlösung 10 %-ig: | 100,00 g Trypsin 50,00 g Glucose 8,00 g NaCl 0,40 g KCl 0,08 g Na ₂ HPO ₄ 0,06 g KH ₂ PO ₄ |
| mit Aqua bidest auf 1 Liter auffüllen; 2,5 ml werden zu 100 ml Versenpuffer gegeben (Endkonzentration: 0,25 % Trypsinlösung in Versenpuffer) | |
| 3) PBS (Phosphate Buffered Saline): | 2,00 g KCl 14,40 g Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O 2,00 g KH ₂ PO ₄ 80,00 g NaCl |
| bezogen auf 1 l Aqua bidest als 10-fach Konzentrat, Einstellung auf pH 7,2 | |

| <u>Bezeichnung</u> | <u>Zusammensetzung</u> |
|--|--|
| c) HBS (Hanks Balanced Salt Solution): | 0,10 g Phenolrot 1,40 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 80,00 g NaCl 4,00 g KCl 2,00 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 2,00 g $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ 0,60 g KH_2PO_4 2,40 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 10,00 g Glucose |
| bezogen auf 1,0 l Aqua bidest als 10-fach Konzentrat, Einstellung auf pH 7,2 | |
| 4) Hypotone Ameisensäure für die Erythrozytenlyse: Aqua bidest ad 500 ml | 0,6 ml konzentrierte Ameisensäure |
| 5) Stabilisationslösung: Aqua bidest ad 1000 ml | 6,0 g Na_2CO_3 14,5 g NaCl 31,3 g Na_2SO_4 |
| 6) Fixationslösung: | 10,0 ml Paraformaldehydlösung (10 %) 90,0 ml PBS (pH 3) |

3.1.5. Impfstoffe

Sämtliche Kontrolltiere waren regelmäßig gegen feline Herpes- sowie Caliciviren geimpft, die letzte Impfung gegen Katzenschnupfen wurde mit Felocell RC, einem attenuierten Lebendimpfstoff der Fa. Pfizer (Karlsruhe) durchgeführt, von dem eine Impfdosis mindestens $10^{5,7}$ GKID felines Rhinotracheitisvirus (FHV 1) sowie $10^{6,2}$ GKID felines Calicivirus enthält.

3.1.6. Antikörper für die Immunphänotypisierung

Die Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen (Immunphänotypisierung) erfolgte mittels mono- oder polyklonaler Antikörper, welche an unterschiedliche Rezeptoren auf der Zelloberfläche binden. Die in dieser Arbeit in der Durchflußzytometrie eingesetzten Antikörper zur Bestimmung feline Lymphozytensubpopulationen wurden von der Southern Biotechnology Associates, Inc. hergestellt und über die Dunn Labortechnik GmbH in Asbach bezogen.

3.1.6.1. Monoklonale Antikörper

| <u>Bezeichnung</u> | <u>Spezifität</u> |
|--|--------------------------------|
| Mouse monoclonal anti-feline CD8 | feline CD8 +- T - Lymphozyten |
| Mouse monoclonal anti-feline CD4 | feline CD4 +- T - Lymphozyten |
| Mouse monoclonal anti feline PanT-cell | felines T-Zell Antigen (CD5 +) |

3.1.6.2. Polyklonale Antikörper

| <u>Bezeichnung</u> | <u>Spezifität</u> |
|--------------------|--|
| Goat anti-cat IgG | H+L-Ketten von feline IgG (B-Lymphozyten) |

Als Negativkontrollen zum Beginn einer Messreihe wurden ein FITC-markierter anti-Ratte $\alpha\beta$ -TCR-, sowie ein PE-markierter anti-Ratte CD3+-Antikörper eingesetzt, welche freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. L. Stitz (Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten, Tübingen) zur Verfügung gestellt wurden.

3.1.7. Sonstiges

Der Grundstock des feline Herpesvirus (Stamm H39) sowie der feline Embryonalzellen wurde freundlicherweise von Herrn Dr. W. Herbst aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere (Leiter: Prof. Dr. Dr. G. Baljer) zur Verfügung gestellt.

Das in den Lymphozytenproliferationstests eingesetzte radioaktive (Methyl-³H)-Thymidin wurde freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. L. Stitz (Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten, Tübingen) überlassen, Bezugsquelle ist die Firma Amersham, Braunschweig.

Die Bestimmung des FeLV- und FIV-Status erfolgte mit handelsüblichen Testkits des Snap Kombi plus FeLV- / FIV-Tests der Firma Idexx (Westbrook, Maine, USA). Hierbei handelt es sich um einen ELISA zum gleichzeitigen Nachweis des FeLV-Antigens p27 und von FIV-Antikörpern.

3.2. Methoden

3.2.1. Klinische Untersuchungen

Alle Kontrolltiere sowie die Patienten wurden einer gründlichen allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung unterzogen. Nach der Untersuchung von Puls, Atmung und Temperatur wurden Haarkleid und Haut, Maulschleimhaut und Zähne, die Konjunktiven und alle tastbaren Lymphknoten untersucht. Der anschließenden Auskultation von Herz und Lunge folgten die Untersuchung von Verdauungsapparat sowie dem Genitale.

3.2.2. Blutentnahmen

Die Blutentnahmen bei den Kontrolltieren wie auch bei den Patientenkatten wurden wie folgt durchgeführt:

Nach Fixation der jeweiligen Katze von einer Hilfsperson mit dem Nackengriff auf dem Untersuchungstisch erfolgten das Scheren der Haare und Desinfektion der Haut. Anschließend wurde eine Venenverweilkanüle (Vigonyl der Fa. Braun, Melsungen) in die leicht gestaute Vena cephalica antebrachii der rechten oder linken Vordergliedmaße des jeweiligen Tieres gelegt. Um die Sterilität der Blutprobe für die Lymphozytenstimulationstests zu wahren, erfolgte unter Erzeugung eines minimalen Unterdrucks - zur Verhinderung des Kollabierens der kleinvolumigen Katzenvenen – die Füllung einer Monovette (Antikoagulans Kalium-EDTA) der Fa. Sarstedt mit ca. 5 ml Blut, anschließend die eines weiteres Kalium-EDTA Röhrchens (1,3 ml für die hämatologischen Untersuchungen und die Immunphänotypisierungen), sowie zweier Eppendorfgefäße (1,5 ml zur Serumgewinnung), für die Bestimmung von Gesamteiweiß und Serumalbumin.

3.2.3. Laboruntersuchungen

Die Untersuchungen des roten und weißen Blutbildes mit Differenzierung und die Bestimmung der Blutserumkonzentrationen von Gesamteiweiß mit Albumin- und Globulinanteil erfolgten durch die medizinisch - technischen Assistentinnen im klinischen Labor der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I. Als Grundlage für die

Auswertung der Laborparameter dienten die Labordiagnostischen Referenzbereiche für Kleintiere der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I.

3.2.3.1. Bestimmung des Blutbildes

Die Zählung der Leukozyten- und Erythrozyten wurde am Sysmex F 800, einem halbautomatischen Hämatologiesystem, durchgeführt, die Differenzierung der Leukozyten erfolgte manuell. Die Thrombozytenzahlen der Katzen wurden in die Untersuchung nicht mit einbezogen, da die Genauigkeit ihrer Bestimmung durch das Sysmexsystem nicht ausreichend ist.

3.2.3.2. Bestimmung des Differentialblutbildes

Nach Ausstrich eines Tropfens EDTA-Blut auf einen Objektträger und Lufttrocknung erfolgte eine Färbung nach Pappenheim. Hierfür wurde der Blutausstrich für 3 Minuten mit May-Grünwald-Lösung bedeckt, anschließend die Färbelösung abgeschüttet und für 20 Minuten Giemsa-Gebrauchslösung auf den Objektträger aufgetragen, danach diese mit Aqua destillata abgespült und Farbreste auf der Unterseite des Objektträgers mit einem Zellstofftupfer entfernt. Nach Trocknung des gefärbten Ausstrichs erfolgte durch Auszählung von 100 Leukozyten die Erstellung eines Differentialblutbildes. Differenziert wurde in folgende Zellklassen: Neutrophile Granulozyten, unterteilt in Jugendliche, Stab- und Segmentkernige, Lymphozyten, Monozyten sowie weiterhin Eosinophile und Basophile Granulozyten.

3.2.3.3. Gesamteiweißkonzentration im Blutserum, Serumalbumin- und -globulinanteil

Die Bestimmung des Gesamteiweißkonzentration im Blutserumes und des Serumalbumins erfolgte mit Hilfe eines Cobas Mira Auoanalysers aus dem Serum der jeweiligen Tiere. Der Globulinanteil wurde anschließend als die Differenz aus dem gemessenen Gesamteiweiß- und dem Albuminwert errechnet (RADIN, 1994). Um die absoluten Zahlen des aus dem Serum

bestimmten Albumins und der Globuline aussagefähiger zu machen, wurden die beiden Parameter durch Bildung des Albumin-Globulin-Quotienten verknüpft. Nach KRAFT et al. (1995) liegt dieser im Serum gesunder Katzen zwischen 0,60 und 1,23.

3.2.3.4. Virologische Untersuchungen

Unter den virologischen Untersuchungen sind im folgenden die Kultivierung der felines Embryonalzelllinie und des Felines Herpesvirus, sowie die Arbeiten zur Aufbereitung des FHV 1 für die Lymphozytenproliferationstests aufgeführt. Diese Arbeiten wurden eigenständig im Labor von Herrn Prof. Dr. L. Stitz im Institut für Virologie der Justus-Liebig-Universität in Gießen (Leiter: Herr Prof. Dr. H. J. Thiel) durchgeführt. Sämtliche Lösungen, Medien, Puffer und Verbrauchsmaterialien stellte freundlicherweise das Institut für Virologie zur Verfügung.

3.2.3.4.1. Kultivierung der Felines Embryonalzelllinie

Die auf dem Boden von Gewebekulturflaschen als Monolayer auswachsenden Felines Embryonalzellen wurden mit GMEM, versetzt mit 10 % FKS, Gentamycin und Glutamin im Brutschrank bei 37° C, 5% CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit kultiviert und regelmäßig lichtmikroskopisch untersucht. Sobald der Zellrasen dicht gewachsen war, erfolgte nach dem Absaugen des Wachstumsmediums ein zweimaliges Waschen mit 5 ml Versenpuffer, um das restliche FKS zu entfernen, mit folgender Spaltung der für die Adhäsion der Zellen wichtigen Proteine durch Spülung mit 5 ml Trypsin (0,25 %). Kurz bevor sich die Zellen vom Boden der Gewebekulturflasche lösten, wurde das Trypsin abgesaugt und die Zellen in 10 ml GMEM 10 % FKS resuspendiert. Anschließend wurden die Zellen im Verhältnis 1 : 5 umgesetzt, und die Gewebekulturflaschen mit 10 ml frischem Medium aufgefüllt.

3.2.3.4.2. Kultivierung des Felines Herpesvirusstammes H39

Für die Kultivierung des Felines Herpesvirus wurde bei Gewebekulturflaschen, die einen nahezu dichten Zellrasen aufwiesen das Wachstumsmedium abgesaugt, zweimal mit

Versenpuffer gewaschen und anschließend 2 - 5 ml frisches Medium sowie 0,5 ml der Virussuspension zugegeben. Anschließend wurden die Gewebekulturflaschen im Brutschrank bei 37° C, 5 % CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit kultiviert und täglich auf zytopathische Effekte hin lichtmikroskopisch untersucht. Zytopathische Effekte waren an einer Abrundung der Zellen, einer Auflockerung des Zellverbandes und Ablösung einzelner Zellen oder von Zellverbänden von Untergrund der Kulturgefäße erkennbar. Bei nahezu vollständiger Lyse der Zellen wurden die Flaschen einem zweimaligem Gefrier- und Auftauzyklus unterworfen um noch intakte Zellmembranen zum Platzen zu bringen. Um die Auflösung der Zellen völlig sicherzustellen, erfolgte noch eine Behandlung mit einem Ultraschall-Desintegrator. Nach Zentrifugation zur Abtrennung der Zelltrümmer mußte der virushaltige Überstand abgenommen, sterilfiltriert und bis zum Gebrauch bei -70° C eingefroren werden. Die Anzucht und Aufbereitung der für die Proliferationstests der Hauptuntersuchung ausreichenden Menge an FHV 1 ist im folgenden beschrieben.

3.2.3.4.3. Aufbereitung des FHV 1

Nach der Kultivierung und vor dem Einsatz des feline Herpesvirus in den Proliferationstests wurden Virustitrationen durchgeführt und anschließend Teilmengen der Virussuspension mittels verschiedener Methoden inaktiviert und aufgereinigt.

3.2.3.4.3.1. Virustitrationen

Vor dem Einsatz des Virus in Lymphozytenproliferationstests waren Virustitrationen zur Bestimmung der GKID₅₀ (Gewebekultur Infektionsdosis) im englischen Sprachraum TCID₅₀ (Tissue Culture Infectious Dose) unabdingbar. Hierbei handelt es sich um diejenige Virusmenge, die in 50 % der Fälle eine Infektion auslöst. Die Berechnung des TCID₅₀ erfolgte nach der Methode von Spearman-Körber (BONIN, 1973).

Vor Durchführung der Titration wurde das nach der Kultivierung eingefrorene Virus aufgetaut und gepoolt. Die Erstellung der Virusvorverdünnung erfolgte in einer 96-Loch-Flachboden-Gewebekulturplatte. Hierzu wurde in jede Vertiefung 135 µl GMEM vorgelegt, dann in die

jeweils erste Vertiefung einer senkrechten Reihe 15 µl der Virussuspension pipettiert und anschließend eine absteigende Verdünnungsreihe angelegt.

In einer weiteren Gewebekulturplatte wurden je 1×10^4 Katzenembryozellen in 100 µl GMEM + 10 % FKS pro Vertiefung ausgesät und anschließend je 100 µl der Virussuspension in aufsteigender Konzentration zu den Katzenzellen gegeben. Die Proben wurden nun im Brutschrank inkubiert und täglich lichtmikroskopisch untersucht. Der Virustiter wurde anhand o.a. Methode durch Feststellung der letzten Virusverdünnung bestimmt, bei der die Katzenzellen durch das Virus noch infiziert und zerstört wurden.

3.2.3.4.3.2. Inaktivierung des FHV 1

Für den Einsatz in den Proliferationstests mußte ein Teil der Virusmenge inaktiviert werden. Da verschiedene Inaktivierungsverfahren unterschiedliche Einflüsse auf die antigene Wirkung der behandelten Proben nehmen können, wie LEVINGS et al. (1984) an Bovinem Herpesvirus Typ 1 feststellen konnten, wurden mit Formalin und UV-Strahlung zwei Inaktivierungsverfahren eingesetzt, die nicht so starke Auswirkungen auf die Antigene zeigten wie z.B. eine Hitzeinaktivierung. Weil die Bestrahlung verschiedener animaler Viren mittels Kobaltbestrahlung eine sichere Inaktivierung gezeigt hatte (JORDAN et al., 1956; THOMAS et al., 1982), wurde in der Voruntersuchung die Bestrahlung mittels einer Kobaltquelle als Positivkontrolle für die Herstellung einer sicher inaktivierten Virussuspension ausgewählt. Die drei eingesetzten Inaktivierungsverfahren sind im folgenden dargestellt.

Die Bestrahlung der Virussuspension mit einer Kobaltquelle (3.000 rad) zur Erzeugung einer sicheren Inaktivierung erfolgte im Strahlencentrum der JLU Gießen (Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. A. Müller). Das derart inaktivierte FHV 1 wird im folgenden als FHV_{Ko} bezeichnet.

Die von TEGTMEYER und ENDERS (1969) beschriebene Inaktivierung mittels ultravioletter Strahlung wurde modifiziert und die Inaktivierung des FHV 1 mit Hilfe einer Bestrahlung von 2 ml der Suspension in einer kleinen Petrischale aus 10 mm Entfernung für 2 (FHV_{UV2}) bzw. 10 (FHV_{UV10}) Minuten mit UV-Strahlung einer Wellenlänge von 254 nm durchgeführt.

Ein weiterer Inaktivierungsansatz erfolgte durch Erstellung einer 0,1 %-igen Formalinlösung. Hierfür wurden 20 ml virushaltiger Suspension ($TCID_{50} = 10^{5,6}$) mit 17,0 ml GMEM + 100 µl

Formaldehyd (FHV_{F0}) gemischt und 16 Stunden bei Raumtemperatur auf einem Magnetrührer inkubiert. Vor dem Einsatz im Test mußte das formalinaktivierte Virus zuerst 2 x 6 Stunden gegen PBS dialysiert werden, um so das für die feline Lymphozyten toxisch wirkende Formalin zu entfernen. Durch anschließende Ultrazentrifugation bei 15° C über 2 Stunden bei 110.000 g wurde das FHV 1 pelletiert und in einem Volumen von nur 10 ml GMEM + 10 % FKS wieder aufgenommen, um nach Sterilfiltration bis zum Gebrauch wieder bei -70° C tiefgefroren zu werden.

Die Zentrifugation zur Abtrennung der Zelltrümmer bei Kobalt- bzw. UV-inaktivierten Herpesviren erfolgte direkt nach der Inaktivierung für zehn Minuten bei 400 x g. Anschließend wurde der virushaltige Überstand abgenommen, sterilfiltriert und in Mengen von jeweils 12 ml bis zum weiteren Einsatz bei -70° C tiefgefroren.

3.2.3.4.3.3. Kontrolle der Inaktivierung

Vor dem Einsatz des inaktivierten feline Herpesvirus in den Proliferationstests mußte seine vollständige Inaktivierung in der Zellkultur überprüft werden. Dies erfolgte durch Inkubation von jeweils 1×10^4 feline Embryonalzellen in 100 µL Kulturmedium, mit 50 µL des 1 : 10 verdünnten Virusüberstandes mit nachfolgender, täglicher lichtmikroskopischer Beurteilung des Wachstums der Embryonalzellen und eines eventuell auftretenden zytopathischen Effektes. Als Negativkontrolle dienten feline Embryonalzellen ohne Zusatz von FHV 1, lediglich mit Kulturmedium inkubiert, die Positivkontrolle stellten mit nicht-inaktiviertem FHV 1 inkubierte Embryonalzellen dar.

3.2.3.5. Immunologische Untersuchungen

Zu den immunologischen Untersuchungen zählen die im folgenden beschriebenen Arbeiten um die Lymphozytenproliferationstests, die ebenso wie die virologischen Arbeiten im Institut für Virologie der Justus-Liebig-Universität Gießen eigenständig durchgeführt wurden, sowie die Immunphänotypisierungen der feline Blutlymphozyten, die im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. Dr. G. Baljer) erfolgten.

3.2.3.5.1. Das Prinzip der Durchflußzytometrie

Die Durchflußzytometrie ermöglicht die Untersuchung einer großen Zellzahl bezüglich Zellgröße, Zellgranulierung und der verschiedensten Oberflächen- sowie intrazellulär liegenden Antigene. Die zu charakterisierenden Zellen werden als Suspension einem Flüssigkeitsstrom zugeführt, in welchem sie zuerst vereinzelt und anschließend an einem Laserstrahl vorbeigeführt werden. Dieses Prinzip wird auch als hydrodynamische Fokussierung bezeichnet.

Das von den Zellen gestreute Laserlicht wird von Photoverstärkern gemessen und je nach Größe und Granularität der Zellen in unterschiedlich ausfallende elektrische Impulse umgewandelt, welche mittels einer speziellen gerätespezifischen Software dargestellt und ausgewertet werden können. Bei Markierung von Antigenstrukturen mittels farbstoffkonjugierter Antikörper lassen sich auch Informationen über diese Antigenstrukturen sammeln.

In der vorliegenden Arbeit wurde diese Methode zur Analyse von T-Lymphozytensubpopulationen und B-Lymphozyten aus mit EDTA ungerinnbar gemachtem, lysiertem Vollblut von Katzen verwendet. Die Charakterisierung der Lymphozyten erfolgte mit Fluoresceinisothiocyanat- (FITC) oder mit R-Phycoerythrin- (PE) markierten, monoklonalen und polyklonalen Antikörpern, die an spezifische Oberflächenrezeptoren der Lymphozyten binden.

3.2.3.5.1.1. Immunphänotypisierung peripherer Blutlymphozyten

Zur Markierung der T-Lymphozyten dienten feline (f) CD4-, fCD8- und fCD5-Antikörpern der Firma Southern Biotechnology Associates, Inc., welche nach Herstellerangaben eingesetzt wurden. Nach einem modifizierten Laborprotokoll von Herrn Dr. E. Holznagel (Pathologisches Institut der Universität Bern) wurde die Probe wie im folgenden beschrieben lysiert und im Durchflußzytometer gemessen.

Pro Ansatz wurden 70 µl EDTA-Blut in ein 5 ml fassendes Polypropylenröhrchen pipettiert. Nach Zugabe des jeweiligen Antikörpers, Mischung und Inkubation der Proben für 30 Minuten bei +4° C und Dunkelheit, erfolgte die Lyse der Erythrozyten durch Mischung der

Proben mit 550 µl hypotoner Ameisensäure auf einem Vortexer für 10 Sekunden und anschließendes Abstoppen der Reaktion durch Zugabe von 250 µl Stabilisationslösung. Es wurde 1 ml PBS pH 7,3 + 1 % FKS + 0,1 % NaN₃ zugegeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur mit 300 g zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstandes und Resuspendieren in 1 ml PBS erfolgte durch Zugabe von 100 µl PBS + 1 % Paraformaldehyd die Fixation und Messung der Proben innerhalb von 24 Stunden am Zytometer.

Für die Analysen diente das Durchflußzytometer EpicsTM Elite der Firma Coulter, Krefeld, wobei jeweils 5.000 Zellen pro Antikörper gemessen wurden. Zur Auswertung der Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften war auf dem Zytometer das spezielle Computerprogramm Elite 3.1. installiert, das die numerische oder graphische Darstellung der Ergebnisse ermöglichte. Die Graphiken zeigten die Intensität der Fluoreszenz logarithmisch auf der Abszisse und die Anzahl der Zellen linear auf der Ordinate.

3.2.3.5.2. Lymphozytenproliferationstests

Bei T-Lymphozytenproliferationstests wird der Einbau des radioaktiven Isotops ³H-Thymidin in die DNA sich teilender T-Lymphozyten gemessen, er dient als Maßstab für die antigenspezifische Proliferation. Die T-Lymphozyten werden entweder direkt in abgenommenem Vollblut, oder nach Isolation aus dem Blut via Dichtegradientenzentrifugation durch spezifische oder unspezifische Stimulantien (Mitogene) zur Proliferation gebracht. In einem Beta-Counter wird nach dem Ernten der Zellen dann die Radioaktivität des in die DNA der Lymphozyten eingebauten ³H-Thymidins durch Flüssigkeitsszintillation als "Counts per minute" (Cpm) gemessen.

Anschließend wird der Mittelwert jeder der als Triplikat angesetzten Proben ermittelt und als Maß für die spezifische Proliferation der sogenannte Stimulationsindex (SI) bestimmt, der sich wie folgt berechnet:

$$\text{S.I.} = \frac{\text{Cpm T-Zellen mit Antigen}}{\text{Cpm T-Zellen ohne Antigen}}$$

Bei der Verwendung von Ansätzen aus Vollblutproben wird es von einigen Untersuchern vorgezogen, die Cpm in Bezug zur Lymphozytenzahl zu setzen, um somit einen Stimulationswert pro Zelle zu erhalten.

3.2.3.5.2.1. Gewinnung der felines T-Lymphozyten für die Proliferationstests

Die für die Lymphozytenproliferationstests notwendigen felines T-Lymphozyten wurden durch Dichtegradientenzentrifugationen aus mit EDTA ungerinnbar gemachtem Vollblut gewonnen. Als Ausgangssubstanz für das Dichtegradientenmedium diente handelsübliches Percollmedium in einer, einem Laborprotokoll von Herrn Dr. E. Holznagel (Pathologisches Institut der Universität Bern) folgenden, Verdünnung. Die hierfür benötigten Lösungen sowie die Mischungsverhältnisse sind der Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11: Percoll-Gradienten-Herstellung

| Gradient % | Percoll-Lösung (100 %) ml | HBS (10-fach) -Konzentrat ml | HBS (1-fach) -Lösung ml |
|---------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| 40 | 40,0 | 4,4 | 55,6 |
| 55 | 55,0 | 6,1 | 38,9 |
| 63 | 63,0 | 7,0 | 30,0 |

Bei den ersten mit diesen Percoll-Medien gefahrenen Gradienten kam es zu einer Gerinnung des Serumanteils der Proben, wobei sich ein gallertartiger Pfropf bildete, der die Entnahme der Lymphozyten teilweise oder auch ganz unmöglich machte. Der Verdacht lag nahe, daß dies durch eine Interaktion zwischen dem mit EDTA ungerinnbar gemachten Blut und den in der HBS enthaltenen Calcium-Ionen bedingt sei, da die antikoagulierende Wirkung des EDTA auf Entzug des Calciums durch Komplexbildung beruht. Aus diesem Grund wurde die HBS durch gleiche Mengen calcium- und magnesiumfreier PBS ersetzt. Da bei dem nach dieser Rezeptur hergestellten 63%-igen Percoll die Osmolarität mit 370 mOsm deutlich zu hoch lag, mußte eine Modifikation des Rezeptes durch Zugabe von Aqua dest. erfolgen, dies ist in der Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Modifizierte Percoll-Gradienten

| Gradient % | Percoll-Lösung (100 %) (ml) | PBS (10-fach) -Konzentrat (ml) | PBS (1-fach) -Lösung (ml) | Aqua dest. (ml) |
|---------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 40 | 40,0 | 4,4 | 55,6 | 0,0 |
| 55 | 55,0 | 6,1 | 38,9 | 0,0 |
| 63 | 63,0 | 7,0 | 15,0 | 15,0 |

Nach steriler Mischung der in der Tabelle 12 aufgeführten Grundsubstanzen erfolgte ihre Aufbewahrung bis zum Gebrauch bei +4 ° C.

Vor dem Ansetzen eines Dichtegradienten wurde das steril gewonnene EDTA-Blut mit PBS im Verhältnis 1 : 2 gemischt. Der Aufbau des Gradienten erfolgte in einem sterilen Plastikröhrchen durch die Unterlagerung von 3 ml Percoll 40 % mit 3 ml Percoll 55 % und dem gleichen Volumen Percoll 63 % mittels einer Pasteurpipette. Anschließend konnte der Gradient mit dem 1 : 2 verdünntem EDTA-Blut überschichtet und die fertigen Ansätze in einer Zentrifuge der Firma Hettich (Hanau) bei 381 x g für 18 Minuten zentrifugiert werden.

In einem nächsten Schritt wurden die mononukleären Zellen, die sich ihrer Dichte entsprechend an der Interphase zwischen Percoll 40 % und Percoll 55 % befanden, mittels einer Pasteurpipette mit möglichst wenig Gradientenmedium entnommen, mit ca. 8,0 ml T-Zell-Medium gemischt und bei 300 x g für 10 Minuten zentrifugiert. Nach zweimaligem Mediumwechsel und Wiederholung des Waschens mußte ein Tropfen des Pellets mit einem Tropfen FKS auf einem Objektträger gemischt und ein Ausstrich hergestellt werden. Nach Lufttrocknung erfolgte eine Färbung nach Pappenheim (s.a. Punkt 3.2.3.2.) und – zur Kontrolle des Isolationserfolges – die lichtmikroskopische Differenzierung der ausgestrichenen Zellen. Das restliche Pellet wurde in T-Zell-Medium resuspendiert, die Prozentzahl toter Zellen mittels Trypanblaufärbung bestimmt und anschließend, nach Zählung in einer Neubauer-Zählkammer, eine Zellzahl von 5×10^4 Zellen pro 50 µl T-Zellmedium eingestellt.

3.2.3.5.2.2. Voruntersuchungen zu den Lymphozytenproliferationstests

Um die optimale Zellzahl und die optimale Menge an Con A als unspezifischem Stimulans für die Hauptuntersuchung zu finden, wurden unterschiedlich große Zellzahlen (1×10^4 ; 5×10^4) mit verschiedenen Con A-Konzentrationen (0; 2,5; 5,0; 10,0 µg/ml) inkubiert. Die Inkubationsdauer betrug 66 Stunden.

Hierzu dienten Ansätze der Zellen in Triplikaten am Tag 1 in jeweils 100 µl T-Zellmedium zusammen mit entweder 10 µl T-Zellmedium als Negativkontrolle, oder 2,5, 5,0 oder 10,0 µg/ml Con A bei Inkubation für 48 Stunden im Brutschrank bei 37° C, 5 % CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit. Nach der 48-stündigen Stimulationsphase wurde pro Vertiefung 0,15 µCi ³H-Thymidin in 100 µl Medium hinzugegeben und wieder im Brutschrank inkubiert. Nach

weiteren 18 Stunden im Brutschrank konnten die Proben mittels eines Zellerntegeräts der Firma Skatron (Schweden) aus den Vertiefungen abgesaugt und auf ein Glasfaser-Filterpapier (Dunn, Asbach) übertragen werden. Auf diesem wurden sie für mindestens 1 Stunde getrocknet und anschließend in ein, vorher mit 5 ml des hydrophoben Lösungsmittels Rotiszint eco (Roth, Karlsruhe), gefülltes Meßröhrchen gegeben. Nun folgte die Messung der Radioaktivität des in die DNA der Lymphozyten eingebauten ^3H -Thymidins - als Korrelat für die Proliferation der T-Zellen - durch Flüssigkeitsszintillation in einem Packard-Tricarb-Flüssigkeitsszintillationszähler als Cpm (Counts per minute), aus denen anschließend der Stimulationsindex (SI) errechnet wurde.

3.2.3.5.2.3. Lymphozytenproliferationstests, Hauptuntersuchung

In der Hauptuntersuchung kam die in der Voruntersuchung als optimal bestimmte Zellzahl von 5×10^4 Zellen pro Probe zum Einsatz, an Stimulantien dienten neben Concanavalin A (Con A) als unspezifischem T-Zell-Stimulans, virulentes FHV, sowie mit Formalin bzw. mit UV-Strahlung inaktiviertes felines Herpesvirus.

In der Abbildung 1 ist das Ansatzschema der Hauptuntersuchung dargestellt. Für jedes der 15 Kontrolltiere sowie der 30 Patiententiere, aus dessen Blut genügend Lymphozyten isoliert werden konnte, wurde neben einem 66-Stunden-Ansatz (Ansatz I), ein 114-Stunden (Ansatz II) sowie ein 138-Stunden-Ansatz (Ansatz III) durchgeführt

Abbildung 1: Ansatzschema einer 96-Loch-Flachbodenplatte der Hauptuntersuchung

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | | | | | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | GK | GK | GK | H10 _{UV} | H10 _{UV} | H10 _{UV} | H50 _{UV} | H50 _{UV} | H50 _{UV} |
| | | | | | | | | | | | |
| H10 _F | H10 _F | H10 _F | H50 _F | H50 _F | H50 _F | Con A 2,5 | Con A 2,5 | Con A 2,5 | Con A 5,0 | Con A 5,0 | Con A 5,0 |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| HV ₁ | HV ₁ | HV ₁ | HV ₅ | HV ₅ | HV ₅ | HV ₁₀ | HV ₁₀ | HV ₁₀ | HV ₅₀ | HV ₅₀ | HV ₅₀ |
| | | | | | | | | | | | |

0 = Negativkontrolle; GK = Gewebekulturkontrolle; H10 (50)_{UV}: Ansatz mit 10 (50) µl UV-inaktiviertem FHV 1; H10 (50)_F: Ansatz mit 10 (50) µl formalininaktiviertem FHV 1; Con A 2,5 (5,0): Ansatz mit 2,5 (5,0) µg/ml Con A; HV1 (V5, V 10, V 50): Ansatz mit 1 (5, 10, 50) µl virulentem FHV 1

Wie aus der Abbildung 1 ersichtlich ist, wurde jede Probe als Triplikat angesetzt. Zwischen den horizontalen Reihen sollte mindestens eine Leerreihe verbleiben, da es beim sogenannten "Ernten" der Zellen, welches mit einem Absauggerät geschieht, hin und wieder zu einem Überlaufen einzelner Vertiefungen kommt, was zu einer Verunreinigung und Verfälschung der Werte benachbarter Proben führt.

Die mit 0 gekennzeichneten Vertiefungen stellen die Negativkontrolle dar, die für die Berechnung des Stimulationsindex benötigt wird. Hier werden die Lymphozyten in T-Zellmedium ohne Stimulans inkubiert. Das Kürzel GK steht für die Gewebekulturkontrolle. Hier wird das Gewebekulturmedium, in welchem auch das Virus kultiviert wurde, ebenfalls ohne Antigen zugefügt, dieser Ansatz dient auch als Kontrolle des Testverfahrens.

Die Ansätze H10_{UV} und H50_{UV} beinhalten 10,0 bzw. 50,0 µl UV-inaktiviertes FHV 1, H10_F und H50_F jeweils 10,0 oder 50,0 µl formalininaktiviertes FHV 1 pro Ansatz. Mit Con A 2,5 und 5,0 sind die Ansätze mit 2,5 bzw. 5,0 µg/ml Concanavalin A gekennzeichnet.

Dieses unspezifische Stimulans regt die T-Lymphozyten verschiedener Spezies zu maximaler Stimulation an. HV₁, HV₅, HV₁₀ und HV₅₀ kennzeichnen die Ansätze mit der jeweiligen Menge (in µl) an virulentem FHV 1.

Die Darstellung des zeitlichen Ablaufs der Lymphozytenproliferationstests erfolgt zur besseren Übersicht in der Abbildung 2.

Abbildung 2: Hauptuntersuchung, Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf

| Stunden | Ansatz I | Ansatz II | Ansatz III |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | Zellen+Virus-Ag + Con A | Zellen+Virus-Ag | Zellen+Virus-Ag |
| 48 | ³ H-Thymidin | Con A | _____ |
| 66 | Ernte der Lymphozyten | _____ | _____ |
| 72 | _____ | _____ | Con A |
| 96 | _____ | ³ H-Thymidin | _____ |
| 114 | _____ | Ernte der Lymphozyten | _____ |
| 120 | _____ | _____ | ³ H-Thymidin |
| 138 | _____ | _____ | Ernte der Lymphozyten |

Wie aus der Abbildung 2 zu ersehen, wurden am Tag 0 die felines Lymphozyten mit dem jeweiligen Virusantigen oder mit Con A zusammen in T-Zell-Medium gegeben und anschließend inkubiert. Sämtliche Inkubationsschritte fanden im Brutschrank bei 37° C, 5 % CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit statt. 48 Stunden vor der Ernte der Lymphozyten mußte Con A als unspezifisches Stimulans und 18 Stunden vor der Ernte das radioaktive ³H-Thymidin, welches in die DNA der proliferierenden Zellen eingebaut wird, in die jeweiligen Vertiefungen gegeben und bis zur Ernte weiter im Brutschrank inkubiert werden. Die anschließende Ernte der Zellen und die Messungen im Szintillationszähler erfolgten wie bereits unter Punkt 3.2.3.5.2.2. beschrieben.

3.2.4. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung (Leiter: AOR Dr. Failing) des Instituts für Veterinärphysiologie im Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität, unter Verwendung des Statistikprogrammpakets BMDP/Dynamic, Release 7,0 (DIXON, 1993).

3.2.4.1. FeLV- und FIV-Status, FCoV- und FHV-1-Titer

Während für die Parameter FeLV- und FIV-Status aufgrund zu geringer Vorkommenshäufigkeit keine statistische Auswertung erfolgte, wurde die statistische Aufarbeitung der FHV-1- und FCoV-Titer mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests mit Bindungen durchgeführt.

3.2.4.2. Weißes Blutbild und Lymphozytensubpopulationen

Für die statistische Auswertung des weißen Blutbildes und der Lymphozytensubpopulationen wurde aufgrund rechtsschiefer Verteilung der Merkmale eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt und die Datenbeschreibung mit Hilfe von geometrischen Mittelwerten (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF), dargestellt in der Form $\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$, durchgeführt. Lediglich bei den Neutrophilen Granulozyten wurden aufgrund annähernd normal verteilter Merkmale die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) gewählt. Anschließend erfolgte eine Varianzanalyse mit paarweisem Vergleich nach Dunnett und der Tukey Methode (SACHS, 1992).

3.2.4.3. Lymphozytenproliferationstests

Aufgrund rechtsschiefer Verteilung der Daten wurden die in den Proliferationstests gewonnenen Werte logarithmiert und für die Voruntersuchungen eine zweifaktorielle Varianzanalyse der Meßparameter Zellzahl und Konzentration, für die Hauptuntersuchung eine dreifaktorielle Varianzanalyse zur Prüfung des Gruppen-, Zeit und Konzentrationseinflusses durchgeführt. Die Überprüfung auf signifikante Zusammenhänge erfolgte mit Hilfe des verallgemeinerten Fisher-Tests / Chi-Quadrat-Tests. Für die Auswertung wurde das Programm BMDP 5 herangezogen.

4. Ergebnisse

Im folgenden sind die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen und der labortechnisch erfaßten Parameter der 15 Kontrollkatzen sowie der Patienten beschrieben.

4.1. Untersuchungen der Kontrollkatzen

4.1.1. Ergebnisse der klinischen Untersuchungen

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 15 Kontrolltiere eingesetzt. Die allgemeine und die spezielle klinische Untersuchung der Kontrolltiere erbrachte keinen Hinweis auf klinische Erkrankungssymptome im Sinne einer Katzenschnupfeninfektion. Die Einzeldaten zu Rassenzugehörigkeit, Geschlecht und Alter finden sich in der Tabelle 13.

Tabelle 13: Rassenzugehörigkeit, Geschlecht und Alter der 15 Kontrollkatzen

| Tier.-Nr. | Rasse | Geschlecht | Alter |
|-----------|-----------|------------|-------|
| 88 | EKH | wk | 8 |
| 92 | EKH | wk | 7 |
| 94 | EKH | wk | 7 |
| 96 | EKH | wk | 7 |
| 184 | EKH | wk | 6 |
| Frieda | EKH | wk | 6 |
| Freya | EKH | wk | 6 |
| Stummel | EKH | wk | 7 |
| Bonnie | EKH | wk | 2 |
| Paula | EKH | wk | 1 |
| Rocky | EKH | mk | 2 |
| 205 | EKH | mk | 6 |
| Nano | EKH | mk | 1 |
| Schulter | Kartäuser | wk | 9 |
| Kopf | Kartäuser | wk | 9 |

Bei dreizehn Katzen handelte es sich um Europäische Kurzhaarkatzen (EKH), zwei Katzen waren Kartäuser. Zwölf der Katzen waren weiblich, die übrigen drei männlich, alle Tiere waren kastriert. Das mittlere Lebensalter aller Tiere lag bei 5,6 Jahren.

4.1.2. Ergebnisse der Laboruntersuchungen

4.1.2.1. Hämatologische Untersuchungen bei den gesunden Kontrollkatzen

4.1.2.1.1. Rotes Blutbild

In der Tabelle 14 sind die Erythrozytenzahlen, der Hämatokritwert sowie die Werte der Hämoglobinbestimmungen der Kontrolltiere aufgeführt.

Tabelle 14: Rotes Blutbild der Kontrollkatzen

| Tier Nr. | Erythrozyten (^x 5,0 – 10,0 x 10 ¹² /l) | Hämatokrit (^x 0,25 – 0,45 l/l) | Hämoglobin (^x 5,0 – 10,6 mmol / l) |
|---------------|--|---|---|
| 1 | 8,3 | 0,47 | 8,2 |
| 2 | 10,9 | 0,48 | 9,0 |
| 3 | 10,1 | 0,47 | 8,4 |
| 4 | 10,7 | 0,52 | 8,1 |
| 5 | 9,8 | 0,41 | 7,8 |
| 6 | 10,4 | 0,39 | 7,1 |
| 7 | 10,1 | 0,36 | 7,8 |
| 8 | 8,3 | 0,37 | 7,7 |
| 9 | 9,2 | 0,42 | 8,8 |
| 10 | 9,0 | 0,37 | 7,9 |
| 11 | 12,0 | 0,43 | 8,9 |
| 12 | 8,5 | 0,40 | 8,8 |
| 13 | 5,4 | 0,23 | 5,0 |
| 14 | 9,4 | 0,40 | 8,3 |
| 15 | 6,9 | 0,29 | 5,9 |
| \bar{x} | 9,3 | 0,40 | 7,8 |
| S | 1,6 | 0,07 | 1,1 |
| $\bar{x} + s$ | 10,9 | 0,47 | 8,9 |
| $\bar{x} - s$ | 7,7 | 0,33 | 6,7 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I / Kleintiere, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Aus der Tabelle 14 ist ersichtlich, daß der Hämoglobingehalt ebenso wie die Erythrozytenzahl bei allen Katzen innerhalb des Referenzbereichs lag. Das Tier Nr. 13 wies mit 0,23 l/l einen erniedrigten Hämatokritwert auf, die Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten war mit 5,0 mmol/l an der unteren Grenze des Referenzbereichs.

4.1.2.1.2. Weißes Butbild

In der Tabelle 15 sind die gemessenen Leukozytenzahlen und ihre manuell ausdifferenzierten Fraktionen dargestellt.

Tabelle 15: Weißes Blutbild der Kontrollkatzen

| Tier Nr. | Leukozyten (^x 6,0 – 11,0 x 10 ⁹ /l) | Lymphozyten (^x 15 – 30 %) | Neutrophile Granulozyten (^x 60 – 75 %) | Eosinophile Granulozyten (^x 0 – 4 %) | Monozyten (^x 0 – 5 %) |
|----------|--|--|--|--|--------------------------------------|
| 1 | 14,3 | 50,0 | 42,0 | 8,0 | 0,0 |
| 2 | 16,8 | 46,0 | 48,0 | 6,0 | 0,0 |
| 3 | 11,5 | 56,0 | 39,0 | 4,0 | 1,0 |
| 4 | 13,6 | 47,0 | 51,0 | 2,0 | 0,0 |
| 5 | 5,0 | 33,0 | 61,0 | 5,0 | 1,0 |
| 6 | 7,9 | 26,0 | 58,0 | 14,0 | 2,0, |
| 7 | 7,4 | 44,0 | 48,0 | 2,0 | 2,0 |
| 8 | 9,3 | 21,0 | 66,0 | 11,0 | 2,1 |
| 9 | 7,0 | 53,0 | 45,0 | 2,0 | 0,0 |
| 10 | 12,6 | 50,0 | 42,0 | 7,0 | 1,0 |
| 11 | 10,1 | 40,0 | 42,0 | 16,0 | 2,0 |
| 12 | 3,1 | 52,0 | 44,0 | 3,0 | 1,0 |
| 13 | 4,4 | 26,0 | 79,0 | 4,0 | 1,0 |
| 14 | 7,6 | 44,0 | 41,0 | 3,0 | 11,0 |
| 15 | 12,1 | 2,0 | 91,0 | 4,0 | 3,0 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I / Kleintiere

Obwohl die Kontrolltiere klinisch gesund waren, fielen bei der Untersuchung der Leukozyten und ihrer Differenzierung Unregelmäßigkeiten auf. So wiesen das Tier Nr. 5 mit $5,0 \times 10^9 / l$, ebenso wie Tier 12 mit $3,1 \times 10^9 / l$ und Tier 13 mit $4,4 \times 10^9 / l$ Leukopenien auf, während die Tiere Nr. 1, 2, 4, 10 und 15 Leukozytosen bis zu maximal $16,8 \times 10^9 / l$ zeigten.

Die Betrachtung der Lymphozyten ergab bei Tier Nr. 15 eine absolute Lymphopenie mit 2 %. Bei der Mittelwertbildung im Rahmen der statistischen Auswertung der Lymphozytenzahlen für die Kontrollgruppe wurde dieses Tier nicht mit berücksichtigt, da die abweichenden Werte zu einer Verzerrung des Gruppenmittels geführt hätten. Die Lymphozyten von 3 Katzen lagen im Normbereich, während sie bei der überwiegenden Zahl der Kontrolltiere erhöht waren.

Die Zahl der Neutrophilen Granulozyten lag bei Katze Nr. 5 und Katze Nr. 8 im Normbereich. Die 79 % Neutrophilen Granulozyten des Tieres mit der Nummer 13 müssen in Verbindung mit der Leukozytenzahl von $4,4 \times 10^9 / l$ gesehen werden. Hieraus ergibt sich, daß in diesem Fall nur eine relative Neutrophilie, in Wirklichkeit aber eine absolute Neutropenie vorliegt.

Bei der Katze mit der Nummer 15 lag mit 91 % Neutrophiler Granulozyten von $12,1 \times 10^9$ Leukozyten /l eine absolute Neutrophilie vor.

Während Tier Nr. 14 mit 11 % Monozyten von $7,6 \times 10^9$ Leukozyten /l eine Monozytose zeigte, ist die Monozytenzahl der übrigen Tiere im Rahmen des Referenzbereichs.

Die Zahl der Eosinophilen Granulozyten war bei 7 von 11 in der Untersuchung eingesetzten Blutspendekatzen der MVK I oberhalb des Referenzbereichs angesiedelt, es fielen Spitzenwerten von 14 und 16 % der Leukozyten auf.

4.1.2.1.3. Gesamteiweißkonzentration im Blutserum, Serumalbumin und -globulinanteil der Kontrollkatzen

In der Tabelle 16 finden sich die Gesamteiweißkonzentrationen, die Serumalbumin- und -globulinwerte von 15 Kontrollkatzen.

Tabelle 16: Gesamteiweiß-, Serumalbumin- und Globulinwerte von 15 Kontrollkatzen

| Tier Nr. | Gesamteiweiß ($\times 60 - 80$ g/l) | Albumin ($\times 21 - 33$ g/l) | Globuline (g/l) | Albumin/ Globulin (* 0,6 - 1,23) |
|---------------|---|------------------------------------|--------------------|--|
| 1 | 83,2 | 41,4 | 41,8 | 0,99 |
| 2 | 67,8 | 31,3 | 36,5 | 0,85 |
| 3 | 72,6 | 34,7 | 37,9 | 0,91 |
| 4 | 76,3 | 41,1 | 35,2 | 1,17 |
| 5 | 81,2 | 45,6 | 35,6 | 1,28 |
| 6 | 65,7 | 30,9 | 34,8 | 0,88 |
| 7 | 83,9 | 31,7 | 51,3 | 0,61 |
| 8 | 72,4 | 30,5 | 41,9 | 0,72 |
| 9 | 74,4 | 30,6 | 43,8 | 0,69 |
| 10 | 75,5 | 29,8 | 45,7 | 0,65 |
| 11 | 60,4 | 29,9 | 30,5 | 0,98 |
| 12 | 63,9 | 28,2 | 35,7 | 0,79 |
| 13 | 66,3 | 31,7 | 34,6 | 0,91 |
| 14 | 66,6 | 28,9 | 37,7 | 0,76 |
| 15 | 69,7 | 31,3 | 38,4 | 0,81 |
| \bar{x} | 72,1 | 33,3 | 38,8 | 0,86 |
| S | 7,1 | 5,2 | 5,2 | 0,17 |
| $\bar{x} + s$ | 79,2 | 38,5 | 44,0 | 1,03 |
| $\bar{x} - s$ | 65,0 | 28,1 | 33,6 | 0,69 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik/ Kleintiere, * Referenzbereich für den Albumin-Globulin-Quotienten (KRAFT et al., 1995), \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Das Gesamteiweiß von 12 der untersuchten Kontrollkatzen lag im Normalbereich von 60 - 80 g/l. Bei drei Tieren bestand eine leichte Hyperproteinämie (81 - 83 g/l). Die Bestimmung des Albumins ergab keine pathologischen Befunde. Der mittlere Albumin-Globulin-Quotient befindet sich mit 0,86 im Normalbereich.

4.1.2.2. Serologische Untersuchungen

Unter die serologischen Untersuchungen wurden die Untersuchungen auf das FeLV, das FIV, Feline Coronaviren sowie das FHV 1 eingeordnet.

4.1.2.2.1. Untersuchungen auf FeLV und FIV bei den 15 Kontrolltieren

Die Untersuchungen auf FeLV sowie das FIV mit Hilfe des Snap-Tests erbrachten bei allen Kontrolltieren negative Ergebnisse.

4.1.2.2.2. Untersuchungen auf Antikörper gegen feline Coronaviren (FCoV-Titer) bei den 15 Kontrolltieren

Die Ergebnisse der Coronavirustiter der Kontrolltiere sind in der Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: FCoV-Titer der 15 Kontrollkatzen

| Coronavirustiter | | < 1: 25 | 1: 25 | 1: 100 | 1: 400 | 1: 1600 |
|------------------|------|---------|--------|--------|---------|---------|
| Tierzahl | abs. | 0 | 3 | 9 | 2 | 1 |
| | % | 0 % | 20,0 % | 60,0 % | 13,33 % | 6,66 % |

Aus der Tabelle 17 geht hervor, daß unter den Kontrolltieren kein Tier mit einem negativen Titer war. Während 20 % der Katzen einen niedrigen Titer von 1 : 25 hatten, wiesen 60 % der Tiere einen mittelhohen Titer von 1 : 100 auf. Ein hoher Titer von 1 : 400 wurde bei 13,33 % und ein sehr hoher Titer von 1 : 1600 bei nur einem Tier gefunden (6,66 %)

4.1.2.2.3. Neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1

Die Antikörper gegen das FHV 1 wurden im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere (Leiter: Prof. Dr. Dr. G. Baljer) aus dem Serum aller Kontrollkatzen bestimmt. Insgesamt wurden 6 Titerstufen gefunden. Als positiv wird ein Titer bezeichnet, wenn er bei $\geq 1 : 4$ liegt. In der Tabelle 18 ist die Titerverteilung bei den Kontrollkatzen dargestellt.

Tabelle 18: Neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1 bei 15 Kontrollkatzen

| FHV-1-Titer | | < 1 : 2 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 |
|-------------|------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Tierzahl | abs. | 9 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| | % | 60 | 6,6 | 6,6 | 13,3 | 6,6 | 6,66 |

Aus der Tabelle 18 ist zu ersehen, daß zehn von 15 Katzen (66,66 %) negative Neutralisationstiter gegen das FHV 1 (d.h. Titer von $< 1 : 4$) aufwiesen. Die übrigen 5 Tiere wiesen Titer zwischen $1 : 4$ und $1 : 32$ auf.

4.1.2.3. Immunologische Untersuchungen

4.1.2.3.1. Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen der Kontrollkatzen

Da auch im Blut von gesunden Individuen starke Schwankungen der absoluten Lymphozytenzahlen und mit ihnen auch der Lymphozytensubpopulationen auftreten können, werden diese meist in Prozent angegeben. Eine wichtige Rolle in der Beurteilung der CD4- und CD8-Zellen spielt hierbei der CD4 / CD8 Quotient. Die Ergebnisse der Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen von 15 Katzen der Kontrollgruppe sind in der Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Lymphozytensubpopulationen von 15 Katzen der Kontrollgruppe
(prozentuale und absolute Werte)

| Parameter | Einheit | \bar{x} | s | $\bar{x} + s$ | $\bar{x} - s$ |
|---------------|-------------------|-----------|------|---------------|---------------|
| Pan T | % | 58,0 | 13,2 | 71,2 | 44,8 |
| | $\times 10^9 / l$ | 2,38 | 1,50 | 3,88 | 0,88 |
| B-Lymphozyten | % | 32,5 | 17,2 | 49,7 | 15,3 |
| | $\times 10^9 / l$ | 1,29 | 0,81 | 2,10 | 0,48 |
| CD4 | % | 28,0 | 9,1 | 37,1 | 18,9 |
| | $\times 10^9 / l$ | 1,06 | 0,70 | 1,76 | 0,36 |
| CD8 | % | 16,5 | 6,1 | 22,6 | 10,5 |
| | $\times 10^9 / l$ | 0,72 | 0,56 | 1,28 | 0,16 |
| CD4 : CD8 | | 1,8 | 0,7 | 2,5 | 1,1 |

\bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Die mittlere T-Lymphozytenzahl der 15 Kontrolltiere liegt bei $58,0 \pm 13,8$ %. Die weiteren Bestimmungen ergaben durchschnittlich $32,5 \pm 17,2$ % B-Lymphozyten und einen Anteil von $28,0 \pm 9,1$ % CD4-Lymphozyten. Die Zahl der CD8-Lymphozyten lag bei durchschnittlich 16,5 % bei einer Standardabweichung von 6,1 % und der CD4 : CD8-Quotient bei $1,8 \pm 0,7$.

4.1.2.3.2. Ergebnisse der Voruntersuchungen zu den Lymphozytenproliferationstests

Die Voruntersuchungen zu den Lymphozytenproliferationstests umfassen die Arbeiten um die Inaktivierung des FHV 1, die Isolation der feline peripheren Blutlymphozyten sowie die Bestimmungen der optimalen Zellzahl und Con A-Konzentration für die Lymphozytenproliferationstests.

4.1.2.3.2.1. Ergebnisse der FHV-1-Inaktivierung

Im folgenden werden die Ergebnisse der Inaktivierung der Felinen Herpesviren dargestellt, welche später in den Lymphozytenproliferationstests eingesetzt wurden.

Nach **48** Stunden ergab die Beurteilung der Zellen der Negativkontrolle ein normales Wachstum, während die als Positivkontrolle mit nicht inaktiviertem Virus bestückten ein schlechteres Wachstum und teilweise zytopathische Effekte zeigten. Mit FHV_{UV2} inkubierte Embryonalzellen (FE-Zellen) wiesen ebenfalls ein schlechteres Wachstum auf als die Zellen der Negativkontrolle. Hier war auch ein zytopathischer Effekt sichtbar, während in den Ansätzen FHV_{UV10}, FHV_F und FHV_{Ko} weder ein schlechteres Wachstum als in der Negativkontrolle, noch zytopathische Effekte erkennbar waren.

Die Zellen der Negativkontrolle zeigten in der abschließenden Untersuchung nach **96** Stunden ein normales Wachstum und keinen zytopathischen Effekt, während dieser bei der Positivkontrolle mit virulentem Virus vollständig war. Der Ansatz FHV_{UV2} ergab ein sehr schlechtes Wachstum, in vielen Vertiefungen fand sich ein deutlicher zytopathischer Effekt. Bei den Ansätzen FHV_{UV10}, FHV_{Ko} und FHV_F wurden weder ein schlechteres Wachstum der FE-Zellen noch zytopathische Effekte beobachtet.

Als Ergebnis dieser Inaktivierungsversuche kann festgehalten werden, daß die Bestrahlung mit Kobalt ebenso wie die zehnminütige Behandlung mit UV-Strahlung (254 nm) oder die Vorinkubation mit Formalin eine sichere Inaktivierung des FHV 1 bedingten, während die zweiminütige UV-Bestrahlung hierfür nicht ausreichte. Aus diesem Grund konnte in den Lymphozytenproliferationstests im Hauptteil dieser Arbeit auf den Einsatz von FHV 1, welches durch Kobaltstrahlung inaktiviert wurde verzichtet werden, da sich die Formalininaktivierung und eine UV-Inaktivierung über 10 Minuten als ebenso sicher erwiesen.

4.1.2.3.2.2. Ergebnisse der Lymphozytenisolation via Dichtegradientenzentrifugation

Die lichtmikroskopische Differenzierung der mittels Percoll-Dichtegradientenzentrifugation isolierten feline Lymphozyten erfolgte an jeweils 100 der in fetalem Kälberserum ausgestrichenen, nach Pappenheim gefärbten Zellen. In der Lymphozytenbande fanden sich zwischen 74 und 100 % im Mittel 97,8 % Mononukleäre Zellen (Lymphozyten und Monozyten) sowie 0 bis 26 % (Mittelwert 2,2 %) Polymorphnukleäre Zellen (Granulozyten). Die Isolationsergebnisse waren für alle Gruppen gleichermaßen gut, zwischen den einzelnen Gruppen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die anschließende Bestimmung des Anteils toter Zellen durch Färbung mit Trypanblau ergab in allen Fällen Werte von weniger als 5 %.

4.1.2.3.2.3. Ergebnisse der Bestimmung der optimalen Lymphozytenzahl und Con A-Konzentration für den Einsatz in den Proliferationstests

In den Voruntersuchungen wurden die optimale Zellzahl sowie die Menge an Con A bestimmt, die feline periphere Blutlymphozyten zu maximaler Stimulation anregt. Hierfür wurden Lymphozyten von neun Tieren eingesetzt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 20: Voruntersuchung, Stimulationsindizes von 9 Katzen bei Einsatz von zwei verschiedenen Zellzahlen und drei Mitogenkonzentrationen

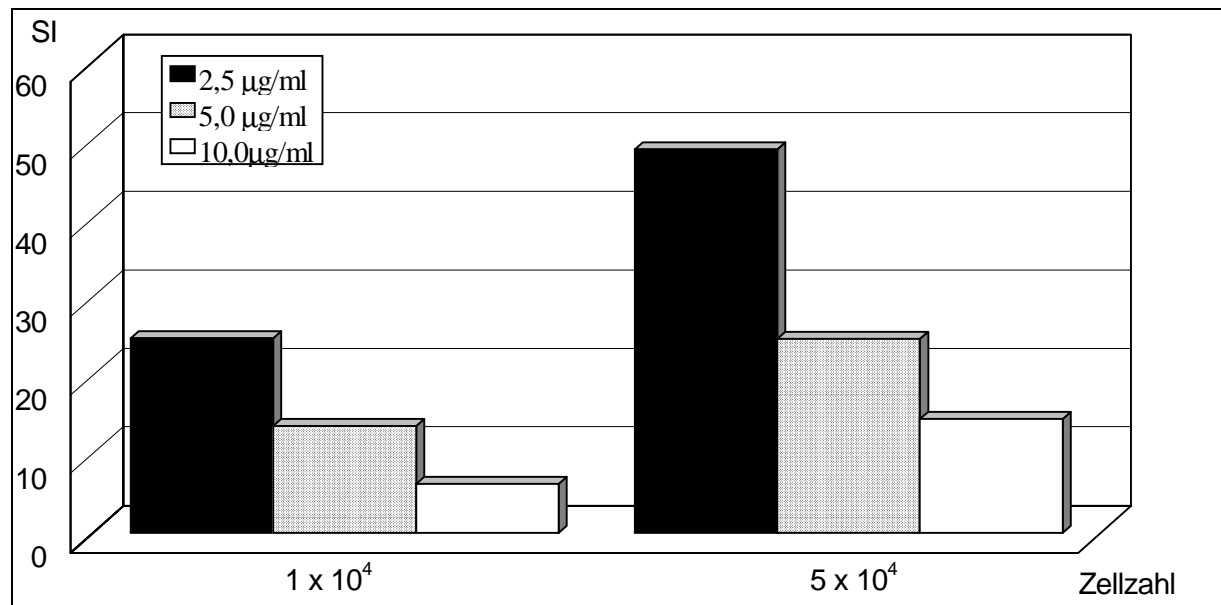
| Zellzahl Con A-Konz. ($\mu\text{g/ml}$) | 1×10^4 | | | 5×10^4 | | |
|---|-----------------|------|------|-----------------|------|------|
| | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| Tier Nr. 1 | 2,2 | 2,6 | 4,7 | 19,7 | 23,0 | 25,3 |
| Tier Nr. 2 | 10,2 | 6,8 | 0,1 | 48,7 | 17,5 | 0,2 |
| Tier Nr. 3 | 2,7 | 9,4 | 6,5 | 22,5 | 30,0 | 25,0 |
| Tier Nr. 4 | 20,1 | 4,4 | 0,3 | 1,4 | 38,8 | 0,6 |
| Tier Nr. 5 | 128,0 | 39,8 | 0,5 | 204,0 | 46,5 | 0,7 |
| Tier Nr. 6 | 9,6 | 9,2 | 6,3 | 11,8 | 12,1 | 7,7 |
| Tier Nr. 7 | 11,7 | 11,0 | 4,4 | 46,8 | 48,6 | 38,4 |
| Tier Nr. 8 | 10,6 | 10,6 | 7,2 | 24,9 | 23,2 | 20,2 |
| Tier Nr. 9 | 28,1 | 28,5 | 25,8 | 22,1 | 19,7 | 12,2 |
| \bar{x} | 24,8 | 13,6 | 6,2 | 48,8 | 24,7 | 14,5 |

\bar{x} = Mittelwert

Aus der Tabelle 20 ist ersichtlich, daß bei Verwendung von 5×10^4 Zellen ein generell besserer SI erreicht wird. Ausnahme hiervon ist Tier Nr. 9, es zeigt bei der niedrigeren

Zellzahl höhere Stimulationwerte. Eine maximale mittlere Stimulation findet sich bei 5×10^4 Zellen und $2,5 \mu\text{g/ml}$ Con A, wiewohl einzelne Tiere (Tier Nr. 1, 3, 6, 7) bei Verwendung von $5,0 \mu\text{g/ml}$ Con A einen höheren SI zeigen. Die Mittelwerte der in der Tabelle 20 dargestellten Daten sind in der Abbildung 3 dargestellt.

Abbildung 3: Voruntersuchung, mittlere Stimationsindizes von 9 Katzen bei Einsatz von zwei verschiedenen Zellzahlen und drei Mitogenkonzentrationen



Die Abbildung 3 zeigt, daß der mittlere SI bei Einsatz von 5×10^4 Zellen deutlich höher liegt, als bei Einsatz von 1×10^4 Zellen. Die optimale Con A-Konzentration für 5×10^4 Zellen ist $2,5 \mu\text{g/ml}$ Con A. Insgesamt gesehen sinkt der mittlere Stimationsindex bei gleicher Zellzahl und zunehmender Con A-Konzentration ab.

Für die statistische Auswertung wurden die Daten logarithmiert und eine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren für die Parameter Zellzahl und Con A-Konzentration mit $p < 0,05$ schwach signifikant. Da der Ansatz mit 5×10^4 Zellen und $2,5 \mu\text{g/ml}$ Con A zwar die höchsten Ergebnisse erbrachte, aber immerhin 4 von 9 Tieren mit 5×10^4 Zellen und $5,0 \mu\text{g/ml}$ Con A bessere Stimulationsergebnisse zeigten, wurden in den folgenden Untersuchungen - soweit die Zahl der gewonnenen Lymphozyten des jeweiligen Tieres es erlaubte - beide Con A-Konzentrationen eingesetzt.

Die Auswertung der Proliferationstests in der Hauptuntersuchung folgte einem festen Schema. Jeder Test mußte zunächst in den Proben Con A 2,5 oder Con A 5,0 mit Concanavalin A als

unspezifischem Stimulans einen SI von mindestens 15 aufweisen, um als positiv gewertet werden zu können. Negative Tests wurden in Hinblick auf Stimulation durch spezifisches FHV-1-Antigen nicht weiter ausgewertet. Die Ergebnisse der 15 Kontrolltiere sind im folgenden aufgeführt.

4.1.2.3.3. Lymphozytenproliferationstests von 15 Kontrollkatzen

Als Voraussetzung für die Auswertung der spezifischen Proliferation durch FHV 1 mußte die Stimulation mit dem unspezifischen Mitogen Con A, welches T-Lymphozyten zu maximaler Stimulation anregt, einen minimalen SI von 15 ergeben haben. In der Tabelle 21 ist die Anzahl der positiven Reagenten, d.h. der Testungen wiedergegeben, die diesen SI erreichte oder überschritt. Die in Klammern gesetzten Zahlen geben die Zahl der Tiere an, deren Lymphozyten im jeweiligen Ansatz eingesetzt wurden.

Tabelle 21: Positive Reagenten nach Con A-Stimulation in der Kontrollgruppe

| Gruppe | Stimulationsindex > 15 | | |
|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|
| | 66-Stunden-Ansatz | 114-Stunden-Ansatz | 138-Stunden-Ansatz |
| Kontrolltiere (n = 15) | 15 (15) | 10 (14) | 6 (15) |

In den 15 Tests der Katzen der Kontrollgruppe, die nach **66** Stunden geerntet wurden, lagen die Stimulationsindizes der Con A-Proben aller 15 Katzen (100 %) bei > 15 und konnten somit weiter ausgewertet werden. Der **114**-Stunden-Ansatz konnte nur für 14 von 15 Kontrollkatzen durchgeführt werden, da bei einer Katze nicht genügend Lymphozyten für alle drei Ansätze gewonnen werden konnten. Von diesen erreichten 10 (71,4 %) einen SI > 15. Für den **138**-Stunden-Ansatz standen wieder Lymphozyten aller 15 Katzen zur Verfügung, von denen allerdings nur 6 (40,0 %) einen SI > 15 erreichten. Insgesamt gesehen lagen somit 31 von 44 Tests (70,5 %) oberhalb des minimalen SI von 15,0.

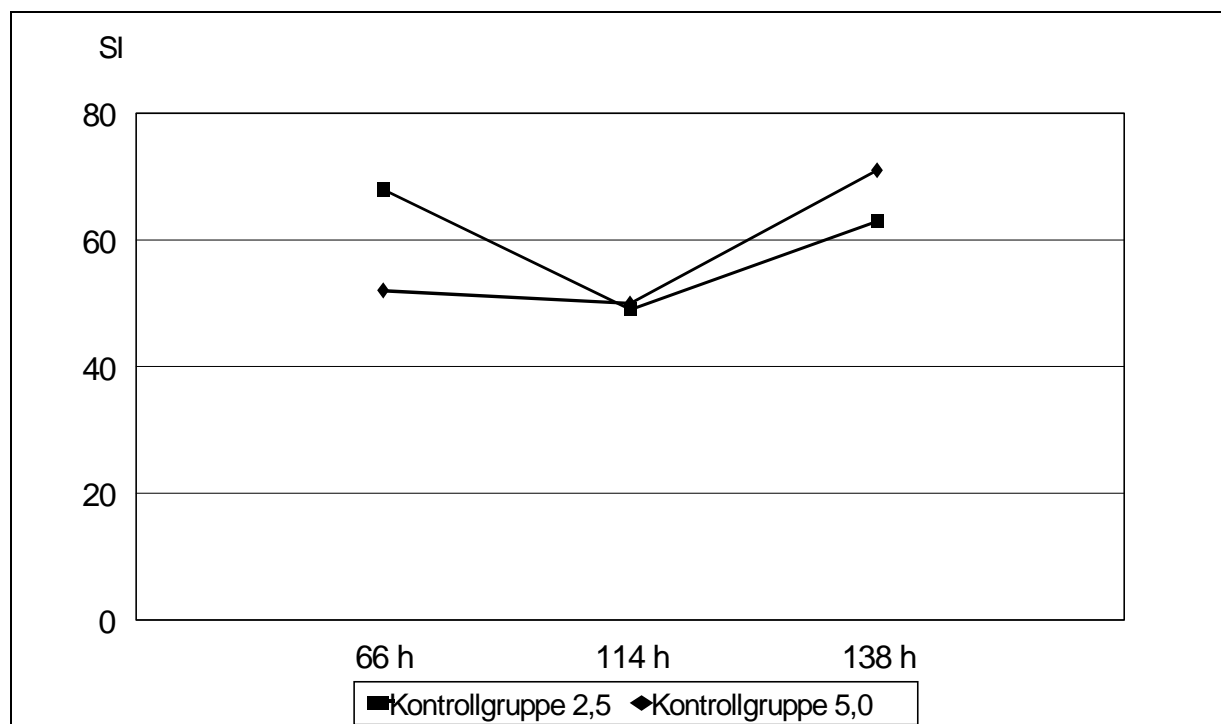
Um zu bestimmen ob auch bei den Kontrolltieren Unterschiede in der Höhe der Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch unterschiedliche Con A-Konzentrationen auftraten, wurden die mittleren Stimulationindizes für beide eingesetzte Con A-Konzentrationen in der Tabelle 22 aufgeführt.

Tabelle 22: Stimulationsindizes der Katzen der Kontrollgruppe nach Stimulation mit zwei verschiedenen Con A-Konzentrationen

| Testansatz | Kontrolltiere | | |
|--------------------|---------------|-------|-------|
| | 66 h | 114 h | 138 h |
| Con A 2,5 µg/ml | 68 | 49 | 63 |
| Con A 5,0 µg/ml | 52 | 50 | 71 |

Wie aus der Tabelle 22 zu ersehen ist, liegt der SI des Con A 2,5-Ansatzes nach 66 Stunden über dem des Ansatzes Con A 5,0. Nach 114 Stunden sind die Werte nahezu gleich. Der Con A 5,0-Wert nach 138 Stunden liegt deutlich über dem 66-Stunden-Ausgangswert, während der Con A 2,5-Wert seinen Ausgangswert nicht überschreitet. Zur besseren Übersicht sind die Daten in der Abbildung 4 dargestellt.

Abbildung 4: Stimulationsindizes der Katzen der Kontrollgruppe nach Stimulation mit 2 verschiedenen Con A-Konzentrationen.



Wie aus der Abbildung 4 zu ersehen, nehmen die beiden Graphen nahezu spiegelverkehrte Verläufe. Die mittleren Stimulationswerte für beide Con A-Konzentrationen lagen in allen drei Ansätzen relativ eng beieinander. Die Probe Con A 5,0 weist zwar einen niedrigeren Ausgangswert als die Probe Con A 2,5 auf, hat diese aber nach 138 Stunden deutlich erkennbar überholt.

Die insgesamt 31 Proben, die in den Con A-Ansätzen den minimalen SI von 15 erreicht haben, werden im folgenden hinsichtlich ihrer Reaktion auf inaktiviertes und virulentes FHV 1 untersucht. Die positiven Reagenten sind in der Tabelle 23 aufgeführt.

Tabelle 23: Positive Stimulationsindizes in der Kontrollgruppe

| Ansatz | Tier-Nr. | FHV -1- Titer | SI bei verschiedenen Inaktivierungsverfahren | | | | | | | |
|--------|----------|---------------------|--|------|----------|------|-------------------|-----|----|-----|
| | | | UV | | Formalin | | Nicht inaktiviert | | | |
| | | | 10 | 50 | 10 | 50 | 1 | 5 | 10 | 50 |
| 66 h | 1 | < 1 : 2 | 6,0 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | < 1 : 2 | - | - | 5,0 | 7,0 | - | - | - | - |
| | 5 | 1 : 32 | - | - | 5,0 | 5,0 | - | - | - | - |
| | 11 | 1 : 8 | 5,0 | - | - | - | - | - | - | - |
| 114 h | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 138 h | 7 | < 1 : 2 | - | 99,0 | 13,0 | 34,0 | - | 4,0 | - | 9,0 |

- = Stimulationsindex (SI) < 4 und/oder nicht mindestens doppelt so hoch wie der SI der Negativkontrolle

Wie aus der Tabelle 23 zu ersehen ist, zeigten im 66-Stunden-Ansatz 4 Katzen positive Stimulationsindizes, die mit Werten von 5,0 bis 7,0 in einem niedrigen Bereich lagen. Diese Katzen reagierten entweder auf UV- oder auf formalininaktiviertes FHV 1, es wurden keine gleichzeitigen Reaktionen auf unterschiedliche Zubereitungen gefunden. Während im 114-Stunden-Ansatz kein positives Ergebnis gemessen wurde, fand sich im 138-Stunden-Ansatz ein positiv reagierendes Tier.

Diese Katze, das Tier mit der Nr. 7, zeigte neben einer Reaktion auf UV- wie auch auf formalininaktiviertes Virus ebenfalls positive Werte nach Stimulation mit virulentem FHV 1. Der SI-Wert der Probe H50_{UV} liegt mit 99 sehr hoch. Die Proben H10_F mit 13 und H50_F mit 34 ergaben ebenso positive Ergebnisse wie auch die Probe H50_{Vir} mit einem SI von 9,0 und H5_{Vir} mit 4,0. Die positiven Werte dieser Katze liegen deutlich über denen der vier Tiere, die im 66 Stunden-Ansatz positiv reagierten. Die übrigen Proben erbrachten keine positiven Stimulationsergebnisse. Drei der fünf Reagenten wiesen negative FHV-1-Neutralisationstiter auf, während Katze Nr. 5 einen Titer von 1 : 32 und Katze Nr. 11 einen von 1 : 8 zeigte.

4.2. Ergebnisse der Untersuchungen an 30 Patiententieren

4.2.1. Klinische Untersuchungen

Anhand der klinischen Erkrankungssymptome, die die Tiere zum Zeitpunkt der Untersuchung zeigten, wurden sie in verschiedenen Erkrankungsstadien eingeteilt:

- ⇒ **Krankheitsgrad 1** (Gruppe 1): Tiere hatten früher bereits Symptome eines Katzenschnupfens, z. Zt. aber keine klinischen Krankheitssymptome
- ⇒ **Krankheitsgrad 2** (Gruppe 2): Katzen zeigen leichte Symptome, wie ab und zu Niesen, serösen Nasen- und/oder Augenausfluß
- ⇒ **Krankheitsgrad 3** (Gruppe 3): Tiere zeigen schwerer wiegende Symptomatik, wie Apathie und/oder Anorexie, häufiges Niesen mit eitrigem Nasen- und/oder Augenausfluß und ggf. weitere Krankheitssymptome

Entsprechend ihrer Zugehörigkeit zu einer der drei Krankheitsgruppen sind in der **Tabelle 24** die 30 Patientenkatten unter Angabe von Rasse, Geschlecht und Alter aufgeführt.

Insgesamt konnten 7 Katzen ohne akute Krankheitssymptome der Gruppe 1 zugeordnet werden. In die Gruppe 2 fielen 11 Tiere, die unter klinischen Symptomen wie serösem Nasen- und/oder Augenausfluß und Niesen litten. Weitere 12 Tiere zeigten schwerer wiegende Symptome, wie eitrigem Nasen- und/oder Augenausfluß, Fieber und Anorexie. Sie wurden der Gruppe 3 zugeteilt.

Tabelle 24: Gruppenzugehörigkeit der 30 Patientenkatten

| Tier.-Nr. | Gruppe | Rasse | Geschlecht | Alter (Jahre) |
|-----------|--------|-------|------------|---------------|
| 30 | 1 | EKH | mk | 1 |
| 20 | 1 | EKH | mk | 2 |
| 25 | 1 | EKH | mk | 4 |
| 29 | 1 | EKH | wk | 7 |
| 3 | 1 | EKH | wk | 8 |
| 1 | 1 | EKH | mk | 13 |
| 28 | 1 | EKH | wk | 13 |
| 15 | 2 | EKH | mk | 3 |
| 24 | 2 | EKH | wk | 4 |
| 8 | 2 | EKH | mk | 6 |
| 22 | 2 | EKH | mk | 6 |
| 2 | 2 | EKH | wk | 7 |
| 16 | 2 | EKH | wk | 7 |
| 27 | 2 | EKH | wk | 7 |
| 6 | 2 | EKH | mk | 9 |
| 10 | 2 | EKH | wk | 11 |
| 13 | 2 | EKH | wk | 12 |
| 26 | 2 | EKH | mk | 13 |
| 5 | 3 | EKH | mk | 1 |
| 7 | 3 | EKH | mk | 1 |
| 14 | 3 | EKH | mk | 1 |
| 12 | 3 | EKH | mk | 3 |
| 21 | 3 | EKH | mk | 5 |
| 11 | 3 | EKH | mk | 6 |
| 19 | 3 | EKH | wk | 6 |
| 23 | 3 | EKH | wk | 6 |
| 4 | 3 | EKH | mk | 7 |
| 9 | 3 | EKH | wk | 7 |
| 18 | 3 | EKH | wk | 7 |
| 17 | 3 | EKH | wk | 4 |

Wie weiterhin aus der Tabelle 24 ersichtlich, liegt die Anzahl männlich-kastrierter Tiere (mk) in der Gruppe 1 bei 57,1 %, Gruppe 2 bei 45,5 % und Gruppe 3 bei 58 %. Alle übrigen Tiere waren weiblich und kastriert (wk). Das Durchschnittsalter der Tiere in Gruppe 1 liegt bei 6,8 Jahren, in Gruppe 2 bei 7,7 Jahren und in der Gruppe 3, die die zur Zeit am schwersten kranken Tiere beinhaltet, bei 4,5 Jahren.

4.2.2. Laboruntersuchungen an den 30 Patiententieren

4.2.2.1. Hämatologische Untersuchungen

4.2.2.1.1. Rotes Blutbild

In der Tabelle 25 finden sich die Erythrozytenzahlen sowie die Hämatokrit- und Hämoglobinwerte der 30 Patienten.

Tabelle 25: Rotes Blutbild der Patientenkatten

| Tier Nr. | Krankheitsgrad | Erythrozyten ($\times 5,0 - 10,0$ $\times 10^{12} / l$) | Hämatokrit ($\times 0,25 - 0,45 l / l$) | Hämoglobin ($\times 5,0 - 10,6 \text{ mmol} / l$) |
|---------------|----------------|---|--|--|
| 1 | 1 | 10,0 | 0,41 | 8,1 |
| 2 | 2 | 7,7 | 0,37 | 7,8 |
| 3 | 1 | 9,0 | 0,40 | 8,3 |
| 4 | 3 | 10,8 | 0,36 | 8,9 |
| 5 | 3 | 8,3 | 0,40 | 9,1 |
| 6 | 2 | 10,0 | 0,44 | 8,3 |
| 7 | 3 | 9,7 | 0,47 | 8,8 |
| 8 | 2 | 9,5 | 0,38 | 8,8 |
| 9 | 3 | 8,8 | 0,37 | 7,8 |
| 10 | 2 | 10,6 | 0,41 | 8,0 |
| 11 | 3 | 10,9 | 0,40 | 8,5 |
| 12 | 3 | 11,2 | 0,43 | 9,6 |
| 13 | 2 | 8,5 | 0,36 | 7,6 |
| 14 | 3 | 10,6 | 0,30 | 8,5 |
| 15 | 2 | 10,0 | 0,40 | 8,2 |
| 16 | 2 | 8,6 | 0,35 | 7,7 |
| 17 | 3 | 6,6 | 0,32 | 6,7 |
| 18 | 3 | 8,8 | 0,38 | 7,8 |
| 19 | 3 | 10,5 | 0,40 | 8,4 |
| 20 | 1 | 11,2 | 0,43 | 8,5 |
| 21 | 3 | 11,1 | 0,42 | 10,7 |
| 22 | 2 | 9,3 | 0,39 | 8,3 |
| 23 | 3 | 6,8 | 0,29 | 5,5 |
| 24 | 2 | 9,1 | 0,47 | 8,4 |
| 25 | 1 | 10,7 | 0,40 | 9,0 |
| 26 | 2 | 8,4 | 0,34 | 6,2 |
| 27 | 2 | 8,1 | 0,34 | 7,2 |
| 28 | 1 | 7,4 | 0,35 | 6,0 |
| 29 | 1 | 10,5 | 0,45 | 9,7 |
| 30 | 1 | 10,5 | 0,42 | 8,4 |
| \bar{x} | | 9,5 | 0,40 | 8,2 |
| s | | 1,3 | 0,04 | 1,0 |
| $\bar{x} + s$ | | 10,8 | 0,44 | 9,2 |
| $\bar{x} - s$ | | 8,2 | 0,36 | 7,2 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere,
 \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Aus der Tabelle 25 ist ersichtlich, daß die mittleren Erythrozytenzahlen wie auch der Hämatokrit und der Hämoglobinwert im Referenzbereich lagen. Auch die getrennte Auswertung der einzelnen Krankheitsgruppen erbrachte keine Abweichungen vom Normalen, so daß auf ihre Darstellung verzichtet wurde.

4.2.2.1.2. Weißes Blutbild

In der nun folgenden Tabelle 26 sind die Leukozytenzahlen der Patientenkatten sowie ihre Verteilung nach Differenzierung dargestellt.

Tabelle 26: Leukozytenzahlen und -verteilung von 30 Patiententieren, Gesamtübersicht

| Tier Nr. | Krankheits- grad | Leukozyten (^x 6,0 – 11,0 x 10 ⁹ / l) | Lymphozyten (^x 15 – 30 %) | Neutrophile Granulozyten (^x 60 – 75 %) | Eosinophile Granulozyten (^x 0 – 4 %) | Monozyten (^x 0 – 5 %) |
|----------|---------------------|---|--|--|--|--------------------------------------|
| 1 | 1 | 13,6 | 19 | 74 | 5 | 2 |
| 2 | 2 | 8,6 | 39 | 53 | 8 | 0 |
| 3 | 1 | 20,8 | 60 | 36 | 3 | 1 |
| 4 | 3 | 15,4 | 32 | 55 | 9 | 1 |
| 5 | 3 | 7,6 | 26 | 68 | 6 | 0 |
| 6 | 2 | 27,5 | 57 | 41 | 0 | 2 |
| 7 | 3 | 17,8 | 82 | 17 | 0 | 1 |
| 8 | 2 | 10,6 | 38 | 60 | 1 | 1 |
| 9 | 3 | 11,6 | 29 | 57 | 2 | 2 |
| 10 | 2 | 9,8 | 72 | 23 | 4 | 1 |
| 11 | 3 | 11,3 | 57 | 38 | 0 | 5 |
| 12 | 3 | 15,6 | 98 | 0 | 1 | 1 |
| 13 | 2 | 10,9 | 10 | 85 | 3 | 2 |
| 14 | 3 | 17,5 | 56 | 39 | 2 | 3 |
| 15 | 2 | 18,9 | 94 | 5 | 1 | 0 |
| 16 | 2 | 12,0 | 44 | 49 | 2 | 5 |
| 17 | 3 | 19,4 | 16 | 78 | 3 | 3 |
| 18 | 3 | 11,3 | 83 | 16 | 0 | 1 |
| 19 | 3 | 20,0 | 28 | 68 | 3 | 1 |
| 20 | 1 | 12,1 | 26 | 69 | 4 | 1 |
| 21 | 3 | 7,1 | 13 | 79 | 6 | 1 |
| 22 | 2 | 14,9 | 11 | 87 | 2 | 0 |
| 23 | 3 | 25,5 | 13 | 82 | 4 | 0 |
| 24 | 2 | 17,4 | 60 | 37 | 2 | 1 |
| 25 | 1 | 16,0 | 60 | 34 | 3 | 3 |
| 26 | 2 | 27,1 | 12 | 78 | 6 | 4 |
| 27 | 2 | 14,0 | 42 | 51 | 7 | 0 |
| 28 | 1 | 16,0 | 15 | 80 | 1 | 4 |
| 29 | 1 | 6,6 | 31 | 67 | 0 | 2 |
| 30 | 1 | 13,7 | 40 | 52 | 4 | 4 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere

Wie aus der Tabelle 26 zu ersehen, liegen die Leukozytenzahlen einiger Tiere deutlich oberhalb des Referenzbereichs und auch ihre Differenzierung zeigt Veränderungen. Die Leukozytenzahlen und Differentialblutbilder der Einzeltiere der Gruppen 1 bis 3 sind in der Tabelle 43 bis Tabelle 45 im Anhang aufgeführt.

Für die statistische Analyse wurden die Daten für die Parameter Leukozyten, Lymphozyten, Stabkernige und Eosinophile Granulozyten sowie Monozyten logarithmiert, da hier eine rechtsschiefe Datenverteilung vorlag. Anschließend wurde der geometrische Mittelwert sowie der Streufaktor jeder Gruppe ermittelt und die Daten in der Tabelle 27 wiedergegeben. Die Werte der Neutrophilen Granulozyten wurden nicht logarithmiert, hier sind Mittelwert und Standardabweichung in der Tabelle 27 angegeben. Zur besseren Übersicht und Auswertung der Ergebnisse sind die Daten der Kontrollgruppe ebenfalls mit aufgeführt.

Tabelle 27: Geometrische Mittelwerte \pm Streufaktoren ($\bar{x}_g \pm SF$) der Leukozytenzahlen und des Differentialblutbilds der Kontrollkatzen sowie der Gruppen 1 - 3

| Gruppe | Leukozyten ($\bar{x}_g \pm SF$) | Lymphozyten ($\bar{x}_g \pm SF$) | Neutrophile Granulozyten ($\bar{x} \pm s$) | Eosinophile Granulozyten ($\bar{x}_g \pm SF$) | Monozyten ($\bar{x}_g \pm SF$) |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|-------------------------------------|
| Kontroll- gruppe | 8,64 \pm 1,61 | 42,7 \pm 1,34 | 53,1 \pm 14,8 | 5,21 \pm 1,90 | 1,26 \pm 2,32 |
| Gruppe 1 | 14,22 \pm 1,45 | 31,84 \pm 1,71 | 58,8 \pm 17,0 | 1,92 \pm 2,15 | 1,69 \pm 2,48 |
| Gruppe 2 | 14,48 \pm 1,48 | 34,51 \pm 2,19 | 51,7 \pm 24,2 | 2,42 \pm 2,43 | 0,93 \pm 2,06 |
| Gruppe 3 | 14,06 \pm 1,48 | 35,39 \pm 2,06 | 49,7 \pm 26,4 | 2,06 \pm 2,80 | 1,29 \pm 2,05 |

\bar{x}_g = geometrischer Mittelwert, s = Standardabweichung, SF = Streufaktor

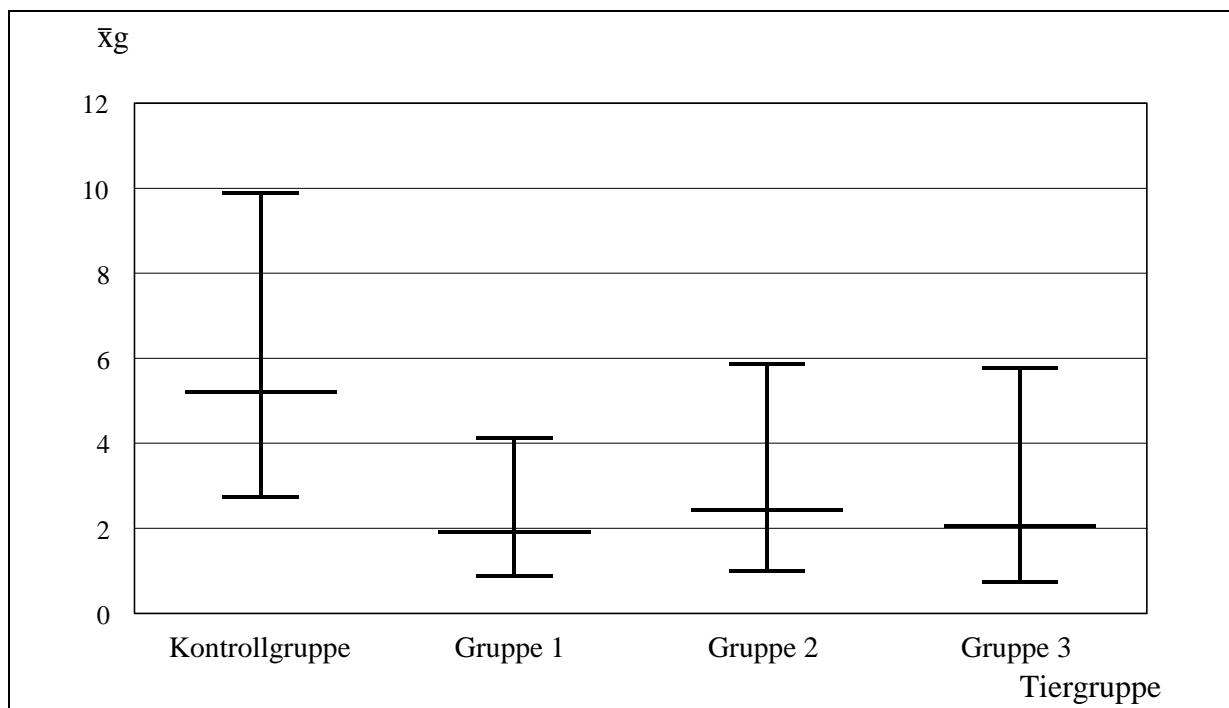
Wie aus der Tabelle 27 zu ersehen, liegen die mittleren Leukozytenzahlen aller Patienten deutlich über denen der Kontrolltiere. Die durchschnittlich höchsten Werte wurden bei den Katzen der Gruppe 2 gefunden, gefolgt von denen der Gruppe 1 und der Gruppe 3. Der Unterschied zwischen der Gruppe 1 und der Kontrollgruppe war mit $p < 0,01$ signifikant und zwischen den Gruppen 2 und 3 und der Kontrollgruppe jeweils mit $p < 0,05$ schwach signifikant.

Die Mittelwerte der Lymphozyten aller Gruppen finden sich oberhalb, diejenigen der Neutrophilen Granulozyten unterhalb des Referenzbereichs der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I, während die mittlere Monozytenzahl aller Gruppen im

Referenzbereich liegt. Die statistische Auswertung der Daten ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen für die Parameter Lymphozyten, Neutrophile Granulozyten und Monozyten.

Die Werte der Eosinophilen Granulozyten der Kontrollgruppe sind deutlich über denen der Gruppe 2 angesiedelt, deren Werte noch etwas höher liegen als jene der Gruppen 1 und 3. Die Daten zu den Eosinophilen Granulozyten sind in der Abbildung 5 dargestellt.

Abbildung 5: Geometrische Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) der Eosinophilen Granulozyten der Kontrolltiere sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent



\bar{x}_g = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor

Wie aus der Abbildung 5 erkennbar, liegen die Eosinophilen Granulozyten der Kontrollkatzen deutlich über denen aller anderen Gruppen. Die statistische Auswertung ergab für die Gruppe 2 keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der Kontrollgruppe, für die Gruppen 1 wurden mit $p < 0,05$ schwach signifikante und in der Gruppe 3 mit $p < 0,01$ signifikante Unterschiede festgestellt.

4.2.2.1.3. Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil der 30 Patiententiere

Die Gesamteiweißkonzentration, der Serumalbumin- sowie der Globulinanteil der 30 Patiententiere wurden wie im Abschnitt 3.2.3.3. beschrieben bestimmt. Die Einzelwerte aller Tiere sind in der Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: Gesamteiweißkonzentration, Serumalbumin- und -globulinanteil von 30 Patienten

| Tier Nr. | Krankheitsgrad | Gesamteiweiß (^x 60 - 80 g/l) | Albumin (^x 21 - 33 g/l) | Globuline (g/l) |
|---------------|----------------|---|--|--------------------|
| 1 | 1 | 91,4 | 27,0 | 65,4 |
| 2 | 2 | 86,1 | 24,9 | 61,2 |
| 3 | 1 | 83,1 | 33,5 | 49,6 |
| 4 | 3 | 85,0 | 29,2 | 55,8 |
| 5 | 3 | 74,8 | 28,3 | 46,5 |
| 6 | 2 | 83,5 | 30,4 | 53,1 |
| 7 | 3 | 74,6 | 32,4 | 42,2 |
| 8 | 2 | 81,3 | 24,8 | 56,5 |
| 9 | 3 | 77,1 | 31,7 | 45,4 |
| 10 | 2 | 72,9 | 29,5 | 42,5 |
| 11 | 3 | 72,6 | 31,1 | 41,5 |
| 12 | 3 | 72,3 | 29,0 | 43,3 |
| 13 | 2 | 92,7 | 25,5 | 67,2 |
| 14 | 3 | 75,2 | 29,4 | 45,8 |
| 15 | 2 | 66,9 | 33,7 | 33,2 |
| 16 | 2 | 73,7 | 34,8 | 39,7 |
| 17 | 3 | 75,2 | 26,3 | 48,9 |
| 18 | 3 | 87,4 | 28,2 | 59,2 |
| 19 | 3 | 77,6 | 24,8 | 52,8 |
| 20 | 1 | 80,7 | 30,5 | 50,2 |
| 21 | 3 | 84,7 | 30,9 | 53,8 |
| 22 | 2 | 89,3 | 26,9 | 62,4 |
| 23 | 3 | 82,9 | 26,9 | 56 |
| 24 | 2 | 62,8 | 28,3 | 34,5 |
| 25 | 1 | 79,5 | 31,9 | 47,6 |
| 26 | 2 | 67,1 | 27,4 | 39,7 |
| 27 | 2 | 87,8 | 26,7 | 61,1 |
| 28 | 1 | 78,6 | 24,9 | 53,7 |
| 29 | 1 | 81,3 | 29,4 | 51,9 |
| 30 | 1 | 80,0 | 29,6 | 50,4 |
| \bar{x} | | 79,2 | 28,9 | 50,3 |
| s | | 7,2 | 2,7 | 8,6 |
| $\bar{x} + s$ | | 86,4 | 31,6 | 58,9 |
| $\bar{x} - s$ | | 72,0 | 26,2 | 41,7 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere,
 \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Die mittlere Gesamteiweißkonzentration im Serum plus der einfachen Standardabweichung ist bei den Patienten nur geringgradig gegenüber dem Referenzbereich erhöht, während bei den Globulinen, die bis zu 50 % der Gesamteiweißkonzentration ausmachen dürfen, eine deutliche Erhöhung auffällt. Zur besseren Übersicht sind in der Tabelle 29 die Globuline aller Gruppen einander gegenüber gestellt.

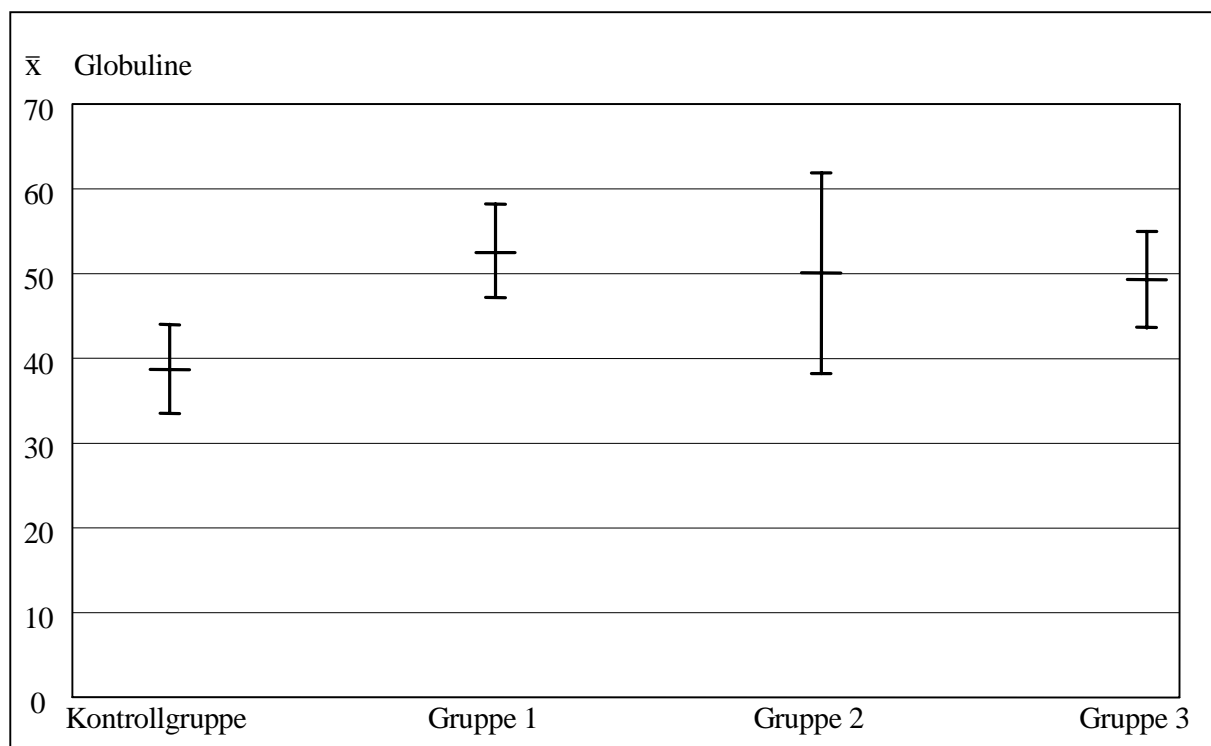
Tabelle 29: Vergleich der Kontrolltiere und der drei Patientengruppen in Hinblick auf den Globulinanteil im Blutserum

| Probanden | Einheit | Globuline | | | |
|---------------|---------|-----------|------|---------------|---------------|
| | | \bar{x} | s | $\bar{x} + s$ | $\bar{x} - s$ |
| Kontrolltiere | g/l | 38,7 | 5,2 | 44,0 | 33,5 |
| Gruppe 1 | g/l | 52,7 | 5,5 | 58,2 | 47,2 |
| Gruppe 2 | g/l | 50,1 | 11,8 | 61,9 | 38,2 |
| Gruppe 3 | g/l | 49,3 | 5,7 | 55,0 | 43,6 |

\bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

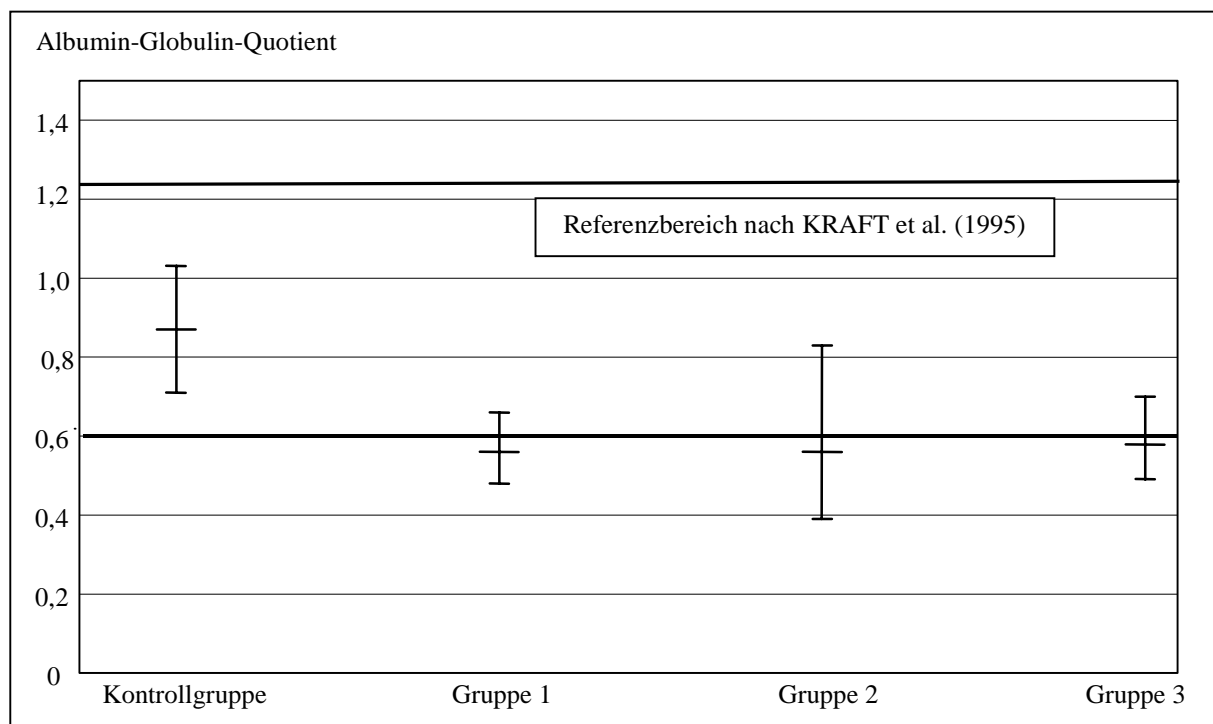
Wie aus der Tabelle 29 hervorgeht, zeigen alle drei Patientengruppen deutliche Erhöhungen der Globulinanteile gegenüber den Kontrolltieren. Zur besseren Übersicht sind die Daten der Tabelle 29 in der Abbildung 6 dargestellt.

Abbildung 6: Mittlere Serumglobulinanteile ($\bar{x} \pm s$) der Kontrolltiere sowie der Patientengruppen 1 - 3



In der Abbildung 6 fällt die deutliche Erhöhung der gemittelten Serumglobulinanteile aller drei Patientengruppen gegenüber der Kontrollgruppe besonders deutlich ins Auge. Mit steigendem Krankheitsgrad besteht eine Tendenz zum Absinken der mittleren Globulinwerte, wobei aber die Standardabweichung vor allem der Gruppe 2 relativ hoch ist. Aufgrund der bekannten Schwankungen der absoluten Zahlen des Serumalbumin- und des Globulinanteils sind in der Abbildung 7 die mittleren Albumin-Globulin-Quotienten aller Gruppen gegeneinander aufgetragen. Die Gegenüberstellung der mittleren Globulinwerte und der zugehörigen Serumalbuminkonzentrationen der einzelnen Gruppen sowie die Berechnung der Albumin-Globulin-Quotienten der Gruppen 1 – 3, die als Grundlage für diese Abbildung dienen, finden sich in der Tabelle 46 im Anhang.

Abbildung 7: Mittlere Albumin-Globulin-Quotienten ($\bar{x} \pm s$) der Kontrollgruppe sowie der Patientengruppen 1 - 3



Aus der Abbildung 7 ist erkennbar, daß der mittlere Albumin-Globulin-Quotient der Kontrolltiere mit 0,85 in dem von KRAFT et al. (1995) angegebenen Referenzbereich von 0,6 - 1,23 liegt, während die Quotienten der Katzen der Gruppen 1 - 3 deutliche Erniedrigungen aufweisen.

4.2.2.2. Serologische Untersuchungen

Im folgenden werden die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen auf neutralisierende Serumantikörper gegen das FHV 1, den Nachweis von FeLV-Antigen und/oder FIV-Antikörpern und die Bestimmung der FCoV-Titer bei 30 Patientenkatten dargestellt.

4.2.2.2.1. Untersuchungen auf FeLV und FIV

Die Untersuchungen der Patientenkatten auf das FeLV-Antigen sowie FIV-Antikörper mit Hilfe des Snap-Tests erbrachten die in der Tabelle 30 dargestellten Ergebnisse.

Tabelle 30: Untersuchungen auf das Feline Leukosevirus (FeLV) und das Feline Immundefizienzvirus (FIV) bei 30 Patiententieren

| Infektionserkrankung | Krankheitsgrad 1 (n = 7) | Krankheitsgrad 2 (n = 11) | Krankheitsgrad 3 (n = 12) |
|----------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| FeLV abs. | 0 | 1 | 2 |
| FeLV % | 0 | 9,1 | 16,7 |
| FIV abs. | 0 | 0 | 1 |
| FIV % | 0 | 0 | 8,3 |

Aus der Tabelle 30 läßt sich ersehen, daß alle 7 Patienten der Gruppe 1 im Snap-Test FeLV- und FIV-negativ waren. Unter den Patientenkatten der Gruppe 2 erwies sich 1/11 Tieren (9,1 %) als FeLV-positiv, in Gruppe 3 waren 2/12 Katzen (16,7 %) FeLV-infiziert. Diese positiven Befunde im Snap-Test wurden durch immunzytologische Untersuchungen von Blutaussstrichen im Institut für Veterinärpathologie der Justus-Liebig-Universität (Leiter: Prof. Dr. M. Reinacher) verifiziert.

Eine FIV Infektion wurde lediglich bei einem Tier in der Gruppe 3 (8,3 %) festgestellt, Doppelinfektionen kamen nicht vor.

Die wahre Häufigkeit der FeLV- und auch der FIV-Infektionen errechnet sich aus der Gesamtzahl der zusammen lebenden Tiere. Da alle 30 Tiere zusammen in einem Bestand gehalten werden, liegt die FeLV-Häufigkeit im untersuchten Patientengut bei 10 %, die FIV

hat eine Frequenz von 3,3 %. Faßt man die prozentuale Häufigkeit des Vorliegens einer FeLV- oder FIV-Infektion zusammen, so leiden 4/30 Tieren (13,3 %) unter einer zusätzlichen Infektion. Eine statistische Auswertung der Ergebnisse wurde aufgrund der zu geringen Tierzahl der einzelnen Gruppen und der zu geringen Vorkommenshäufigkeit der Ereignisse "FeLV"- oder "FIV"-Infektion nicht durchgeführt.

4.2.2.2. Untersuchungen auf Antikörper gegen feline Coronaviren bei 30 Patientenkatten (FCoV-Titer)

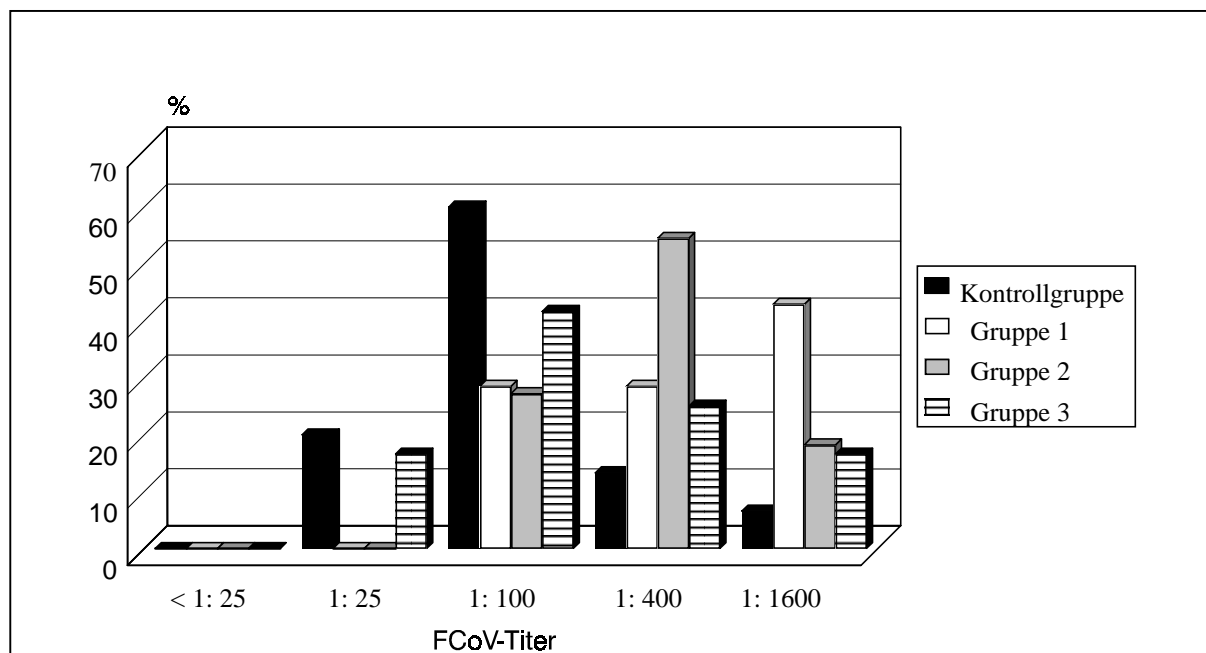
In der Tabelle 31 sind die FCoV-Titer der 30 untersuchten Patientenkatten dargestellt.

Tabelle 31: FCoV-Titer der 30 Patientenkatten

| FCoV-Titer | < 1 : 25 | 1 : 25 | 1 : 100 | 1 : 400 | 1 : 1600 |
|------------|----------|--------|---------|---------|----------|
| abs. | 0 | 2 | 10 | 11 | 7 |
| Tierzahl | | | | | |
| % | 0 | 6,6 | 33,3 | 36,6 | 23,3 |

Aus der Tabelle 31 geht hervor, daß alle 30 Tiere einen positiven Coronavirustiter aufweisen. Betrachtet man die Höhe der Titerstufen, so weisen 36,6 % der Katzen einen Titer von 1 : 400, 33,3 % der Tiere einen Titer von 1 : 100 und 23,3 % einen Titer von 1 : 1600 auf. Nur 6,6 % der Tiere zeigen einen Titer von 1 : 25. Um festzustellen, ob die Höhe des FCoV-Titers in den einzelnen Gruppen Unterschiede aufweist, sind in der Abbildung 8 die Coronavirustiter der einzelnen Krankheitsgruppen einander gegenübergestellt. Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Daten der Kontrolltiere in die Grafik mit eingebunden. Die arithmetischen Mittelwerte der Gruppen sowie die prozentualen Einzelwerte sind in der Tabelle 47 im Anhang zu finden.

Abbildung 8: Prozentuale Verteilung der FCoV-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3



In der Krankheitsgruppe 1, der Gruppe der zur Zeit symptomlosen Katzen, weisen mit 43,0 % die Mehrzahl der Tiere einen Titer von 1 : 1600 auf, jeweils 28,5 % haben einen Titer von 1 : 100 bzw. 1 : 400. In der Gruppe 2, es handelt sich hier um die Katzen mit leichten Katzenschnupfensymptomen, zeigt mit 54,5 % die Mehrzahl der Tiere einen Titer von 1 : 400, es folgt mit 27,2 % ein Titer von 1 : 100, während 18,3 % der Katzen einen Titer von 1 : 1600 aufweisen. Bei den schwer erkrankten Katzen der Gruppe 3 wird der höchste Titer von 1 : 1600 von 16,6 % der Tiere erreicht, 25,0 % der Katzen haben einen Titer von 1 : 400, 41,8 % einen von 1 : 100 und 16,6 % einen von 1 : 25. Die mittleren FCoV-Titer aller Gruppen sind in der Tabelle 32 dargestellt.

Tabelle 32: Mittlere FCoV-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3

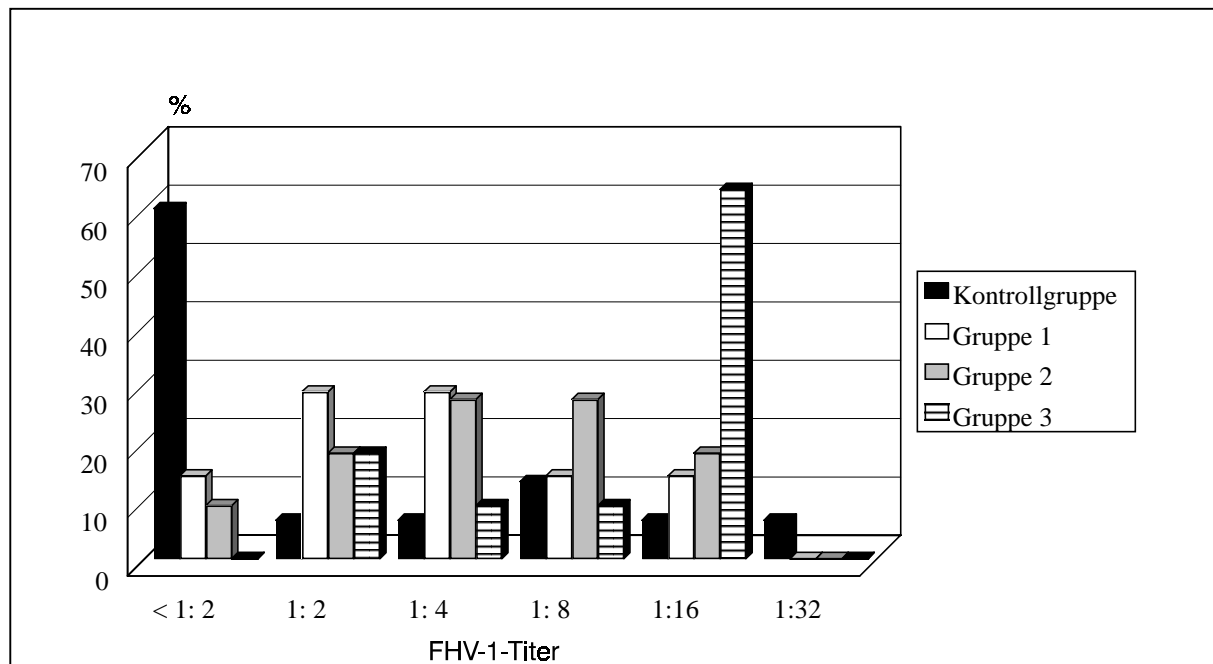
| | Kontrollgruppe | Gruppe 1 | Gruppe 2 | Gruppe 3 |
|-------------------------|----------------|----------|----------|----------|
| Mittelwerte der Gruppen | 2,06 | 3,14 | 2,9 | 2,41 |

Die mittlere Titerhöhe war am größten in der Gruppe 1, gefolgt von der Gruppe 2 und der Gruppe 3. Die niedrigsten Werte wurden in der Kontrollgruppe gefunden. In der statistischen Auswertung mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests erwiesen sich die Unterschiede zwischen den Gruppen mit $p < 0,05$ als schwach signifikant.

4.2.2.2.3. Bestimmung der neutralisierenden Serumantikörper gegen das FHV 1

In der Abbildung 9 sind die prozentualen Anteile der FHV-1-Neutralisationstiter von 29 in der Hauptuntersuchung untersuchten Patientenkatten dargestellt, bei einem Tier reichte die Serummenge zur Titerbestimmung nicht aus. Die Titer der Kontrollkatten sind zur besseren Übersicht noch einmal mit aufgeführt.

Abbildung 9: FHV-1-Neutralisationstiter der Kontrollkatten sowie der Gruppen 1 - 3



Aus der Abbildung 9 läßt sich ersehen, daß mit 60,0 % (9/15) der größte Teil der Katzen der Kontrollgruppe negative Titer besaß. Während 2 Katzen einen Titer von 1 : 8 aufwiesen, wurden die Titerstufen 1 : 2, 1 : 4, 1 : 16 und 1 : 32 bei je einer Katze gefunden.

Von den 7 Tieren der Gruppe 1, die zum Untersuchungszeitpunkt ohne Krankheitssymptome waren, wiesen 4 Tiere (57,1 %) positive Titer zwischen 1 : 4 und 1 : 16 auf, was bedeutet, daß bei 42,9 % (3/7) der asymptomatischen Tiere keine neutralisierenden Antikörper nachzuweisen waren.

In der Gruppe der 11 Tiere mit leichteren Katzenschnupfensymptomen (Krankheitsgrad 2) wiesen ebenfalls 3 Katzen negative Neutralisationstiter auf, die positiven Titer der übrigen 8 Katzen lagen zwischen 1 : 4 und 1 : 16. Damit wurden bei 72,7 % dieser Katzen Antikörper festgestellt.

In der Gruppe 3 konnten 11/12 Katzenserren untersucht werden. Es wurden bei 2 Tieren negative Titer gefunden. Jeweils 1 Tier hatte einen Titer von 1 : 4 bzw. 1 : 8, bei den übrigen 7 Tieren wurde ein Titer von 1 : 16 gefunden. Dies ergibt einen Prozentsatz von insgesamt 81,8 % bei den klinisch schwerer kranken Tieren, die als Träger von Antikörpern anzusehen sind. Insgesamt gesehen wiesen 21 von 29 getesteten Tieren (dies entspricht 72,4 %) positive Serumantikörpertiter gegen das FHV 1 auf. Die absoluten und prozentualen Werte aller Gruppen finden sich noch einmal zusammengefaßt in tabellarischer Form im Anhang (Tabelle 48), während die arithmetisch gemittelten FHV-1-Titer aller Gruppen in der Tabelle 33 dargestellt sind.

Tabelle 33: Mittlere FHV-1-Titer in der Kontrollgruppe und in den Gruppen 1 - 3

| | Kontrollgruppe | Gruppe 1 | Gruppe 2 | Gruppe 3 |
|----------------------------|----------------|----------|----------|----------|
| Mittelwerte der Gruppen | 1,20 | 1,85 | 2,27 | 3,18 |

Aus der Tabelle 33 geht hervor, daß im direkten Vergleich die Mittelwerte in der Gruppe 3 am höchsten lagen. Die Gruppen 2 und 1 folgten in absteigender Reihenfolge, die niedrigsten Werte wurden in der Kontrollgruppe gefunden.

Die statistische Auswertung mittels des Kruskal-Wallis-Tests ergab, daß die Unterschiede zwischen den Gruppen mit $p < 0,05$ statistisch schwach signifikant waren.

4.2.2.3. Immunologische Untersuchungen

4.2.2.3.1. Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen von 30 Patientenkatten

Die Lymphozytensubpopulationen der 30 Patientenkatten sind in der Tabelle 34 als Gesamtübersicht sowohl prozentual als auch in absoluten Zahlen dargestellt.

Tabelle 34: Lymphozytensubpopulationen von 30 Patientenkatten (prozentuale und absolute Werte)

| Parameter | Einheit | \bar{x} | s | $\bar{x} + s$ | $\bar{x} - s$ |
|---------------|-------------------|-----------|------|---------------|---------------|
| Pan T | % | 62,6 | 12,4 | 75,0 | 50,3 |
| | $\times 10^9 / l$ | 3,8 | 2,66 | 6,44 | 1,14 |
| B-Lymphozyten | % | 32,9 | 12,9 | 45,8 | 20,0 |
| | $\times 10^9 / l$ | 2,1 | 1,9 | 4,0 | 0,2 |
| CD4 | % | 25,3 | 7,0 | 32,3 | 18,3 |
| | $\times 10^9 / l$ | 1,5 | 1,02 | 2,52 | 0,48 |
| CD8 | % | 21,2 | 7,6 | 28,8 | 13,6 |
| | $\times 10^9 / l$ | 1,2 | 0,85 | 2,05 | 0,35 |
| CD4 : CD8 | | 1,3 | 0,6 | 1,9 | 0,7 |

\bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Die Gesamtübersicht ergibt eine mittlere T-Lymphozytenzahl der 30 Patienten von $62,6 \pm 12,4$ %. Weiterhin wurden $32,9 \pm 12,9$ % B-Lymphozyten und ein Anteil von $25,3 \pm 7,0$ % CD4-T-Lymphozyten gefunden. Die Zahl der CD8-T-Lymphozyten liegt bei durchschnittlich $21,2 \pm 7,6$ % und der durchschnittliche CD4 : CD8-Quotient bei $1,3 \pm 0,6$. Um festzustellen, ob Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen existieren, erfolgt in der Tabelle 35 eine Gegenüberstellung der Lymphozytensubpopulationen der Kontrollgruppe sowie der 3 Patientengruppen.

Tabelle 35: Gegenüberstellung der Lymphozytensubpopulationen der Kontrollgruppe und der 3 Patientengruppen (prozentuale Darstellung)

| Parameter | % | | | | | | | |
|---------------|----------------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| | Kontrollgruppe | | Gruppe 1 | | Gruppe 2 | | Gruppe 3 | |
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| Pan T | 58,0 | 13,2 | 65,7 | 15,2 | 58,3 | 9,7 | 64,8 | 13,2 |
| B-Lymphozyten | 32,5 | 17,2 | 25,9 | 9,0 | 27,7 | 13,1 | 41,8 | 10,6 |
| CD4 | 28,0 | 9,1 | 25,4 | 6,9 | 20,8 | 4,2 | 29,2 | 6,7 |
| CD8 | 16,5 | 6,1 | 23,7 | 8,6 | 18,3 | 5,1 | 22,2 | 8,9 |
| CD4 : CD8 | 1,8 | 0,7 | 1,3 | 0,7 | 1,2 | 0,3 | 1,5 | 0,7 |

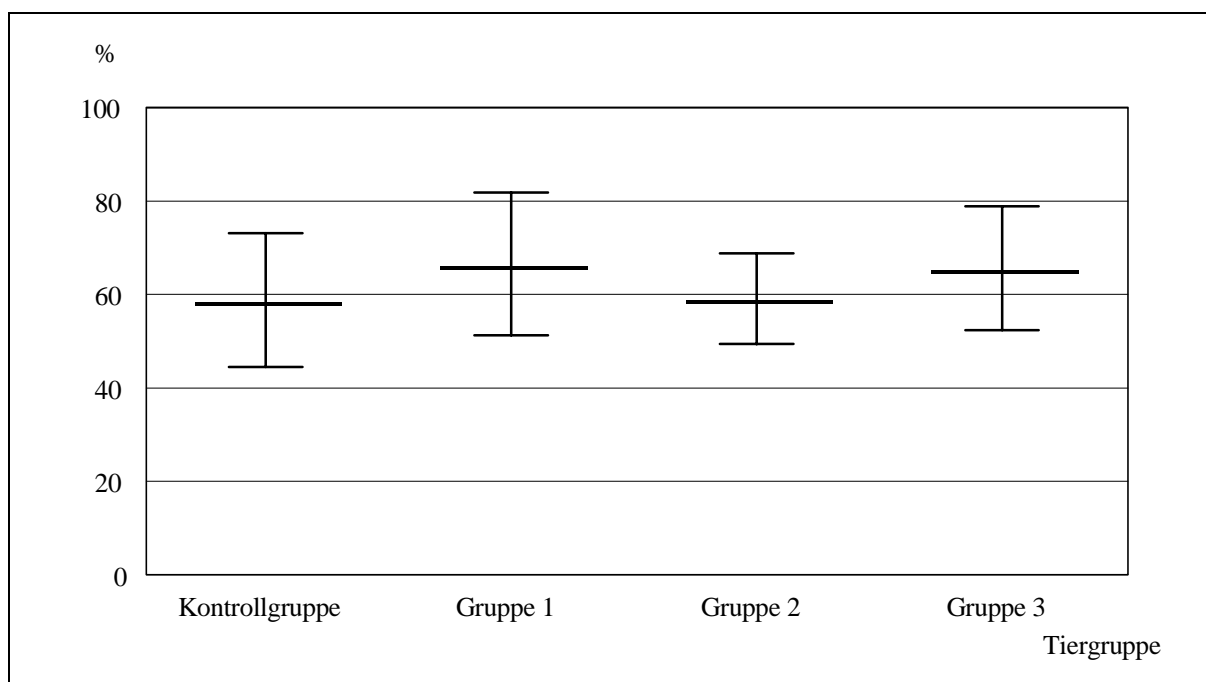
\bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung

Aus der Tabelle 35 ist ersichtlich, daß zwischen einzelnen Subpopulationen der verschiedenen Gruppen Unterschiede bestehen. Zur besseren Übersicht sind auf den nächsten Seiten die Ergebnisse der Bestimmungen der einzelnen Subpopulationen in der Abbildung 10 bis Abbildung 14 vergleichend dargestellt.

4.2.2.3.1.1. Pan T-Lymphozyten

Aus der Tabelle 36 ist zu ersehen, daß der Anteil Pan T markierter Lymphozyten in den Gruppen 1 und 3 nahezu gleich ist und ca. 7 % über den Werten der Katzen der Kontrollgruppe sowie derer der Gruppe 2 liegt. In der Abbildung 10 sind die Mittelwerte \pm der Standardabweichung für die Pan-T-Zellen aufgeführt.

Abbildung 10: Mittelwerte \pm Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der Pan T-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent

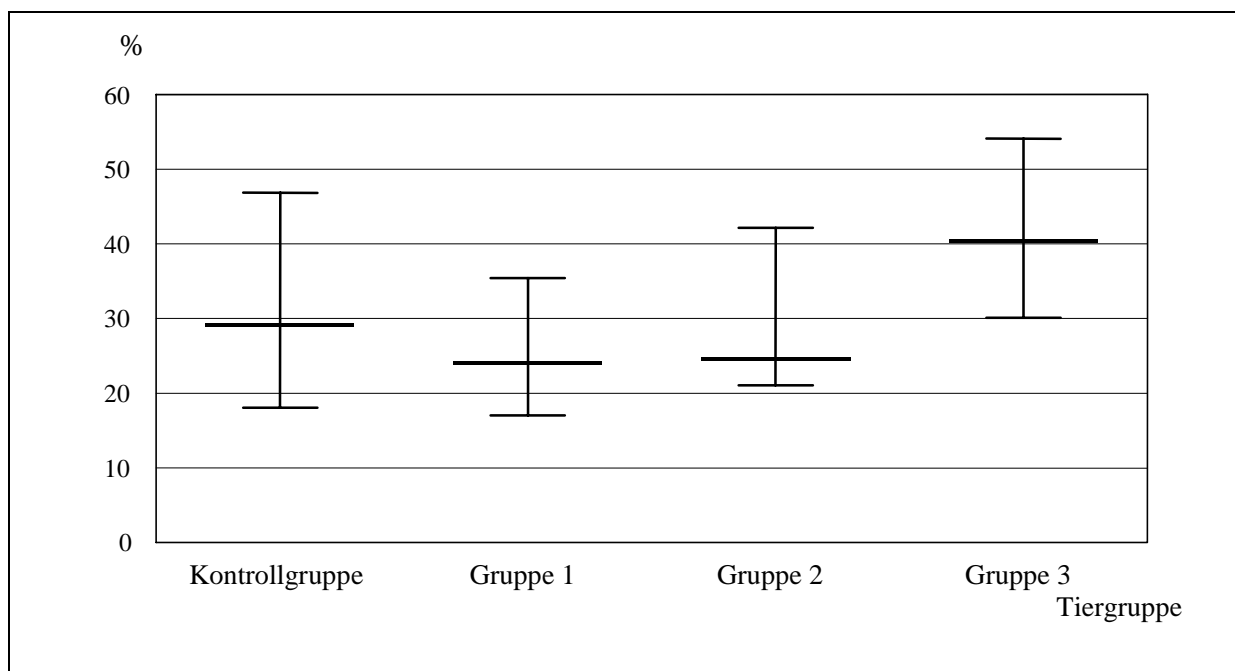


Wie in der Abbildung 10 dargestellt, liegen die Mittelwerte aller 4 Gruppen relativ nahe beieinander, die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede.

4.2.2.3.1.2. B-Lymphozyten

Die B-Lymphozyten der Tiere in der Gruppe 1 unterscheiden sich mit $25,9 \pm 8,4$ % nur geringgradig von denen der Gruppe 2 mit $27,7 \pm 12,5$ %, sie sind aber niedriger als jene der Kontrollgruppe und sogar deutlich niedriger als die 41,8 % B-Lymphozyten der Katzen aus Gruppe 3. In der Abbildung 11 sind die Mittelwerte \pm der Standardabweichung der 4 Gruppen aufgeführt.

Abbildung 11: Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der B-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent



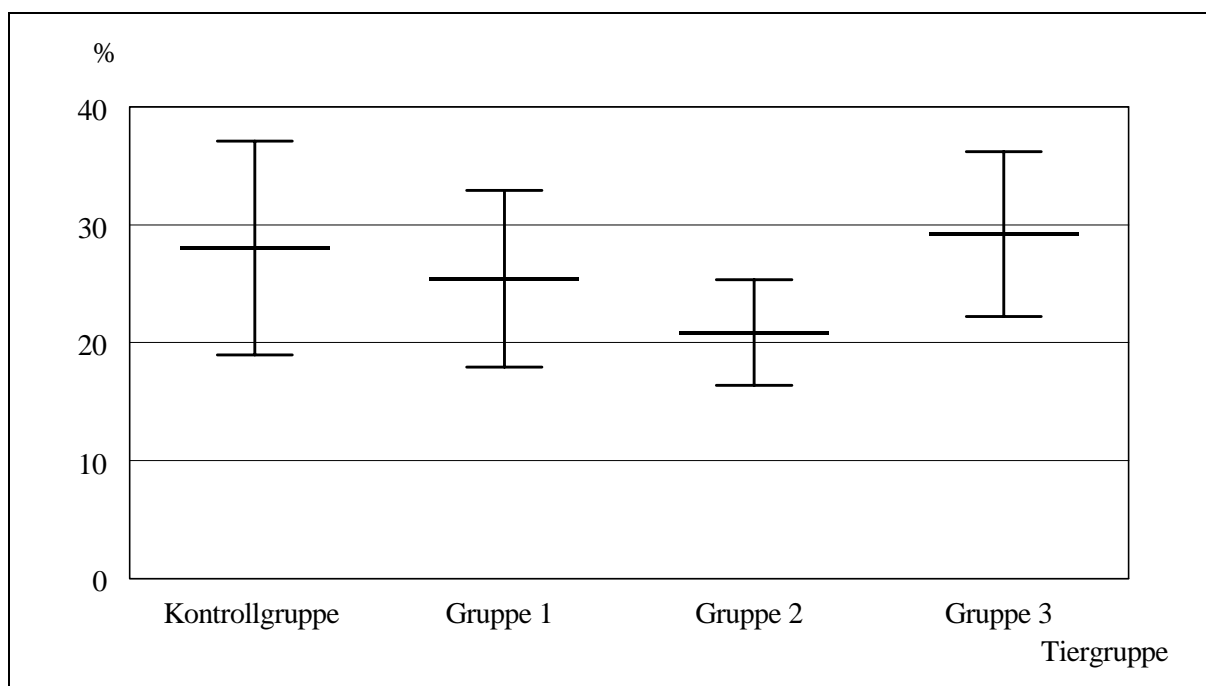
Wie aus der Abbildung 11 ersichtlich, liegen die mittleren B-Lymphozytenwerte der Gruppe 3 deutlich über den Werten aller anderen Gruppen.

Die statistische Auswertung ergab schwach signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ zwischen der Gruppe 2 und 3, zwischen Gruppe 1 und Gruppe 3 waren sie signifikant mit $p < 0,01$.

4.2.2.3.1.3. CD4-Lymphozyten

Die mittleren CD4-Werte der Katzen der Gruppe 3 sind mit 29,2 % gegenüber 27,0 % bei den Kontrollkatzen am höchsten. Die Katzen der Gruppe 1 liegen um 2 % niedriger als die Tiere der Kontrollgruppe, gefolgt von den Katzen der Gruppe 2 die mit 20,8 % die niedrigsten Werte aufweisen. Die Mittelwerte \pm Standardabweichung für alle Gruppen sind in der Abbildung 12 aufgeführt.

Abbildung 12: Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der CD4-Lymphozyten der Kontrollgruppe sowie der Gruppen 1 - 3 in Prozent

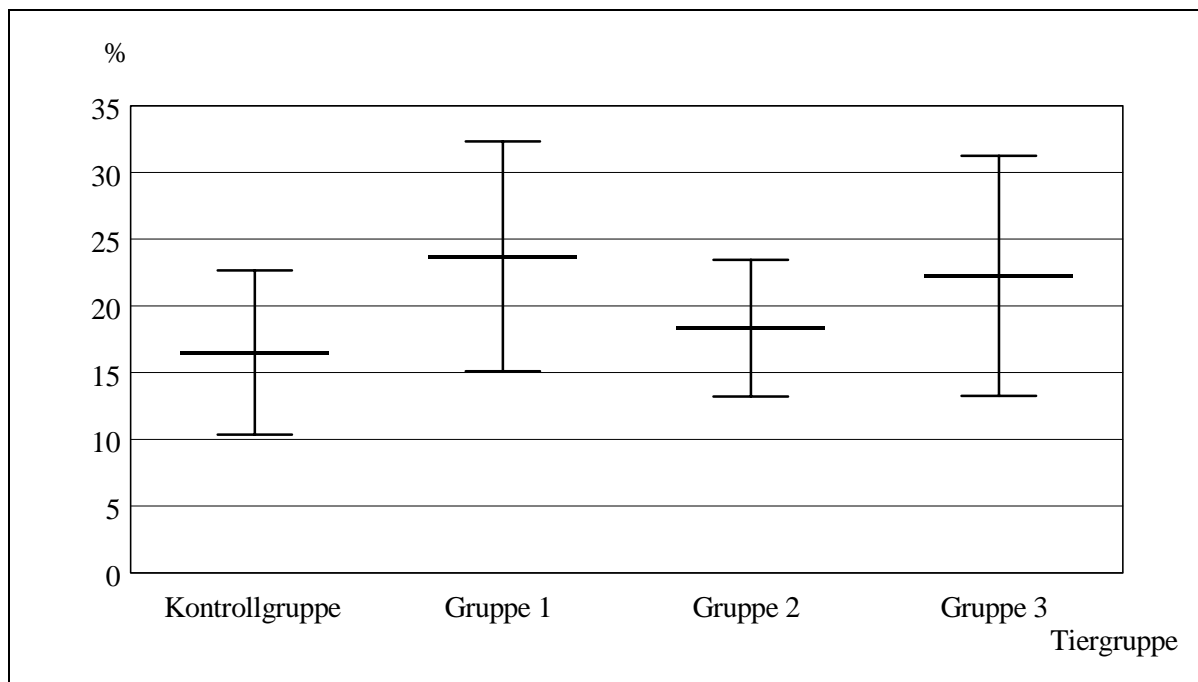


Die mittleren CD4-Werte der Gruppen 1 und 3 unterscheiden sich nur geringgradig von denen der Kontrollgruppe. Die Tiere aus Gruppe 2 hingegen weisen deutlich niedrigere Werte auf. Ihr Unterschied zur Gruppe 3 ist schwach signifikant mit $p < 0,05$ und gegenüber der Kontrollgruppe signifikant mit $p < 0,01$.

4.2.2.3.1.4. CD8-Lymphozyten

In der Gruppe 1 liegt der Anteil der CD8 Zellen mit $23,7 \pm 8,6$ im gleichen Bereich wie jener der Gruppe 3 mit $22,2 \pm 8,9$ %, in den Gruppen 2 sowie der Gruppe der Kontrolltiere liegen die Mittelwerte niedriger. Die Mittelwerte \pm Standardabweichung für alle Gruppen sind in der Abbildung 13 aufgeführt.

Abbildung 13: Mittelwerte \pm Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der CD8-Lymphozyten der Kontrollgruppe und der Gruppen 1 - 3 in Prozent

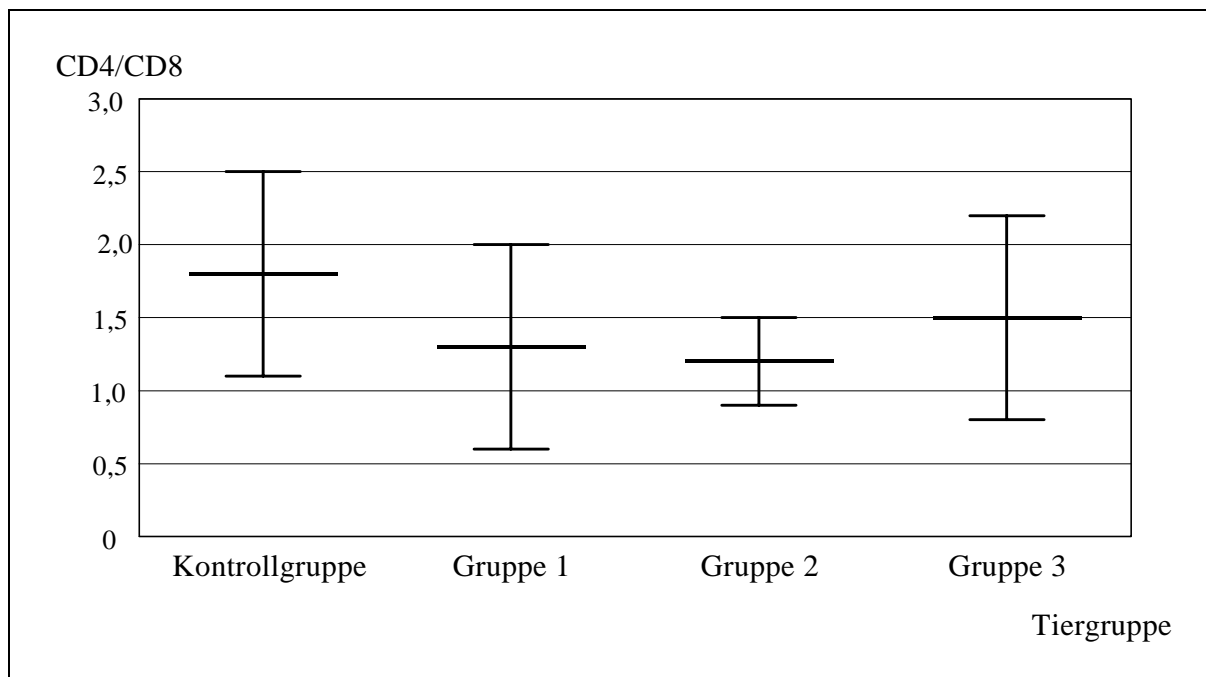


Wie aus der Abbildung 13 ersichtlich ist, unterscheiden sich die Mittelwerte der Gruppen 1 und 3 deutlich von denen der Kontrollgruppe und der Gruppe 2, statistisch signifikante Unterschiede waren jedoch nicht festzustellen.

4.2.2.3.1.5. CD4-CD8-Quotient

Der mittlere CD4-CD8-Quotient ist in der Kontrollgruppe mit 1,8 am höchsten, gefolgt von dem der Gruppe 3 mit 1,5. Die mittleren Quotienten der Gruppen 1 und 2 stellen sich mit 1,3 und 1,2 noch deutlich tiefer dar. Die Mittelwerte \pm Standardabweichung aller 4 Gruppen finden sich in der Abbildung 14.

Abbildung 14: Mittelwerte \pm Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) der CD4-CD8-Quotienten der Kontrollgruppe und der Gruppen 1 - 3 in Prozent



In der Abbildung 14 sind die aus der Tabelle 35 entnommenen Werte der CD4-CD8-Quotienten wiedergegeben. Der mittlere Quotient der Katzen der Gruppe 3 liegt über den ungefähr gleich hohen Mittelwerten der Gruppen 1 und 2, welche sich deutlich unterhalb des Wertes der Kontrollkatzen befinden. Die statistische Aufarbeitung der Daten ergab mit $p < 0,01$ signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe 2 sowie mit $p < 0,05$ schwach signifikante Unterschiede zur Gruppe 1.

Unter dem Punkt 4.2.2.3.1.6. sind die Lymphozytensubpopulationen der 4 Katzen noch einmal gesondert aufgeführt, bei denen eine der Retrovirusinfektionen nachgewiesen wurde.

4.2.2.3.1.6. Lymphozytensubpopulationen der Katzen mit nachgewiesener Retrovirusinfektion

Da im Rahmen dieser Studie nur insgesamt vier FeLV- oder FIV-positive Katzen in den Gruppen 2 und 3 gefunden wurden, sind diese 4 Tiere gesondert in der Tabelle 36 aufgeführt.

Tabelle 36: Lymphozytensubpopulationen der FeLV- oder FIV-infizierten Katzen

| Patienten-Gruppe | Tier-Nr. | Pan T % | B-Zellen % | CD4 % | CD8 % | CD4-CD8-Quotient |
|------------------|-------------------|---------|------------|-------|-------|------------------|
| 2 | 8 ⁽⁺⁾ | 45,8 | 33,5 | 25,3 | 14,3 | 1,8 |
| 3 | 17 ⁽⁺⁾ | 78,7 | 51,9 | 31,8 | 30,7 | 1,0 |
| 3 | 23 ⁽⁺⁾ | 82,5 | 53,2 | 38,8 | 26,9 | 1,4 |
| 3 | 9 ^(*) | 85,5 | 45,9 | 33,6 | 39,3 | 0,9 |

⁽⁺⁾ = FeLV positiv, ^(*) = FIV positiv

Aus der Tabelle 36 ist erkennbar, daß die Lymphozytensubpopulationen der Katze Nr. 8 aus Gruppe 2 etwas über den Mittelwerten ihrer Gruppe liegen. Der CD4-CD8-Quotient dieses Tieres beträgt 1,8, während im Gruppenmittel nur $1,2 \pm 0,3$ zu finden sind, was durch die niedrige mittlere CD4-Zellzahl in der Gruppe bedingt ist.

Unter den 3 Patienten aus der Krankheitsgruppe 3 sind 2 FeLV- sowie ein FIV-positives Tier. Die Pan T-Lymphozyten aller drei Katzen finden sich oberhalb des Gruppenmittelwertes. Auch bei den B- und den CD4-Lymphozyten liegen alle Katzen oberhalb des Mittelwertes ihrer Gruppe, allerdings noch im Rahmen der Standardabweichung. Die CD8-Zellen der Katze Nr. 9, dem einzigen FIV positiven Tier in dieser Studie, waren mit 39,3 % deutlich oberhalb des Gruppenmittels angesiedelt. Da die CD4-Lymphozyten nicht gleichermaßen verändert sind, resultiert eine Erniedrigung des CD4-CD8-Quotienten auf 0,9.

Nachdem auf den letzten Seiten die Ergebnisse der Immunphänotypisierungen der Patientenkatten ausgearbeitet wurden, erfolgt nun die Darstellung der Resultate der Lymphozytenproliferationstests.

4.2.2.3.2. Ergebnisse der Lymphozytenproliferationstests der Hauptuntersuchung

Die Auswertung der Ergebnisse der Stimulationstests erfolgt in zwei Abschnitten. In einem ersten Abschnitt werden die Stimulationsergebnisse aufgearbeitet. Hierunter fallen die Reaktionen der feline Lymphozyten auf Stimulation mit Con A und verschiedenen inaktivierten FHV-1-Zubereitungen sowie nicht inaktiviertem, virulentem FHV 1. In die Auswertung aufgenommen wurden alle Patienten der drei Krankheitsgruppen, deren Zellen nicht apoptotisch wurden.

In einem zweiten Abschnitt sind dann die positiven Reagenten aufgeführt. Diese müssen die folgenden Kriterien erfüllen: ihr SI durch eine der beiden Con A-Konzentrationen muß mindestens bei 15, der SI durch die jeweilige FHV-Zubereitung mindestens bei 4 liegen und dabei mindestens doppelt so hoch sein, wie der SI der Gewebekulturkontrollprobe.

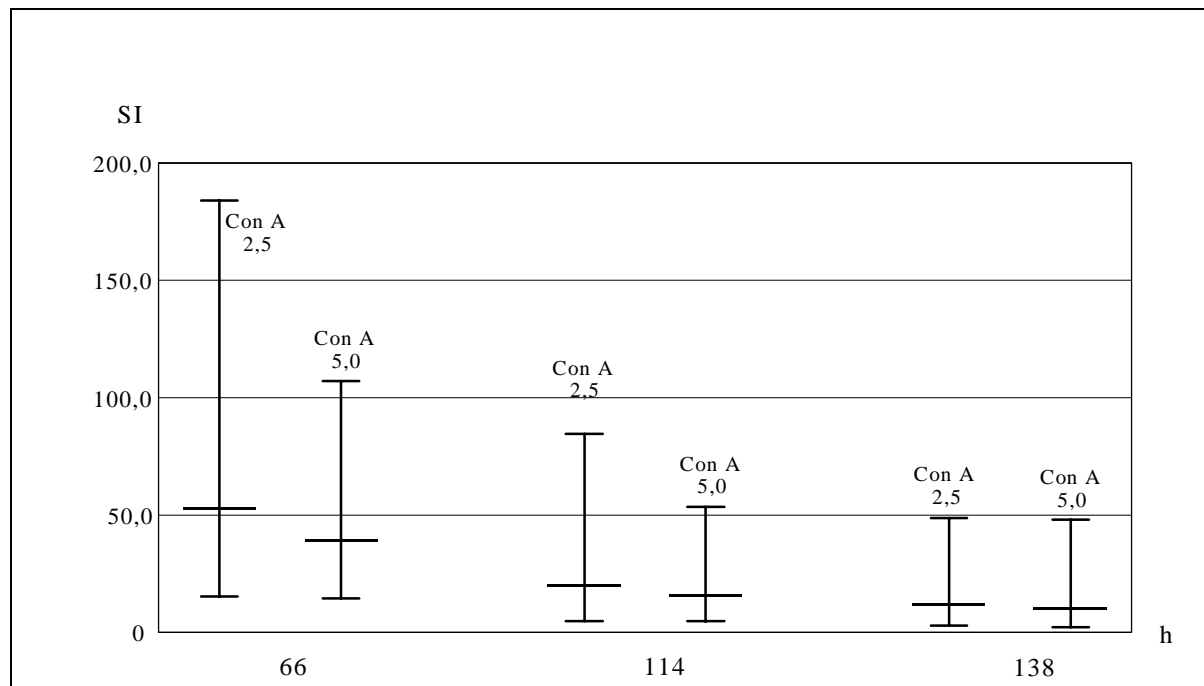
4.2.2.3.2.1. Ergebnisse der Stimulationen mit Con A

In den Proliferationstests der Hauptuntersuchung wurden 2 verschiedene Con A-Konzentrationen eingesetzt, da die im Rahmen der Voruntersuchung durchgeführten Tests mit der niedrigeren Con A-Konzentration zwar statistisch signifikant höhere Werte erbrachten, aber trotzdem 4 von 9 Katzen bessere Stimulationsergebnisse mit den höheren Con A-Konzentrationen aufwiesen.

4.2.2.3.2.1.1. Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit der Stimulation in den verschiedenen Gruppen

In der Abbildung 15 sind die mittleren Stimationsindizes aller 3 Gruppen aufgeführt, die durch die beiden Con A-Konzentrationen erreicht wurden.

Abbildung 15: Stimationsindizes ($\bar{x}g \pm SF$) aller Gruppen durch zwei verschiedene Con A-Konzentrationen an den 3 Untersuchungstagen



Aus der Abbildung 15 geht hervor, daß die mittleren Stimationsindizes für beide Con A-Konzentrationen, die pro Untersuchungstag erzielt wurden, immer relativ eng zusammen lagen, wobei die durch die niedrigen Con A-Konzentrationen erzielten Werte immer höher waren. Die Streuung der Werte vor allem nach oben ist sehr groß. Insgesamt gesehen liegt der mittlere SI am Untersuchungstag 1 (d.h. nach 66 Stunden) am höchsten und nimmt in der Folge zum Tag 3 hin ab, wobei auch die Maximalwerte niedriger werden. Die statistische Auswertung ergab, daß die Unterschiede zwischen den eingesetzten Con A-Konzentrationen in der Hauptuntersuchung mit $p < 0,05$ schwach signifikant und für den Einfluß des Untersuchungstages mit $p < 0,0001$ hoch signifikant waren.

4.2.2.3.2.1.2. Einfluß des Krankheitsgrades und des Untersuchungstages auf die Stimationsfähigkeit der felines Lymphozyten

Um den Einfluß des Krankheitsgrades auf die Stimationsfähigkeit der Lymphozyten durch die verschiedenen Con A-Konzentrationen zu evaluieren, wurden die mittleren Stimulationindizes für beide eingesetzte Con A-Konzentrationen berechnet und in der Tabelle 37 für alle drei pro Krankheitsgruppe durchgeführten Ansätzen dargestellt.

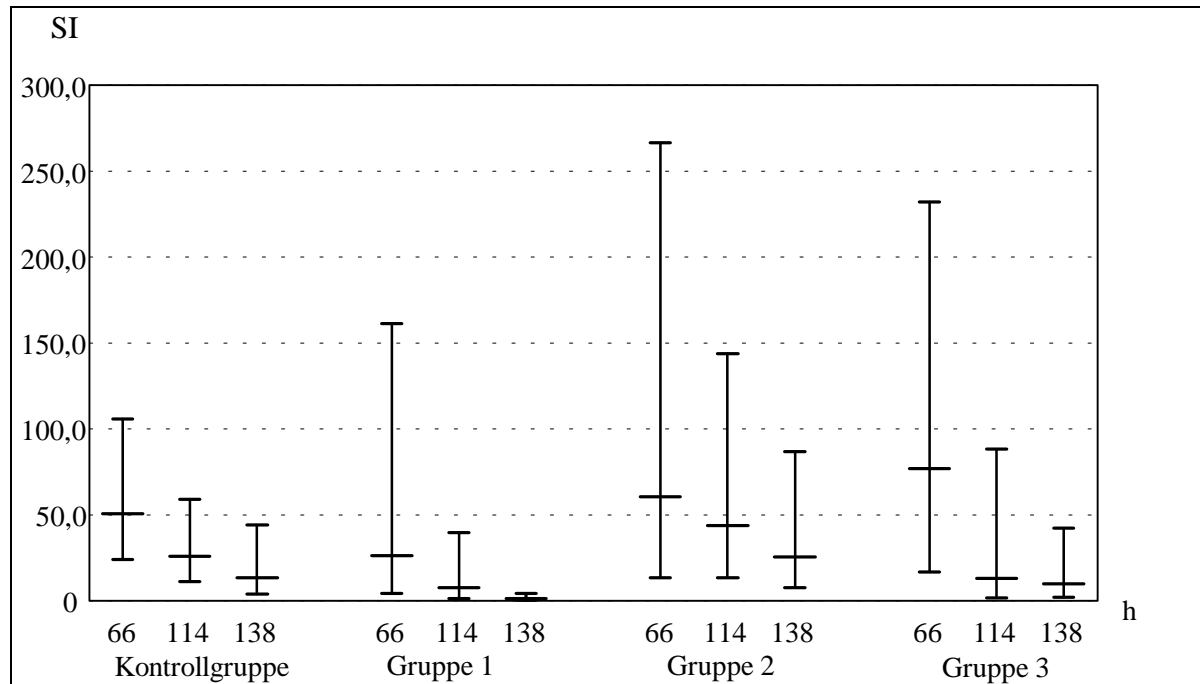
Tabelle 37: Mittelwerte (\bar{x}_g) der Stimulationsindizes der Kontrolltiere und der Gruppen 1 - 3 nach Stimulation mit zwei verschiedenen Con A-Konzentrationen

| Gruppe Stunden | Kontrollgruppe | | | Gruppe 1 | | | Gruppe 2 | | | Gruppe 3 | | |
|--------------------|----------------|------|------|----------|-----|-----|----------|------|------|----------|------|------|
| | 66 | 114 | 138 | 66 | 114 | 138 | 66 | 114 | 138 | 66 | 114 | 138 |
| Con A 2,5 µg/ml | 50,6 | 26,0 | 13,4 | 26,1 | 7,6 | 1,4 | 60,6 | 43,9 | 25,7 | 77,1 | 13,1 | 9,9 |
| Con A 5,0 µg/ml | 47,5 | 16,0 | 11,5 | 42,5 | 9,5 | 2,2 | 19,3 | 32,7 | 13,2 | 46,2 | 11,6 | 10,2 |

Aus der Tabelle 37 geht hervor, daß bei Stimulation der Lymphozyten mit einer Con A-Konzentration von 2,5 µg/ml die mittleren Stimulationsergebnisse, die in jeder Gruppe erzielt wurden, höher waren als bei Einsatz von 5 µg/ml. Einzige Ausnahme bildete die Gruppe 1 in der der geometrische Mittelwert des 5 µg/ml-Ansatzes nach 66 Stunden höher lag, die Maximalwerte wurden allerdings nach Stimulation mit 2,5 µg/ml gefunden. Weiterhin fällt auf, daß bei beiden Con A-Konzentrationen die Stimulationsindizes in der Gruppe 3, der zum Untersuchungszeitpunkt am schwersten kranken Katzen, die höchsten Werte aufweisen. Sie werden gefolgt von den Tieren der Gruppe 2 die leichtere Krankheitssymptome zeigten. Die Katzen der Gruppe 1, die z. Zt. klinisch gesunden Tiere, zeigen bei beiden Con A-Konzentrationen ungefähr gleich hohe Werte, die im weiteren Testverlauf dann aber wie in den anderen beiden Gruppen auch absinken. Diese Abnahme, sie ist in der Abbildung 16 grafisch dargestellt, zeigt in der Gruppe 3 ihre stärkste Ausprägung.

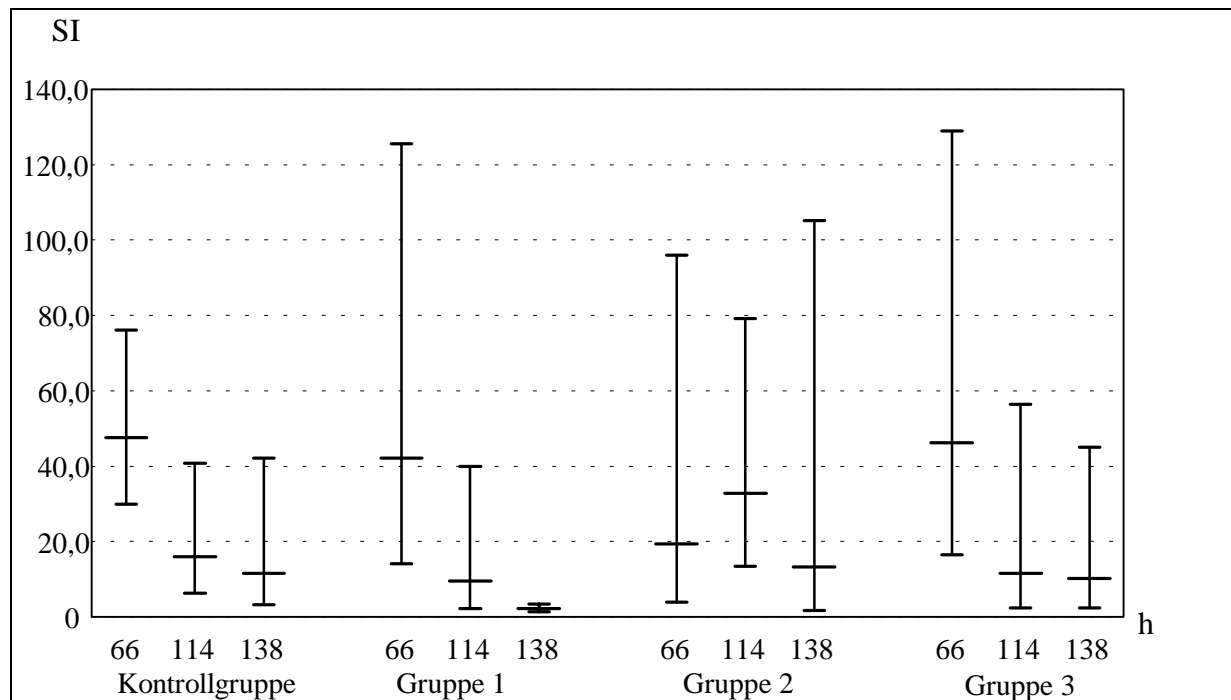
In der Abbildung 16 und Abbildung 17 sind die Verläufe der einzelnen Con A-Konzentrationen aller Gruppen entsprechend der Daten aus der Tabelle 37 dargestellt.

Abbildung 16: Verläufe der mittleren Stimulationsindizes ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit Con A 2,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$



Aus der Abbildung 16 ist zu entnehmen, daß nach 66 Stunden der Mittelwert in allen Gruppen bei Einsatz von 2,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Con A am höchsten ist und dann bis zum 138 Stunden-Ansatz abfällt. Die Stimulierbarkeit der Lymphozyten aus Gruppe 1 ist nach 66 Stunden im Mittel deutlich niedriger als in den übrigen Gruppen und fällt nach 138 Stunden fast auf Null ab, die höchsten Werte nach 66 Stunden werden in der Gruppe 3 gefunden, gefolgt von der Gruppe 2 und der Kontrollgruppe.

Abbildung 17: Verlauf der mittleren Stimulationsindizes ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit Con A 5,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$



In der Abbildung 17 sind die Verläufe aller 4 Gruppen nach Stimulation mit 5,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Con A aufgeführt. Wie auch nach Stimulation mit 2,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Con A wurden, mit Ausnahme der Gruppe 2, nach 66 Stunden immer die höchsten Stimulationsindizes gefunden. Insgesamt ist auch bei dieser Konzentration die Tendenz erkennbar, daß die Stimulationsfähigkeit der Zellen mit der Zeit abnimmt. Die statistische Auswertung der Daten ergab, daß der Tageseinfluß auf den Unterschied in der Stimulationsfähigkeit der Lymphozyten mit $p < 0,001$ statistisch hoch signifikant ist. Die Wechselwirkungen zwischen Gruppeneinfluß und Tageseinfluß sind mit $p < 0,05$ schwach signifikant.

Als Voraussetzung für die Auswertung der spezifischen Proliferation durch FHV 1 mußte die Stimulation mit dem unspezifischen Mitogen Con A einen minimalen SI von 15 ergeben haben. In der Tabelle 38 ist eine Übersicht über die Anzahl und Verteilung der Testungen der einzelnen Krankheitsgruppen wiedergegeben, die diesen SI nicht erreichten. Die in Klammern gesetzten Werte geben die Zahl der Tiere an, deren Lymphozyten im jeweiligen Ansatz eingesetzt wurden. Die Differenz zur Tierzahl der jeweiligen Krankheitsgruppe (Gr. 1: $n = 7$, Gr. 2: $n = 11$, Gr. 3: $n = 12$) erklärt sich aus der Tatsache, daß bei einzelnen Tieren nicht ausreichend Lymphozyten für alle drei Testungen zur Verfügung standen.

Tabelle 38: Übersicht über Anzahl und Verteilung der Stimulationsindizes $\bar{x} \geq 15$ der drei Krankheitsgruppen

| Gruppe | Stimulationsindex ≥ 15 | | |
|------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| | 66-Stunden-Ansatz | 114-Stunden-Ansatz | 138-Stunden-Ansatz |
| 1 (n = 7) | 5 (7) | 2 (5) | 0 (3) |
| 2 (n = 11) | 9 (11) | 6 (7) | 6 (8) |
| 3 (n = 12) | 10 (11) | 6 (10) | 5 (11) |
| Gesamt | 24 (29) | 14 (22) | 11 (22) |

Im **66-Stunden-Ansatz** der **Gruppe 1** zeigten 5 der 7 Tiere einen SI von mehr als 15. Weil bei zwei Katzen die Lymphozytenmenge nicht ausreichte, konnte nur bei 5 von 7 Tieren der Gruppe 1 ein **114-Stunden-Ansatz** durchgeführt werden. Zwei dieser fünf Katzen erreichten nach Zugabe mit Con A einen SI ≥ 15 . Für den **138-Stunden-Ansatz** standen Lymphozyten von allen 7 Katzen zur Verfügung. Die Zellen von 4 Tieren zeigten bei den lichtmikroskopischen Kontrollen bereits Anzeichen für Apoptose, hier konnten keine Stimulationswerte gemessen werden. Bei den verbliebenen 3 Tieren konnte durch Con A keine ausreichende Stimulation erreicht werden.

Von den 11 Katzen der **Gruppe 2** konnten im **66-Stunden-Ansatz** 9 Tiere mit Con A ausreichend stimuliert werden. Von 4 der 11 Katzen der Gruppe 2 waren nicht ausreichend Lymphozyten vorhanden, um den **114-Stunden-Ansatz** durchzuführen. Von den verbliebenen 7 Katzen erreichten sechs einen SI ≥ 15 . Für den **138-Stunden-Ansatz** standen Lymphozyten von 10 Katzen zur Verfügung. Die Zellen von zwei dieser Katzen entwickelten sich nicht und starben ab. Die Lymphozyten von 6 der verbliebenen 8 Katzen ließen sich durch Zugabe von Con A ausreichend stimulieren, sie wurden in die weitere Auswertung aufgenommen.

Im **66-Stunden-Ansatz** der **Gruppe 3** konnten Lymphozyten von 11 der 12 Katzen untersucht werden. Bei zehn Katzen lag der durch Con A bedingte SI bei mehr als 15, sie wurden somit in die weitere Auswertung aufgenommen. Der **114-Stunden-Ansatz** konnte für insgesamt 10 Tiere durchgeführt werden, von denen 6 einen SI ≥ 15 erreichten. Für den **138-Stunden-Ansatz** standen ausreichend Lymphozyten von 11 Katzen zur Verfügung, 5 von ihnen wiesen einen ausreichend hohen SI auf, um die weiteren Untersuchungen einbezogen zu werden.

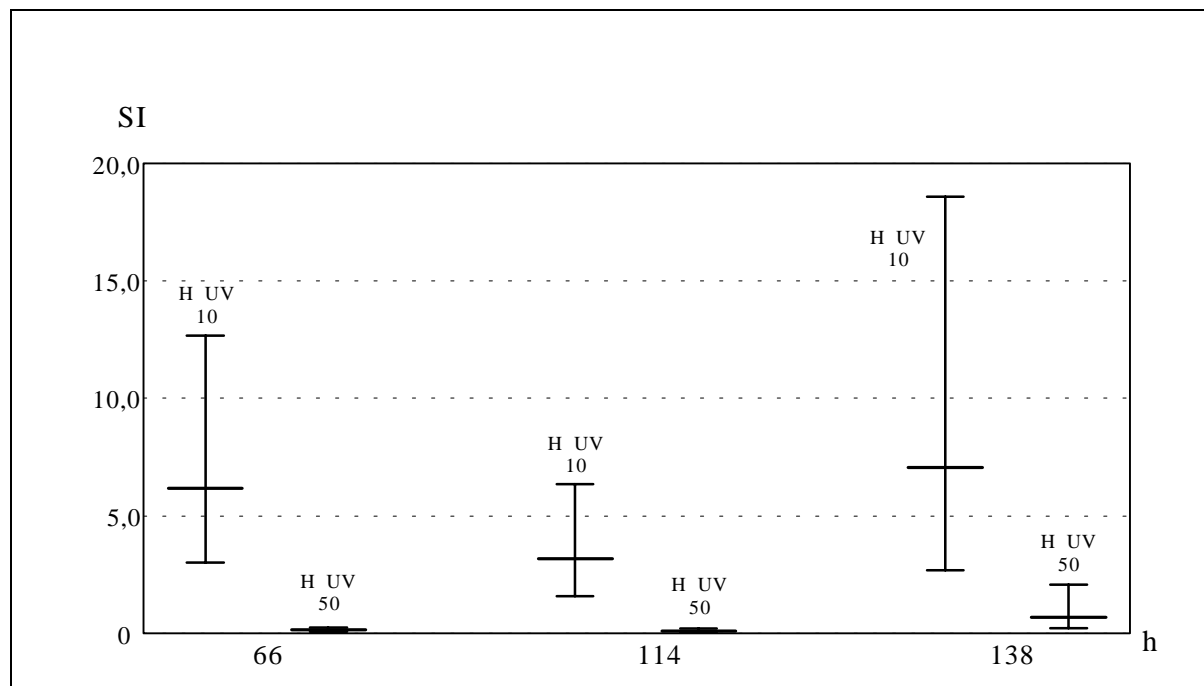
Zusammengenommen konnte bei 24 von 29 Tests (82,8 %) im 66-Stunden-Ansatz durch Con A ein Stimulationsindex von mehr als 15 erzielt werden. Im 114-Stunden-Ansatz belief sich die Anzahl der Tests die einen SI von mehr als 15 erreichten auf vierzehn von 22 (63,6 %)

und im 138-Stunden-Ansatz auf elf von 22 (50,0 %), da die Zellen von insgesamt sechs Katzen der Gruppen zwei und drei apoptotisch wurden, bevor die 138-Stunden-Tests ausgewertet werden konnten. Insgesamt erreichten somit 49 von 73 Tests (67,1 %) den minimalen SI von 15,0.

4.2.2.3.2.2. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von UV-inaktiviertem FHV

Zur Stimulation der Lymphozyten wurde UV-inaktiviertes FHV 1 in zwei verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. In der Abbildung 18 sind die geometrischen Mittelwerte der Stimulationsindizes gegeneinander aufgetragen, die an den drei Untersuchungstagen durch die unterschiedlichen FHV-1-Konzentrationen erzielt wurden.

Abbildung 18: Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Einsatz von zwei verschiedenen Konzentrationen UV-inaktivierten FHV 1



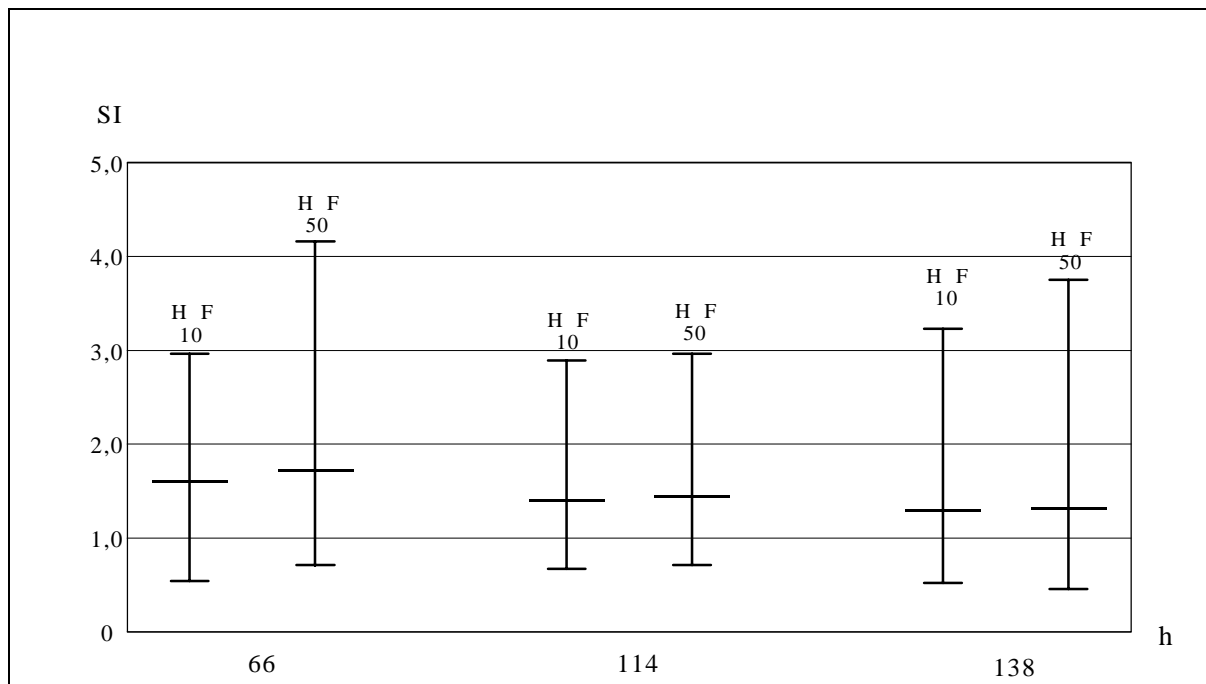
Aus der Abbildung 18 geht hervor, daß an allen 3 Untersuchungstagen deutlich höhere Stimulationsindizes mit der niedrigeren FHV-1-Konzentration (UV₁₀) erzielt wurden. Die statistische Auswertung ergab, daß diese Unterschiede mit $p < 0,0001$ hoch signifikant waren. Die Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den einzelnen Krankheitsgruppen waren mit $p < 0,059$ knapp nicht signifikant, während statistisch signifikante Unterschiede der Höhe

des Stimulationsergebnisses in Abhängigkeit vom Untersuchungstag nicht festgestellt werden konnten. Die statistisch nicht signifikanten Ergebnisse sind hier nicht dargestellt, ihre grafische Darstellung ist in der Abbildung 23 und Abbildung 24 im Anhang zu finden.

4.2.2.3.2.3. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von formalinaktiviertem FHV

In den Proliferationstests wurde formalinaktiviertes FHV 1 in zwei verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. Die Abbildung 19 zeigt eine Übersicht über die mittleren Stimationsindizes, die an den drei Untersuchungstagen von allen Gruppen erzielt wurden.

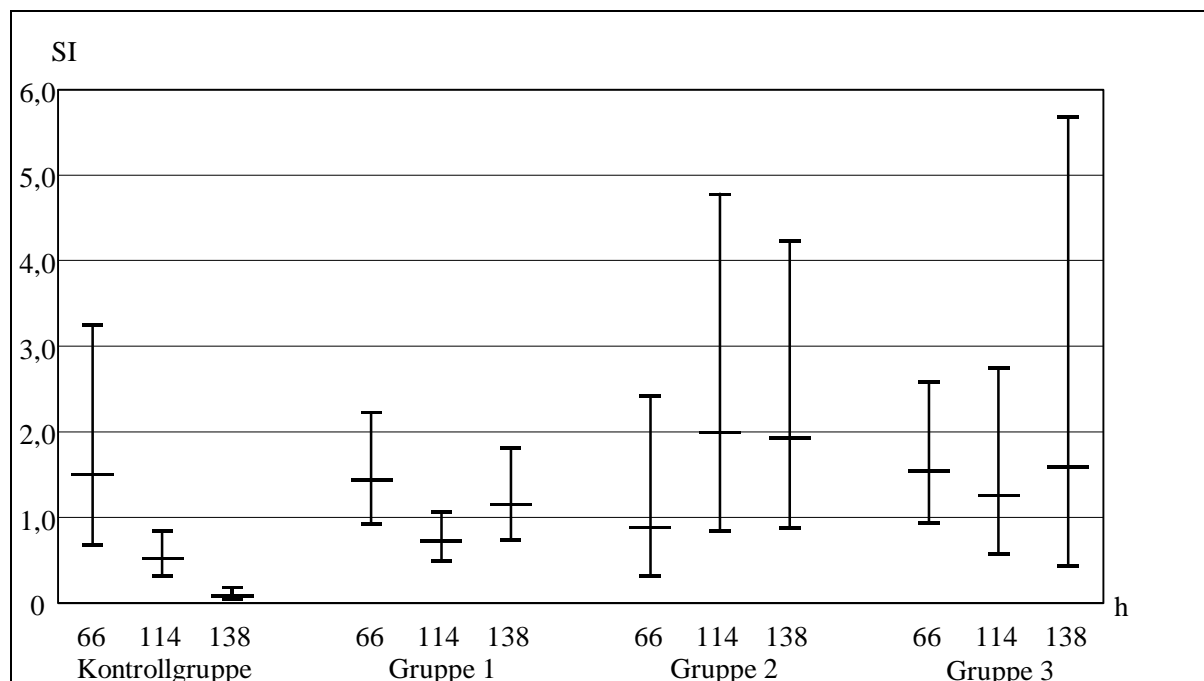
Abbildung 19: Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Einsatz von formalinaktiviertem FHV 1



In der Abbildung 19 sind die geometrischen Mittelwerte \pm Streufaktor der Stimationsindizes aller Gruppen nach Stimulation mit formalinaktiviertem FHV 1, die an den einzelnen Untersuchungstagen gemessen wurden, gegeneinander aufgetragen. Insgesamt gesehen sind die erzielten Stimationsindizes niedriger als nach Stimulation durch UV-inaktiviertes FHV. Die mittleren Stimationsindizes wie auch die Maximal- und Minimalwerte pro Untersuchungstag liegen sehr eng beieinander, wobei die Mittelwerte der HF50-Proben tendenziell über denen der HF10-Proben liegen. Ein Mittelwertunterschied durch den Tageseinfluß war mit $p < 0,0504$ knapp nicht signifikant, für die Einflußfaktoren Gruppe und

Konzentration konnte er ebenfalls statistisch nicht nachgewiesen werden. Während mit Hilfe der Varianzanalyse keine signifikanten Wechselwirkungen für die Einflußfaktoren Gruppe/Konzentration, Tag/Konzentration und Gruppe/Tag/Konzentration nachgewiesen werden konnten, erwies sich die Wechselwirkung zwischen den Einflußfaktoren Gruppe/Tag mit $p < 0,05$ als schwach signifikant, was besagt, daß die unterschiedlichen Verläufe der einzelnen Gruppen tagesabhängig sind. Zur Darstellung dieses Ergebnisses sind in der Abbildung 20 und Abbildung 21 die Verläufe der einzelnen Gruppen über die Untersuchungstage grafisch dargestellt.

Abbildung 20: Verlauf der Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) der einzelnen Gruppen an den drei Untersuchungstagen nach Stimulation mit FHV F 10

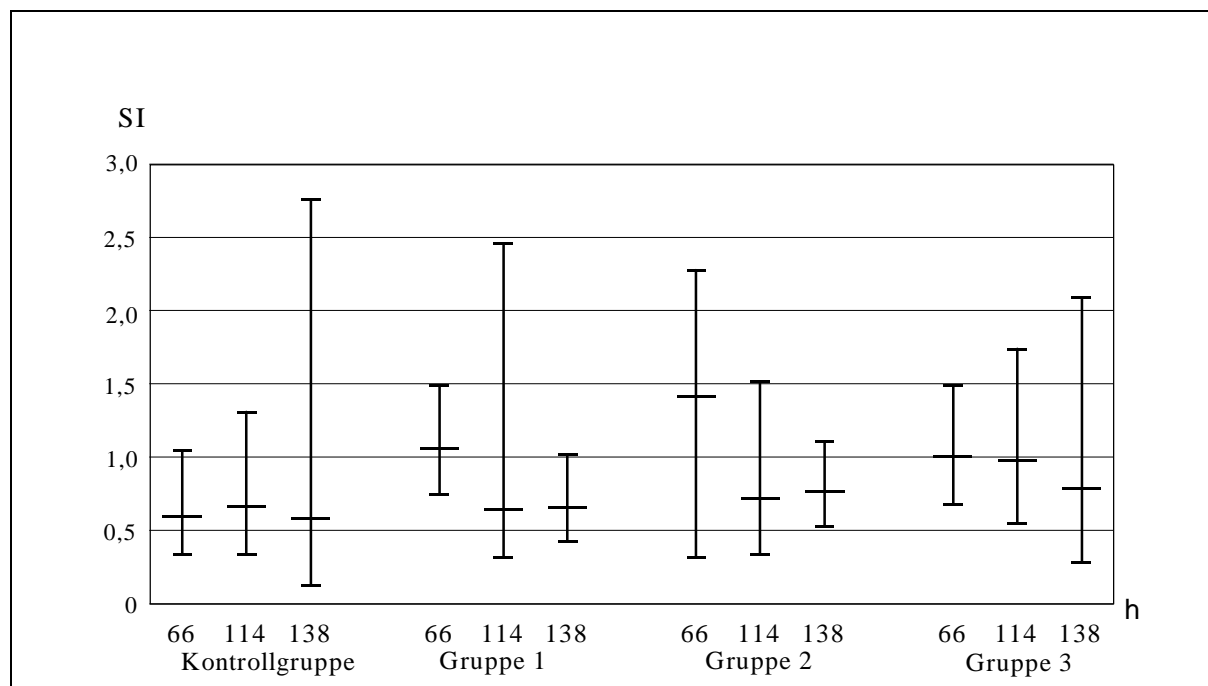


Die mittleren Stimationsindizes der vier Gruppen zeigen, wie aus der Abbildung 20 ersichtlich, kein einheitliches Verhalten. Bei der Betrachtung der Höhe der Mittelwerte der Ansätze stellt sich das Verhältnis der Gruppen zueinander folgendermaßen dar. Im 66-Stunden-Ansatz lag die Kontrollgruppe vor der Gruppe 3, in absteigender Reihenfolge folgten Gruppe 1 und Gruppe 2. In den 114- und 138-Stunden-Ansätzen lagen die Katzen der Gruppe 2 vor den Tieren der Gruppe 3, der Gruppe 1 sowie der Kontrollgruppe.

Die Höhe der Mittelwerte war an den einzelnen Untersuchungstagen sehr unterschiedlich, wobei im 114- und 138-Stunden-Ansatz eine gleichlaufende Tendenz zu beobachten war. Wie aus der Abbildung 20 ersichtlich, wurden die höchsten Maximalwerte in den Gruppen 2 und 3 gefunden.

In der Abbildung 21 sind die Stimulationsergebnisse der einzelnen Gruppen an den drei Untersuchungstagen nach Stimulation mit der höheren FHV-Konzentration (FHV F50) dargestellt.

Abbildung 21: Stimulationsergebnisse ($\bar{x}_g \pm SF$) der einzelnen Gruppen an den drei Untersuchungstagen nach Stimulation mit FHV F 50



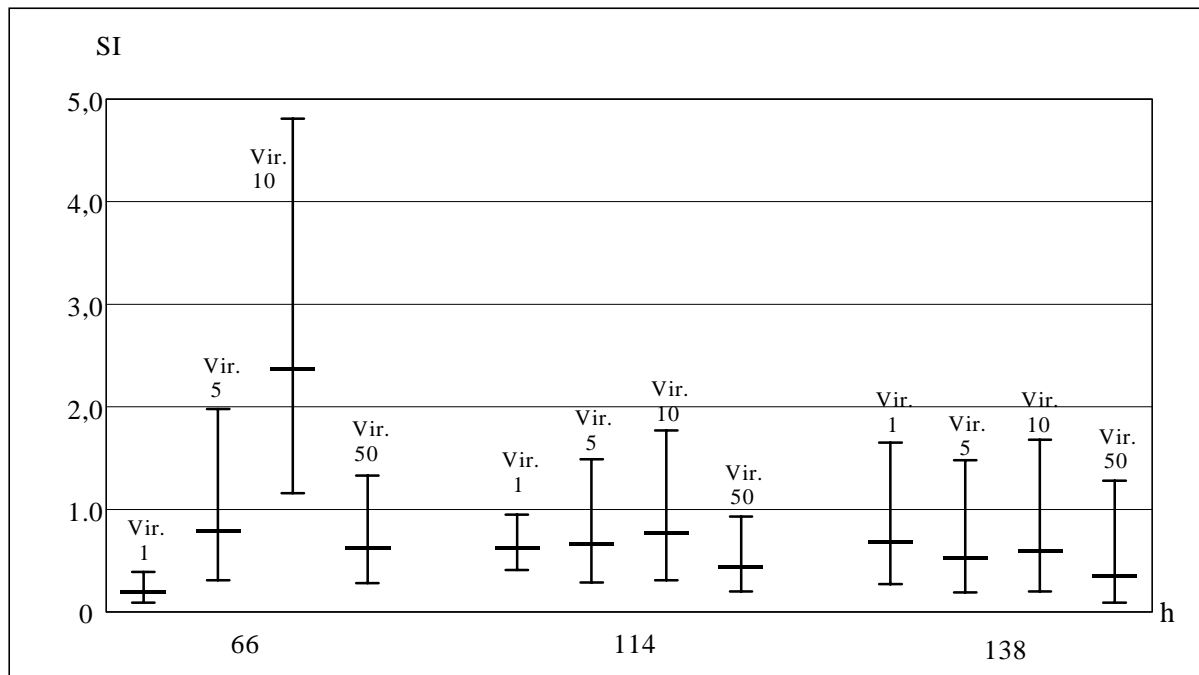
Wie aus der Abbildung 21 zu ersehen, sind auch im FHV F50-Ansatz die mittleren Stimmungsindizes der vier Gruppen uneinheitlich. Insgesamt liegen die Mittelwerte deutlich unter denen der FHV F10-Ansätze.

Von den 12 dargestellten Mittelwerten liegen 9 zwischen 0,5 und 1, lediglich die drei 66-Stunden-Ansätze zeigen mit 1,06 in der Gruppe 1, der Gruppe 2 mit 1,42 sowie den in der Gruppe 3 gefundenen 1,01 knapp über 1 liegende Werte. Bei der Betrachtung der Höhe der Mittelwerte in den Ansätzen stellt sich die Reihenfolge der Gruppen folgendermaßen dar. Im 66-Stunden-Ansatz liegt Gruppe 2 vor der Gruppe 1, der Gruppe 3 und der Kontrollgruppe. Im 114-Stunden-Ansatz liegt die Gruppe 3 vor der Gruppe 2, die gefolgt wird von der Kontrollgruppe sowie der Gruppe 1. Auch im 138-Stunden-Ansatz liegt die Gruppe 3 vor der Gruppe 2, danach folgen Gruppe 1 und die Kontrollgruppe.

4.2.2.3.2.4. Stimulationsergebnisse nach Einsatz von nicht inaktiviertem FHV

In dieser Untersuchung wurde nicht inaktiviertes FHV 1 in vier verschiedenen Konzentrationen zur Stimulation der felines Lymphozyten eingesetzt (Vir.1, Vir.5, Vir.10, Vir.50). In der Abbildung 22 sind die Ergebnisse der Stimulation aller Gruppen dargestellt

Abbildung 22: Stimulationsergebnisse (\bar{x}_g SI \pm SF) aller 4 Gruppen nach Einsatz von nicht inaktiviertem FHV



Die mittleren Stimulationsergebnisse nach Einsatz von nicht inaktiviertem FHV liegen insgesamt sehr niedrig. Die höchsten Werte wurden am Untersuchungstag 1 (66 h) im Ansatz Vir.10 gefunden. Die mittleren Stimulationsindizes an allen Untersuchungszeitpunkten liegen zwischen 0 und 1, lediglich der 66-Stunden-Ansatz Vir.10 zeigt sowohl deutlich höhere Mittel- als auch Maximalwerte. In der statistischen Auswertung der Daten war der Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen mit $p < 0,05$ schwach signifikant, während er für die Untersuchungstage mit $p < 0,0001$ ebenso hoch signifikant war wie der Einfluß der Konzentration, für die eine stark negative Korrelation besteht.

4.2.2.3.3. Ergebnisse der spezifischen Stimulationen in den Lymphozytenproliferations- tests der Hauptuntersuchung

Unter den insgesamt 49 von 73 Tests, die in die weitere Auswertung gelangten, waren 28 Tests von 9 Patienten, die sich durch die FHV-1-Zubereitungen stimulieren ließen. In der Tabelle 39 sind diese Testansätze aufgeführt, die neben positiven Stimulationsergebnissen in den Con A-Ansätzen auch positive Ergebnisse nach Stimulation durch FHV 1 zeigten und deren SI mindestens doppelt so hoch lag wie jener der Kontrollprobe, die bei jedem Ansatz durchgeführt wurde.

Tabelle 39: Positive Stimationsindizes durch verschiedene FHV-1-Zubereitungen in den Patientengruppen 1 - 3 und FHV-1-Titer der betreffenden Katzen

| Patienten- Gruppe | Ansatz | Tier- Nr. | FHV -1- Titer | SI | | | | | | | |
|----------------------|--------|------------------|---------------------|------|------|----------|------|------|-----|------|----|
| | | | | UV | | Formalin | | Vir. | | | |
| | | | | 10 | 50 | 10 | 50 | 1 | 5 | 10 | 50 |
| 1 | 66 h | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 114 h | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 138 h | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 66 h | 8 ⁽⁺⁾ | 1 : 16 | - | - | 4,0 | 10,0 | - | 4,0 | - | - |
| | 114 h | 8 ⁽⁺⁾ | 1 : 16 | 8,0 | - | 14,0 | 19,0 | - | 8,0 | 12,0 | - |
| | 138 h | 8 ⁽⁺⁾ | 1 : 16 | - | - | - | 5,0 | - | - | - | - |
| | | 10 | 1 : 8 | - | - | 10,0 | - | - | - | - | - |
| | | 13 | 1 : 2 | - | 7,0 | - | - | - | - | - | - |
| | | 24 | 1 : 8 | - | - | 5,0 | 5,0 | - | - | - | - |
| 3 | 66 h | 9 ^(*) | 1 : 16 | - | - | 6,0 | 8,0 | - | 5,0 | - | - |
| | 114 h | 11 | 1 : 16 | 7,0 | 4,0 | - | - | - | - | - | - |
| | 138 h | 7 | 1 : 16 | - | - | 4,0 | 4,0 | - | - | - | - |
| | | 11 | 1 : 16 | 10,0 | - | - | - | - | - | - | - |
| | | 14 | - ^(**) | 8,0 | - | - | - | - | - | - | - |
| 17 ⁽⁺⁾ | | 1 : 16 | 14,0 | 10,0 | 10,0 | 6,0 | 10,0 | - | 5,0 | - | |

⁽⁺⁾ = FeLV positiv, ^(*) = FIV positiv, ^(**) = nicht durchgeführt, da Serummenge nicht ausreichend, - = SI < 4,0

Wie aus der Tabelle 39 zu ersehen, reagierten 9 Katzen in einem oder mehreren Ansätzen auf Stimulation mit feline Herpesviren. In der Gruppe 1 konnte weder mit UV- noch mit formalininaktiviertem oder nicht inaktiviertem FHV 1 eine Stimulation ausgelöst werden. In der Gruppe 2 zeigten vier Katzen, von denen eine unter einer FeLV-Infektion litt, eine Stimulationsreaktion. Die mittlere Höhe eines positiven Stimulationsindex in der Gruppe 2 lag bei 8,4. Von den fünf Tieren, die in der Gruppe 3 reagierten, litten zwei unter einer zusätzlichen Infektion: Katze Nr. 9 war FeLV positiv, Katze Nr. 17 FIV positiv. Der mittlere positive SI in der Gruppe 3 lag bei 7,4.

Die Auswertung der Einzelansätze insgesamt, ohne Berücksichtigung des Inaktivierungsverfahrens, ergibt eine Summe von 28 Reaktionen bei den 9 Tieren. Diese verteilen sich auf die eingesetzten Stimulantien wie in der Tabelle 40 dargestellt.

Tabelle 40: Anzahl der positiven Stimulationsergebnisse durch FHV-Zubereitungen

| Anzahl der Proben | Inaktivierungsverfahren | | | Gesamtzahl |
|-------------------|-------------------------|----------|-------------------|------------|
| | UV | Formalin | nicht inaktiviert | |
| n | 8 | 14 | 6 | 28 |
| % | 28,6 | 50 | 21,4 | 100 |

Aus der Tabelle 40 ist zu ersehen, daß acht Stimulationsreaktionen durch UV-inaktiviertes FHV 1 erzielt werden. In vierzehn Ansätzen wurden Reaktionen auf formalininaktiviertes, in sechs weiteren auf nicht inaktiviertes Virus gemessen.

Der durchschnittliche SI für UV-inaktiviertes Virus lag bei 8,5, für formalininaktiviertes Virus bei 8,6, während durch nicht inaktiviertes Virus ein durchschnittlicher SI von 7,3 erreicht wurde.

Alle drei Katzen, deren Lymphozyten auf Stimulation mit nicht inaktiviertem Virus reagierten, litten entweder unter einer FeLV- oder einer FIV-Infektion, sie zeigten außerdem auch noch Reaktionen auf formalin- und/ oder UV-inaktiviertes FHV 1. Zudem zeigten sie insgesamt die meisten Stimulationsreaktionen und auch die höchsten Stimulationsindizes. Bei ihnen wurden 18 von 28 positiven Proben gefunden, dies entspricht einem Prozentsatz von 64,3 %.

Fünf der 9 Reagenten hatten einen FHV Neutralisationstiter von 1 : 16, zwei Katzen wiesen einen Titer von 1 : 8 und eine Katze einen Titer von 1 : 2 auf, während bei Katze Nr. 14 die Serummenge zur Titerbestimmung nicht ausreichte. Insgesamt wiesen 7 der 8 Katzen einen positiven Neutralisationstiter auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß durch formalininaktiviertes FHV 1 mit 50 % die meisten positiven Stimulationen ausgelöst wurden. Sie lagen mit einem durchschnittlichen SI von 8,6 geringgradig höher als die durch UV-inaktiviertes FHV 1 bedingten durchschnittlichen Stimulationsindizes von 8,5, die bei 28,6 % der Proben gefunden wurden.

Der mittlere SI durch virulentes FHV 1 lag bei 7,6. Stimulationen durch virulentes FHV 1 traten nur bei FeLV- oder FIV-positiven Katzen auf, deren Lymphozyten auch durch eine der formalininaktivierten Zubereitungen stimuliert wurden.

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, bei Katzen mit differenzierten Schweregraden einer Katzenschnupfenerkrankung - verglichen mit klinisch gesunden, regelmäßig geimpften Tieren, die bisher noch keine Schnupfensymptomatik gezeigt hatten - neben der klinischen Symptomatik mögliche Unterschiede ausgewählter hämatologischer, serologischer und immunologischer Parameter herauszuarbeiten. Hierbei lagen die Schwerpunkte bei der Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen und der Durchführung von Lymphozytenproliferationstests mittels verschiedener FHV-1-Zubereitungen als Antigen.

5.1. Hämatologische Untersuchungen

Die Blutuntersuchungen ergaben, daß die mittleren Leukozytenzahlen aller drei Krankheitsgruppen leicht oberhalb des Referenzbereichs lagen, gegenüber der Kontrollgruppe waren sie signifikant erhöht. Erhöhungen der Leukozytenzahlen wurden auch bereits von CRANDELL et al. (1961), HOOVER (1970) und auch REUBEL (1992) bei akuten FHV-1-Infektionen bereits 2 Tage p.i. bei SPF-Katzen beschrieben und waren bei den klinisch kranken Katzen der Gruppen 2 und 3 zu erwarten. Daß auch die asymptomatischen Katzen der Gruppe 1 erhöhte Werte aufwiesen, ist wahrscheinlich auf das Vorliegen einer latenten Infektion zurückzuführen, könnte aber auch dadurch bedingt sein, daß ihr Immunsystem durch den täglichen Kontakt mit einer Vielzahl von Artgenossen, die zu einem nicht bestimmten Anteil an verschiedenen infektiösen Erkrankungen litten, ständig aktiviert war.

In dieses Bild paßt auch die Erhöhung des Globulinanteils im Serum sowie die Erniedrigung des Albumin-Globulin-Quotienten, die in allen drei Gruppen gegenüber der Gruppe der Kontrollkatzen auffielen. Spezifischere Informationen würden hier durch eine Serumeiweißelektrophorese geboten, in welcher der Anteil der γ -Globuline quantifiziert würde und auch Aussagen über eine mögliche Mono- oder Polyklonalität bei Erhöhung des γ -Globulinanteils getroffen werden könnten.

5.2. Serologische Untersuchungen auf Antikörper gegen das FHV 1

Um einen Überblick über die Prävalenz der FHV-1-Infektion in dem untersuchten Bestand zu bekommen, wurden bei 29 von 30 Katzen sowie bei den 15 Kontrollkatzen Antikörpertiter gegen das FHV 1 bestimmt. Die Kontrollkatzen wiesen zu 33 % positive Titer auf. Bei den asymptomatischen Katzen der Gruppe 1 wurden bei 57,1 %, den Tieren mit einer leichteren klinischen Symptomatik bei 72,7 % und bei den am schwersten erkrankten Tieren der Gruppe 3 bei 81,8 % neutralisierende Antikörper im Serum gefunden. Die mittlere Häufigkeit über alle Erkrankungsgruppen hinweg betrug 72,4 %. Diese Zahl ist etwas niedriger als die von POVEY und JOHNSON (1971) angegebenen 76,5 % bei Katzen aus Katzensuchten und Versuchstierhaltungen, spiegelt aber sehr gut wider, daß der überwiegende Teil der Katzen bereits Kontakt zu FHV 1 hatte.

Wie in experimentellen Untersuchungen festgestellt wurde (CRANDELL et al., 1961; WALTON und GILLESPIE, 1970b; GASKELL und POVEY, 1979a), ist die durchschnittliche Titerhöhe bei FHV-Infektionen niedrig und liegt wie auch in der hier vorgelegten Arbeit, meistens zwischen 1 : 4 und 1 : 64. In dieser Untersuchung konnte durch die Bildung des arithmetischen Mittelwertes der Titerstufen eine statistisch signifikante Abstufung zwischen den Gruppen festgestellt werden. In der Kontrollgruppe wurde ein Mittelwert von 1,20 gefunden, in Gruppe 1 lag er bei 1,85, in Gruppe 2 bei 2,27 und Gruppe drei bei 3,18. Die durchschnittliche Titerhöhe ist in der Gruppe 3 nicht am höchsten, weil Einzeltiere besonders hohe Titer aufwiesen, sondern weil die Titer der meisten Katzen gleichermaßen hoch lagen. Bei den betreffenden Tieren handelt es sich vermutlich um latent infizierte Katzen mit rekurrierenden Infektionen. Diese Katzen zeigen nach GASKELL und POVEY (1977) häufig relativ konstant erhöhte Titer und auch nicht immer weitere Titeranhebungen bei erneuten Krankheitsschüben.

Erhöhte Titer im Rahmen von FHV-1-Infektionen wurden von GODDARD (1984) häufiger am Ende einer Periode der Virusausscheidung gefunden, was auch die Untersuchungsergebnisse von GASKELL und POVEY (1979a) bestätigt, daß die Beendigung der Virusausscheidung mit dem Auftreten neutralisierender Antikörper zusammenfiel. Dies bietet auch eine Erklärung dafür, daß bei rekurrierenden Krankheitsschüben eine zeitlich gesehen kürzere, oder gar keine Virusausscheidung beobachtet werden kann (WALTON und GILLESPIE, 1970b). Um diesen Sachverhalt im vorliegenden Fall sicher abzuklären, wäre

eine längere Beobachtung des Bestandes mit Verlaufskontrollen der Antikörpertiter sowie Versuchen der Virusisolation interessant.

5.3. Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurden Bestimmungen verschiedener feline Lymphozytensubpopulationen durchgeführt. Hierbei wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Pan-T-Zellen der verschiedenen Krankheitsgruppen gefunden. Der mittlere prozentuale Anteil der Pan-T-Lymphozyten der in dieser Studie untersuchten 15 Kontrolltiere von $58 \pm 13,8$ % und der Katzen der Gruppe 2 mit $58,3 \pm 9,7$ % liegt zwischen den in der Literatur gefundenen Werten von DEAN et al. (1991) mit 54,8 % und WALKER et al. (1994) mit 63,5 %, während für die Gruppen 1 und 3 leicht höhere Zahlen gefunden wurden.

Der prozentuale Anteil der CD4-Zellen von $28,0 \pm 9,1$ % bei den Kontrollkatzen erweist sich als etwas höher als die von ACKLEY et al. (1990) gefundenen 25 % und niedriger als jene, welche von einigen anderen Untersuchern (DEAN et al., 1991; HOFFMANN-FEZER et al., 1991; TOTH et al., 1992, WALKER et al., 1994) bei Nicht-SPF-Katzen angegeben wurden. Die CD4-Werte der Katzen aus Gruppe 1 sind etwas niedriger als die der Kontrollgruppe, diejenigen aus der Gruppe 3 liegen knapp darüber. In der Gruppe 2 finden sich signifikant niedrigere Anteile an CD4-T-Zellen als in der Kontrollgruppe sowie der Gruppe 3. Da die Katzen keine Lymphopenie aufwiesen und die übrigen Populationen keine Verminderungen erkennen lassen, kann anhand der hier dargestellten Ergebnisse keine Erklärung für die niedrigen Werte gegeben werden. Die in den einzelnen Gruppen untersuchte Tierzahl ist nicht sehr groß, daher kann es sich durchaus um das Zusammenkommen zufälliger Ereignisse handeln, da die Schwankungsbreite der feline Lymphozytensubpopulationen schon bei gesunden Individuen sehr groß ist. So konnte auch HOFFMANN-FEZER (1991) feststellen, daß die Schwankungsbreite der von ihr bestimmten CD4-Zellen von 20 - 50 % reichte.

Die mittlere Zahl der CD8-T-Lymphozyten von $16,5 \pm 6,1$ % der Kontrolltiere liegt zwischen denen anderer Untersucher. So gaben KLOTZ und COOPER (1986) 15 % an, HOFFMANN-FEZER et al. (1991) $13,4 \pm 4,3$ % und WALKER et al. (1994) $23,4 \pm 8,75$ % CD8-T-Lymphozyten. Während die Katzen der Gruppe 2 CD8-Lymphozytenzahlen zeigen, die denen

der Kontrollgruppe entsprechen, liegt der Wert der CD8-T-Zellen in den Gruppen 1 und 3 ca. 7 % darüber.

Der in der Kontrollgruppe gemessene CD4-CD8-Quotient von $1,8 \pm 0,7$ ordnet sich ebenso wie jener der Patiententiere der Gruppe 3 der vorliegenden Untersuchung mit $1,5 \pm 0,7$ zwischen die aus der Literatur bekannten Werte ein, die zwischen $1,3 \pm 0,3$ (BISHOP et al., 1992) und $3,3 \pm 1,4$ (HOFFMANN-FEZER et al., 1991) liegen. Bei den Patienten der Gruppe 1 hingegen ist er, verglichen mit der Kontrollgruppe, signifikant reduziert, was durch relativ hohe CD8- bei normalen CD4-Werten bedingt ist. Im Gegensatz dazu sind in der Gruppe 2, deren Quotient ebenfalls reduziert ist, sehr niedrige CD4-Werte als Ursache für den niedrigen Quotienten anzusprechen. Die Auswirkungen von akuten und chronischen FHV-1-Infektionen bei Katzen hinsichtlich möglicher Veränderungen der Lymphozytensubpopulationen sind nicht gut untersucht. So konnten REUBEL et al. (1992) nachweisen, daß es bei den von ihnen experimentell infizierten Katzen 7 Tage nach der FHV-1-Infektion im Rahmen einer Lymphopenie zu einem akuten Absinken sowohl der CD4- als auch der CD8-T-Lymphozytenzahl kam, so daß der CD4-CD8-Quotient unverändert blieb. Während im folgenden die Zahl der CD4-T-Lymphozyten unverändert blieb, wurde an Tag 14 p.i. ein Anstieg der CD8-Zellen um das Doppelte festgestellt, was ein Absinken des CD-CD8-Quotienten zur Folge hatte. Sowohl die absoluten Zahlen der Lymphozytensubpopulationen, als auch ihre Quotienten erreichten 3 - 4 Wochen p.i. wieder die mittleren Prä-Infektionswerte. Auch die Untersuchung von NASISSE et al. (1995) erbrachte keine signifikanten Unterschiede der relativen Prozentzahlen der Lymphozytensubpopulationen sowie der CD4-CD8-Quotienten zwischen 3 Katzensgruppen die experimentell FHV-infiziert und teilweise mit Kortison behandelt wurden.

Der Anteil der B-Lymphozyten bei den Kontrolltieren liegt mit $32,5 \pm 17,2$ % höher, als die von HOFFMANN-FEZER et al. (1991) mit $24,8 \pm 12,7$ und WALKER et al. (1994) mit $29,7 \pm 14,8$ angegebenen Werte, während sich diejenigen der Gruppen 1 und 2 unter denen der Kontrollgruppe und in den von anderen Autoren angegebenen Bereichen angesiedelt finden. Die in der Gruppe 3 gemessenen $41,8 \pm 10,6$ % liegen signifikant über den Werten der Gruppen 2 und 3 allerdings immer noch im Rahmen der Werte, die auch von anderen Autoren beschrieben wurden. So wurden die B-Lymphozyten von Katzen, bevor die Möglichkeit bestand, sie über farbstoffkonjugierte polyklonale Antikörper durchflußzytometrisch zu erfassen, mittels verschiedener anderer Techniken bestimmt. Die von GODDARD (1984) gegebene Übersicht über die verschiedenen Methoden und Ergebnisse zeigt eine relativ weite

Spannbreite auf: es wurden B-Lymphozytenzahlen bis zu 68 % bestimmt, wobei die meisten Werte zwischen 26 und 45 % lagen.

Eine offensichtliche Beziehung zwischen dem Anteil der B-Lymphozyten und dem Globulinanteil im Blutserum bzw. dem Albumin-Globulin-Quotienten ist nicht erkennbar. Zwar ist bei allen drei Patientengruppen der Globulinanteil erhöht und der Albumin-Globulin-Quotient erniedrigt, diese Veränderungen sind aber bei den Katzen der Gruppen 1 und 2, die vergleichsweise niedrige B-Zellzahlen aufweisen, stärker ausgeprägt als bei den Tieren der Gruppe 3, bei denen signifikant erhöhten B-Zellen niedrigere Globulinwerte und auch etwas höhere Albumin-Globulin-Quotienten gegenüberstehen.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse der Lymphozytensubpopulationen bei Katzen lassen keine "systematischen" Veränderungen erkennen, die für eine der Erkrankungsgruppen typisch gewesen wäre. Eine Ausnahme hiervon bildeten die Zahlen der B-Lymphozyten, die in der Gruppe der am schwersten erkrankten Tiere signifikant höher lagen als in den anderen Erkrankungsgruppen. In dieser Gruppe wies die überwiegende Zahl der Tiere relativ hohe Antikörpertiter gegen das FHV 1 auf, während die Coronavirustiter in dieser Gruppe niedriger lagen als in den Gruppen 1 und 2.

Auch der FeLV- und FIV-Status eines Tieres haben Auswirkungen auf seine Lymphozytensubpopulationen. So beobachteten TORTEN et al. (1991) wie auch BARLOUGH et al. (1991) nach experimenteller Infektion von SPF-Katzen mit dem FIV signifikante Verminderungen der CD4-Zellzahlen, sowie der CD4-CD8-Quotienten. Erniedrigungen der CD8-Zellen, wie sie von HIV-infizierten Menschen bekannt sind und auch von HOFFMANN-FEZER (1991) und BISHOP et al. (1992) bei FIV-positiven Katzen festgestellt wurden, konnten TORTEN et al. (1991) und auch BARLOUGH et al. (1991) nicht beobachten.

Die vier Katzen mit Retrovirusinfektionen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, zeigten im Prinzip gleichartige Veränderungen ihrer Lymphozytensubpopulationen, da sowohl bei den Pan T-Zellen als auch bei den B- und CD4-Zellen leichte Erhöhungen gegenüber dem Gruppenmittel zu verzeichnen waren.

Lediglich bei den CD8-Lymphozyten zeigt sich eine auffallende Erhöhung bei der FIV positiven Katze in der Gruppe 3, ein Befund, der ähnlich auch schon von anderen Untersuchern erhoben wurde (HOFFMANN-FEZER, 1991; BARLOUGH et al., 1991).

Da in dieser Arbeit insgesamt nur 3 Katzen mit FeLV- und 1 Tier mit einer FIV-Infektion in den verschiedenen Gruppen gefunden wurden, erfolgte keine statistische Auswertung der gewonnenen Daten.

Um eine Grundlage für aussagekräftige Untersuchungsergebnisse zu bekommen, wären Reihenuntersuchungen an gesunden Tieren verschiedener Rassen und Geschlechter, unterschiedlicher Altersstufen sowie an klinisch kranken Katzen mit klinisch genau definierten Krankheitsbildern wünschenswert.

Die teilweise starken Schwankungen der in der Literatur angegebenen "Normalwerte" ist zum Einen sicherlich in der unterschiedlichen Gruppenzusammensetzung begründet, die den jeweiligen Untersuchern zur Verfügung stand, zum Anderen waren auch die Vorbereitungs- und Analysemethoden unterschiedlich. Allgemein anerkannte Referenzwerte für die verschiedenen Subpopulationen gibt es bisher ebensowenig wie ein standardisiertes Aufbereitungsverfahren des Blutes, das von allen Untersuchern angewendet wird. Einige der oben aufgeführten Ergebnisse wurden nach Lymphozytenisolation durch Dichtegradientenzentrifugation gewonnen, andere Untersucher setzten verschiedene Verfahren der Erythrozyten-Lyse ein. Eine Übersicht über die von den verschiedenen Untersuchern verwendeten Verfahren bietet die Tabelle 41. Aus ihr geht hervor, daß jeder Untersucher ein oder mehrere unterschiedliche Verfahren zur Gewinnung oder Aufbereitung der Lymphozyten anwendete, was auch eine Erklärung für die teilweise stark voneinander abweichenden Ergebnisse bietet.

So untersuchte DEAN (1991) in seiner methodischen Arbeit nur die Lyse von EDTA-Blut und setzte kein Heparin ein, die Dichtegradientenzentrifugation wurde nur mit Ficoll-Hypaque und keinem anderen Antikoagulans als Heparin durchgeführt. Er konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen feststellen, die über die verschiedenen Methoden erzielt wurden. HOFFMANN-FEZER et al. (1991) und REUBEL et al. (1992) machten keine Angaben über die Art des eingesetzten Antikoagulans und WILLETT (1993) über die Art der Lyse des von ihm eingesetzten EDTA-Bluts.

Tabelle 41: Von verschiedenen Untersuchern eingesetzte Materialien und Methoden der Probenvorbereitung für die Durchflußzytometrie

| Untersucher | Antikoagulans | Methode |
|---|--------------------|---|
| NOVOTNEY et al. (1990): | EDTA | - Dichtegradientenzentrifugation (Histopaque, d = 1083 g/ml) |
| MILLER-EDGE und WORLEY (1991): | ACD | - Dichtegradientenzentrifugation (Ficoll Paque) |
| BARLOUGH et al. (1991): | ohne Antikoagulans | - Defibrinierung + Vollblut-Lyse (NH ₄ Cl) |
| DEAN et al. (1991): Vergleichende Untersuchung | Heparin | - Dichtegradientenzentrifugation (Ficoll-Hypaque) |
| HOFFMANN-FEZER et al. (1991): | EDTA | - Vollblut-Lyse (Coulter Q-Prep) |
| TOTH et al. (1992): Vergleichende Untersuchung | keine Angabe | - Dichtegradientenzentrifugation (Percoll d = 1076 g/ml) |
| | EDTA | - Dichtegradientenzentrifugation (Histopaque, d = 1077 g/ml / 1119 g/ml) |
| BISHOP et al. (1992): | Na-Citrat | - Vollblut-Lyse (NH ₄ Cl) |
| | | - Dichtegradientenzentrifugation (Lymphozytenisolationsmedium, d = 1077 g/ml) |
| VAHLENKAMP (1993) | EDTA | - Dichtegradientenzentrifugation (Lymphoprep, d = 1076 g/ml) |
| WILLETT et al. (1993): | EDTA | - Vollblut-Lyse, keine weiteren Angaben |
| WALKER et al. (1994): | EDTA | - Vollblut-Lyse (Lyse-Lösung, Fa. Becton Dickinson) |

Angesichts dieser Unterschiede in der Probenvorbereitung und sollten die bei kranken Katzen gemessenen Werte nur mit denen von gesunden Kontrolltieren verglichen werden, deren Zellen der gleichen Methode folgend vorbereitet und gemessen wurden. Vergleiche mit den Befunden anderer Untersucher sind nur statthaft, wenn vergleichbare Materialien und Methoden verwendet wurden und durch kontrollierte Ringversuche die Vergleichbarkeit der Meßergebnisse sichergestellt ist. Nach RENZI und GINNS (1987) wird die Interpretation der gemessenen T-Zell-Populationen von der Methode der Probenvorbereitung beeinflusst.

Um möglichst gut vergleichbare Ergebnisse zwischen verschiedenen Labors und auch verschiedenen Untersuchern innerhalb eines Labors zu erzielen, wäre deshalb eine Standardisierung der Probenvorbereitung sowie der Untersuchungsmethoden, wie sie auch

von DEAN et al. (1991) gefordert wurde, wünschenswert. So empfiehlt er in Übereinstimmung mit PAXTON et al. (1989):

- ⇒ EDTA als Antikoagulans der Wahl
- ⇒ Vollblutlyse einer Dichtegradientenzentrifugation zur Lymphozytengewinnung vorzuziehen
- ⇒ vor der Analyse aufgrund der Fluoreszenz der Zellen die Analysefelder festzulegen, dies erfolgt üblicherweise aufgrund der unterschiedlichen Anordnung der Zellen im Laserstreulicht aufgrund ihrer Größe und ihrer Granularität
- ⇒ daß Analysefelder weniger als 2 % negative Zellen in der positiven Region enthalten sollten
- ⇒ Doppelfärbungen der Zellen durchzuführen.

5.4. Lymphozytenproliferationstests

Im Rahmen der hier vorgestellten eigenen Untersuchungen wurden neben der Bestimmung der neutralisierenden Serumantikörper als Parameter der humoralen Immunität auch Lymphozytenproliferationstests als Parameter der zellulären Immunität bei Katzen durchgeführt. Hierzu wurde neben Con A als unspezifischem Stimulans auch inaktiviertes und virulentes FHV 1 als spezifisches Stimulans eingesetzt.

Die Untersuchungen der Stimulationen durch verschiedene FHV-1-Zubereitungen ergaben, daß durch die niedrigere FHVUV10-Konzentration signifikant bessere Ergebnisse erzielt wurden als durch UV50.

Zwischen den beiden Konzentrationen der FHV_F-Ansätze konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, die erzielten Mittelwerte lagen aber unter denen der FHV-1-UV10-Ansätze.

Die Mittelwerte der Ansätze mit virulentem FHV 1 lagen noch unterhalb derer der FHV_F-Ansätze, hier bestand eine stark negative Korrelation zur Konzentration des eingesetzten FHV. Tendenziell waren die Stimulationsergebnisse durch die beiden mittleren Konzentrationen am Besten.

Die spezielle Auswertung der positiv getesteten Katzen ergab, daß 50 % der Stimulationen durch formalininaktiviertes, 28 % durch UV-inaktiviertes und 21 % durch virulentes FHV 1 erzielt wurden, wobei der durchschnittlich erzielte SI pro Ansatz für formalin- geringgradig höher lag als für UV-inaktiviertes FHV 1 und dieses wiederum besser als virulentes FHV 1.

Unter den positiven Tieren wurden sowohl Fälle gefunden, die nur durch UV-inaktiviertes FHV 1 stimuliert wurden, als auch solche, die nur auf Formalin-inaktiviertes ansprachen. Eine Erklärung hierfür könnte die Tatsache darstellen, daß Lymphozyten unterschiedliche Antigene erkennen. Durch verschiedene Inaktivierungsarten können die antigenen Eigenschaften von Viren verändert werden, wie es LEVINGS (1984) für das BHV 1 beschrieb. Entsprechend können die Stimulationsreaktionen selbst auf Virus, zu dem die betreffenden Tiere bereits Kontakt hatten, unterschiedlich ausfallen.

REUBEL et al. (1992) stellten fest, daß die durch UV-inaktiviertes FHV 1 ausgelösten spezifischen Stimulationsreaktion der felines Lymphozyten insgesamt relativ schlecht waren. Eine Einschätzung, die sie mit COCKER et al. (1986) und THAM und STUDDERT (1987) teilten. Während nicht FHV 1 infizierte Katzen gar nicht auf das Antigen reagierten, konnten bei FIV-/FHV-1-infizierten Katzen deutlich höhere antigenspezifische Proliferationswerte erzielt werden als bei nur FHV-1-infizierten Tieren. Gleiches wurde auch von LAPPIN et al. 1991 (zitiert nach REUBEL et al., 1992) berichtet, der bei FIV-infizierten Katzen eine höhere antigenspezifische *Toxoplasma gondii*-Proliferation fand, als bei nicht FIV-infizierten Katzen.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu dem von OHNO et al. (1991) die postulierten, daß das FIV in vivo durch direkte Infektion und/oder indirekte Mechanismen zu einer Anergie der T-Zellen führt, die eine verminderte in vitro-Stimulationsfähigkeit durch Antigene und größere Empfänglichkeit für Sekundärinfektionen bewirkt. Diese unterschiedliche Beurteilung könnte dadurch bedingt sein, daß sich die Katzen zum Untersuchungszeitpunkt in unterschiedlichen Phasen der FIV-Infektion befunden haben, die analog zur Klassifizierung der Stadien bei der HIV-Infektion des Menschen ebenfalls in 5 Stadien eingeteilt wird. Nach ISHIDA und TOMODA (1990) und PEDERSEN und BARLOUGH (1991) wird das "Akutstadium" gefolgt von dem des "Asymptomatischen Trägers" (AC) und den Stadien der "Persistierenden generalisierten Lymphadenopathie" (PGL) dessen Existenz allerdings von ISHIDA und TOMODA in Frage gestellt wird, des "Aids-related-complex" (ARC) und als Endstadium dem "AIDS". Neben diesen klassischen 5 Stadien beschreiben PEDERSEN und BARLOUGH (1991) das Vorkommen von FIV-abhängigen Erkrankungen, deren Symptome wie neurologische Ausfallserscheinungen, entzündliche Erkrankungen der Augen, unspezifische

Nephropathien u.a. zwar auch in ARC und AIDS-Stadien beobachtet werden, sonst aber nicht immer in das klinische Staging passen.

Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Daten bestätigen weitestgehend die von REUBEL et al. (1992) genannten Ergebnisse. Es fiel auch in dieser Untersuchung auf, daß gerade die FeLV- und FIV-infizierten Katzen die höchsten Stimulationsergebnisse gegen das FHV 1 erbrachten, während bei den meisten anderen Tieren nur relativ niedrige Werte beobachtet wurden. In der Kontrollgruppe der gesunden, geimpften Katzen wurden bei 5 von insgesamt 15 Tieren Stimulationsreaktionen gefunden. Bei einem Tier, der Katze Nr. 7, wurden sehr hohe Werte sowohl durch UV-, Formalin- und auch durch nicht inaktiviertes FHV 1, aber keine neutralisierenden Antikörper im Serum gefunden. Da ähnlich hohe Werte bei keinem anderen Tier in der Studie gemessen wurden, ist es unwahrscheinlich, daß sie nur als Impfreaktion anzusehen sein sollen. Vielmehr erscheint es, als ob diese Katze sich in der Frühphase einer Infektion befindet, aber noch keine Serokonversion durchgemacht hat. Eine weitere Möglichkeit wäre, daß die betreffende Katze bereits einmal eine FHV-1-Infektion durchgemacht hat und nun zu jenen Katzen gehört, die sich mit FHV 1 latent infiziert haben, ohne eine Serokonversion zu zeigen, was bereits von GASKELL und POVEY (1979b) beschrieben wurde, oder die Serumantikörper wären bereits wieder unter die Nachweisgrenze abgefallen.

Die Möglichkeit des latenten Trägertums wurde bereits in den Untersuchungsergebnissen von THAM und STUDDERT (1987) beschrieben. Diese hatten festgestellt, daß die Lymphozyten nur geimpfter Katzen nicht auf Stimulation mit inaktiviertem FHV 1 reagierten. Erst nach einer Belastungsinfektion zeigten sich positive Ergebnisse in den Stimulationstests. Gegensätzliche Ergebnisse hierzu beobachteten RUTTGEN et al. (1990) bei 9 von 12 gegen BHV 1 geimpften Rindern, die Reaktionen in spezifischen Proliferationstests zeigten.

Die weiteren vier Katzen der Kontrollgruppe, die positive Stimulationswerte zeigten, wiesen Stimationsindizes zwischen 5,0 und 7,0 auf. Diese niedrigeren Werte könnten z.B. den Memoryeffekt der geimpften Katzen widerspiegeln, aber auch auf einer Kontaktinfektion durch das vermutlich FHV-1-infizierte Tier Nr. 7 beruhen. Eine Klärung dieses Sachverhalts könnte durch eine wiederholte Testung der Katzen mit gleichzeitigen Versuchen der Virusisolation oder des Virusantigennachweises mittels PCR versucht werden.

Im Rahmen der hier vorgestellten eigenen Untersuchungen wurde auch nicht inaktiviertes FHV 1 in verschiedenen Konzentrationen zur Stimulation der Felines Lymphozyten

eingesetzt. In der Literatur wurden bisher keine Lymphozytenproliferationstests mit nicht inaktiviertem FHV 1 bei feline Lymphozyten beschrieben.

Bei Rindern wurde in einzelnen Untersuchungen die Auswirkung von nicht inaktiviertem BHV 1 auf die Stimulationsfähigkeit boviner Lymphozyten dargestellt (CARTER et al., 1989) oder eine direkte Stimulation durch das BHV untersucht (RUTTGEN et al., 1990).

CARTER et al. (1989) stellten fest, daß durch Zugabe von nicht inaktiviertem BHV 1 zu Lymphozyten von ungeimpften Rindern, die vorher niemals Kontakt zu BHV 1 hatten, die Stimulationsfähigkeit der Lymphozyten abnahm. Sie postulierten als Ursache hierfür eine nichtproduktive Infektion der Lymphozyten, die zwar zu keinem Absterben der Zellen führte, aber ihre Aktivität veränderte.

RUTTGEN et al. (1990) wollten die von LEVINGS et al. (1984) beschriebenen Auswirkungen von Inaktivierungsprozessen auf das BHV-1-Antigen umgehen und setzten aus diesem Grund virulentes BHV 1 in ihren Testungen ein. Sie konnten bei 17 von 36 mit Feldvirus infizierten Rindern und bei 9 von 12 geimpften Tieren Stimulationsreaktionen feststellen und postulierten, daß positive Stimulationsergebnisse durch lebendes BHV 1 nur bei den Rindern auftreten, die sich auch in vivo aktiv und effizient mit dem Virus auseinandersetzen.

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob einzelne der verschiedenen inaktivierten FHV-1-Zubereitungen Vorteile gegenüber anderen bieten. Das UV-inaktivierte FHV 1 zeigte zwar in der Stimulation höhere Mittelwerte, in der speziellen Auswertung lag es jedoch mit knapp einem Drittel der Stimulationsreaktionen hinter dem formalininaktivierten FHV 1, das für 50 % der Stimulationen verantwortlich war. Da das formalininaktivierte Virus während der Aufbereitung nach Dialyse und Ultrazentrifugation nur in der Hälfte des ursprünglichen Mediums resuspendiert wurde, lag es in doppelt so hoher „TCID 50“ vor wie das UV-inaktivierte FHV 1. In weiteren Versuchen müßte geprüft werden, ob UV-inaktiviertes FHV 1 mit noch höherem „TCID 50“ eventuell auch mehr Stimulationsreaktionen auslöst. Bei gleicher Effektivität der Stimulation wäre die UV-Inaktivierung deutlich weniger arbeitsintensiv, da hier die Arbeitsschritte der Formalininkubation, Dialyse und Pelletierung durch Ultrazentrifugation wegfallen. Das virulente FHV 1 war für ca. 21 % der Stimulationsreaktionen verantwortlich. Sein Einsatz als Antigen bedingt keinen großen Arbeitsaufwand, da ja die Inaktivierungs- und Aufreinigungsverfahren zu einem großen Teil wegfallen. Stimulationsreaktionen durch virulentes FHV 1 wurden nur bei Probanden

beobachtet, die auch auf formalinaktiviertes FHV reagierten und zusätzlich an einer Retrovirusinfektion litten. Hier müßte an einer größeren Patientenzahl überprüft werden, ob dieses Phänomen regelmäßig auftritt und welche Faktoren dafür verantwortlich sind. Prinzipiell sind aber auch Stimulationen mit virulentem FHV 1 bei Katzen möglich.

Sowohl für die FIV- als auch für die FeLV-Infektion wird eine Immunsuppression postuliert, die die betroffenen Katzen empfänglicher für weitere Infektionen macht (HARDY und McCLELLAND, 1977, HARDY, 1981, HARDY und ESSEX, 1986, HARTMANN und KRAFT, 1993). Diese Immunsuppression ist ein bisher nur unzureichend geklärtes Phänomen, an dem sowohl zelluläre als auch humorale Faktoren beteiligt sind. So konnten bei FeLV-Infektionen Erniedrigungen der Serumkomplementspiegel festgestellt werden (HARDY und ESSEX, 1986), während LAWRENCE et al. (1992) und auch LEHMANN et al. (1992) nach experimenteller FIV-Infektion aber auch nach FeLV-Impfung und Belastungsinfektion eine Erhöhung des Tumor-Nekrose-Faktors messen konnten. Eine reduzierte Stimulierbarkeit von Blutlymphozyten FIV-infizierter Katzen durch Mitogene wurde von LAWRENCE et al. (1992) und auch HARA et al. (1990) beobachtet und vermuteten, daß die Reaktivität feline Lymphozyten den Schweregrad der Erkrankung widerspiegeln.

In den eigenen Untersuchungen der hier vorgelegten Arbeit konnte festgestellt werden, daß diejenigen Tiere, die an einer Retrovirusinfektion litten, deutlich stärker als die übrigen Katzen auf Stimulationen mit FHV-Antigen reagierten. Ein Grund hierfür könnte sein, daß sie als einzige FHV-infiziert waren, während die übrigen Katzen an einer anderen Infektion (FCV, Chlamydien, Mykoplasmen o.a.) litten. Weiterhin wäre auch denkbar, daß die nicht reagierenden Katzen eine Phase der Virusausscheidung durchmachten. GODDARD (1984) konnte bei zwei von drei FHV-infizierten Katzen, die Virus ausschieden, Erniedrigungen der FHV-1-spezifischen Proliferationswerte feststellen, während es nach dem Ende der Virusausscheidung zu einem signifikanten Anstieg der Proliferationswerte kam. Weiterhin könnte ein zu diesem Zeitpunkt stark aktiviertes Immunsystem der FIV- oder FeLV-infizierten Katzen zu diesen deutlichen Reaktionen geführt haben, oder aber durch eine erhöhte Aktivität der Suppressorzellen bei den anderen Katzen eine schwächere Reaktion bedingt worden sein. Auch andere Parameter, die im Rahmen dieser Untersuchung nicht erfaßt wurden, könnten die Testergebnisse beeinflussen.

Für die hier vorgelegte Untersuchung kann keine der Möglichkeiten ausgeschlossen werden, da bei den Probanden kein Virusnachweis geführt, sondern lediglich als Bestandsscreening die Antikörpertiter aller Katzen überprüft wurden.

Nach KRISTENSEN et al. (1982) muß die Beurteilung immunologischer Parameter sehr vorsichtig erfolgen, da die Testergebnisse durch Alter, Geschlecht, Streßfaktoren, Gesundheitsstatus und andere Variablen beeinflußt werden. Mögliche weitere Schritte zur Klärung der unterschiedlichen Reaktionen wären Untersuchungen, ob es dieselben Zellpopulationen sind, die auf die unterschiedlich inaktivierten FHV-Antigene reagieren und falls von der Proliferation her keine Unterschiede auffallen, ob eventuelle Differenzen in der Zytokinausstattung bzw. -produktion bestehen.

Im Rahmen der Auseinandersetzung zwischen einem Individuum und einem Pathogen sind sowohl Memory- als auch Effektorzellen notwendig, die durch ein optimales Zusammenspiel die Immunreaktion des Körpers gestalten, und nach SHERIDAN (1982) wird in Lymphozytenproliferationstests eher eine Memoryfunktion der Zellen als eine Effektorfunktion nachgewiesen. Er stellte fest, daß bei Menschen während verschiedener akuter Stadien rekurrierender HSV-2-Infektionen die Stimulationsergebnisse durch inaktiviertes Virus gleich hoch ausfielen, aber Unterschiede in der Lymphokinproduktion wie auch bei der Zahl der CD8-Blutlymphozyten zu beobachten sind. Er postulierte, daß diese Zellen durch Suppression der anamnesticen Effektorantwort das erneute Auftreten von Symptomen begünstigen und weniger eine zytotoxische Funktion ausüben. Eine weitergehende Untersuchung auf den Zelltyp hin, der proliferierte, wurde nicht getroffen.

MILLER-EDGE und WORLEY (1991) konstatierten, daß der überwiegende Teil der Proliferationsreaktionen von der CD4-Subpopulation getragen wird, und auch DENIS et al. (1994) konnten für die BHV-1-Infektion feststellen, daß die anti-BHV-1-spezifische Proliferation von bovinen Blutlymphozyten eindeutig den CD4+-Lymphozyten zuzuordnen ist. Nach Depletion der CD4+-Lymphozyten mittels spezifischer Antikörper waren nur noch minimale Stimationsreaktionen zu messen, die ebenso niedrig lagen, wie bei unstimulierten Zellen. Die Abtrennung der CD8+-Lymphozyten, der B-Lymphozyten, der T-Zell-Rezeptor tragenden Zellen oder auch der adhärierenden Zellen der Monozyten-/Makrophagen-Reihe bewirkte keine signifikanten Verminderungen der Stimulation und auch durch Zugabe von Interleukin 2 konnte keine verstärkte spezifische Stimulation der CD4- Zellen erreicht werden.

Diese Hypothesen berühren auch die Problematik rekurrierender FHV-1-Infektionen, die in dieser Studie bearbeitet wurde. So konnte in dieser Studie bei kranken Katzen mit verschiedenen Schweregraden einer Katzenschnupfeninfektion neben einer signifikanten Erhöhung der B-Lymphozyten in der Gruppe der am schwersten erkrankten Tiere lediglich in der Gruppe der Katzen mit einer minderschweren Symptomatik eine Reduktion der CD4-

Lymphozyten und des CD4-CD8-Quotienten festgestellt werden. Ob sich die betreffenden Tiere in einer Phase der Immunimbalance befanden, die eventuell das Wiederaufflackern einer latenten Infektion zur Folge haben könnte, oder ob es sich lediglich um normale Schwankungen handelte, konnte in dieser Untersuchung nicht festgestellt werden, da nur Einmaluntersuchungen bei den Katzen durchgeführt wurden.

Um die immunologischen Abläufe zu klären, die über die Entstehung und den Verlauf einer FHV-1-Erkrankung mitentscheiden, sind weitere Untersuchungen notwendig. Diese sollten neben den Proliferationstests als Verfahren, welche Aussagen über die Memoryfunktion treffen, auch Untersuchungen über Effektorfunktion und -qualität der Immunantwort beinhalten und auch die Anteile der unspezifischen Immunität nicht unberücksichtigt lassen, um durch die Verknüpfung verschiedener immunologischer Parameter verbesserte Aussagen über die Zusammenhänge im Ablauf einer FHV-1-Infektion treffen zu können.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnten bei 30 Katzen mit einer Katzenschnupfensymptomatik, die aufgrund ihres klinischen Befindens in drei verschiedene Krankheitsgruppen eingeteilt wurden, Unterschiede bei verschiedenen hämatologischen, serologischen und immunologischen Parametern herausgearbeitet werden.

Die mittleren Leukozytenwerte aller Patientengruppen lagen signifikant höher als jene der Kontrolltiere, aber nicht sehr hoch oberhalb des Referenzbereichs der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I.

Unter den kranken Katzen lag der Anteil der FeLV-positiven Katzen bei 10 % (3/30). Es wurde nur ein FIV-positives Tier gefunden, Doppelinfektionen kamen nicht vor, während unter den Kontrolltieren keine Retrovirusinfektionen nachgewiesen wurden. Die Katzen aller 4 Gruppen wiesen positive FCoV-Titer auf, die mit $p < 0,05$ statistisch schwach signifikante Unterschiede aufwiesen. In der Abstufung der Mittelwerte lag die Gruppe 3 mit den am schwersten erkrankten Tieren vor der Gruppe 2 mit nur leichten Katzenschnupfensymptomen, der Gruppe 1 mit den zur Zeit nicht klinisch kranken Katzen, die aber früher bereits Katzenschnupfensymptome gezeigt hatten, und der Gruppe mit den gesunden Kontrolltieren.

Die Untersuchung auf neutralisierende Antikörper gegen das FHV 1 ergab positive Titer bei 33 % (5/15) der Kontrollkatzen, 57 % (4/7) der asymptomatischen Katzen, 72 % (8/11) bei den Tieren mit einer leichteren Symptomatik sowie 81,8 % (9/11) in der Gruppe der klinisch schwer kranken Katzen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren mit $p < 0,05$ schwach signifikant. Auch hier wurden die niedrigsten Mittelwerte in der Kontrollgruppe gefunden, ansonsten war die Reihung genau umgekehrt, denn es folgten die Gruppe 1, Gruppe 2 und die Gruppe 3.

Die Immunphänotypisierung der Lymphozytensubpopulationen ergab für die Pan T-, sowie die CD8-markierten Zellen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Der prozentuale Anteil der CD4-Zellen der Katzen der Gruppe 1 lag etwas niedriger als jener der Kontrollgruppe, während in der Gruppe 2 signifikant niedrigere Werte als in den übrigen Gruppen gefunden wurden.

Der mittlere CD4-CD8-Quotient der Katzen aus der Gruppe 2 lag unter denen aller anderen Gruppen, wobei sich der Unterschied zur Kontrollgruppe mit $p < 0,01$ als signifikant und zur Gruppe 1 mit $p < 0,05$ als schwach signifikant darstellt.

Die B-Lymphozytenzahlen der am schwersten erkrankten Katzen der Gruppe 3 waren gegenüber allen Gruppen deutlich erhöht, und zwar gegenüber den Katzen der Gruppe 1 mit $p < 0,01$ signifikant, gegenüber der Gruppe 2 mit $p < 0,05$ schwach signifikant

Die durchgeführten Lymphozytenproliferationstests ergaben, daß alle eingesetzten FHV-1-Zubereitungen bei den Lymphozyten einiger Katzen antigene Wirkung zeigten und Proliferationsreaktionen auslösten. Die meisten positiven Reaktionen wurden durch formalininaktiviertes Virus induziert. Durch formalininaktiviertes FHV 1 ausgelöste Reaktionen waren im Durchschnitt geringgradig höher als jene, die durch UV-inaktiviertes Virus ausgelöst wurden, während durch virulentes FHV 1 nur bei Katzen Reaktionen erzielt wurden, die auch auf formalininaktiviertes Virus reagierten und die zusätzlich unter einer Retrovirusinfektion litten.

Während in der Kontrollgruppe 5/15 Katzen positive Stimulationsindizes nach Stimulation mit den verschiedenen FHV-1-Zubereitungen zeigten, wurde in der Gruppe 1 (der zur Zeit klinisch gesunden Katzen) keine Stimulationsreaktion (0/7 Tieren) durch eine FHV-1-Zubereitung ausgelöst.

In der Gruppe 2 (die Katzen mit leichterem Schnupfensymptomatik) wurde bei 4/11 Tieren und in der Gruppe 3 (den schwerer kranken Katzen) bei 5/12 Katzen positive Stimulationsindizes gefunden.

Insgesamt gesehen waren die Stimulationsreaktionen auf die eingesetzten FHV-1-Zubereitungen relativ niedrig. Weder die Höhe der gefundenen Stimulationsindizes noch die Reaktion auf eine der Zubereitungen waren spezifisch für eine Zuordnung zu einer der drei Patientengruppen mit Ausnahme der Reaktionen auf nicht inaktiviertes FHV 1, die nur bei FeLV- oder FIV-positiven Katzen gefunden wurden.

Als Gesamtergebnis der vorgelegten Arbeit kann festgehalten werden, daß die bei den Katzen durchgeführten Einmaluntersuchungen sowohl klinischer als auch labordiagnostischer Parameter Unterschiede zwischen, aber auch innerhalb der einzelnen Gruppen aufzeigten. Hieraus ergeben sich Ansatzpunkte, um in folgenden Studien bei Katzen erweiterte Verlaufsuntersuchungen durchzuführen.

7. Summary

On the basis of their clinical presentation thirty cats with symptoms of an upper respiratory infection were grouped into three disease groups. Various hematologic, serologic and immunologic parameters were determined and observed differences are discussed in this thesis.

The leukocyte counts in all three patient groups were significantly higher than those of control animals. However, the values were not markedly raised above the reference values given in Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I.

Ten percent (3/30) of the sick cats tested positive for Feline Leukemia Virus (FeLV) and one cat was found to be positive for Feline Immunodeficiency Virus (FIV), but no double infections were found. In the control group of cats, neither retrovirus was detectable. Cats of all four groups had positive titers for Feline Enteric Coronavirus (FCoV). The differences in titers were weakly significant with $p < 0.05$. When the mean values were ordered, the third group, cats with severe symptoms of upper respiratory disease, came in front of the second group, cats with only mild symptoms, and the first group, cats currently clinically healthy but with a previous history of upper respiratory disease, and finally the control group, healthy cats.

The neutralizing antibody titers for Felid Herpesvirus 1 (FHV-1) were determined. Only thirty three percent (5/15) of the cats in the control group had positive titers, compared to fifty seven percent (4/7) of the asymptomatic cats, seventy two percent (8/11) of the cats with mild symptoms of upper respiratory disease and eighty two percent (9/11) of the severely sick cats. The variations found were weakly significant with $p < 0.05$. Again, the lowest mean value was found in the control group. Otherwise the order of the mean values was reversed, in that group one, group two and group three followed.

The phenotype of lymphocyte subpopulations was analysed and no significant differences for pan T- and CD8-cells were found in the different groups of cats.

All cats in group two had a lower mean CD4-CD8 ratio compared to any of the other cats. The difference to the control group was found to be significant with $p < 0.01$ and weakly significant to group one with $p < 0.05$.

Cats with severe disease in group three had the highest number of B cells compared to all other groups of cats. The increase in B-cells was significant or weakly significant since

comparison with cats from group one showed $p < 0.01$ and with cats from group two $p < 0.05$, respectively.

The antigenic effect of various preparations of FHV-1 was tested through a lymphocyte proliferation assay. Lymphocytes from some cats reacted to all types of FHV-1 preparations tested. Formalin-inactivated virus induced the highest positive reactions, and these values were found to be slightly higher than those seen with UV-inactivated virus. Virulent FHV-1 acted only as a stimulant on lymphocytes isolated from cats infected with a retrovirus and whose lymphocytes had also shown reactivity to formalin-inactivated virus.

While lymphocytes from 5/15 control cats reacted positively after stimulation with the different FHV-1 preparations, none (0/7) of the group one lymphocytes (isolated from clinically healthy cats) could be stimulated with any FHV-1 preparation. In group two (cats with mild disease), lymphocytes from 4/11 cats responded to the FHV-1 stimulus, and in group three (severely sick cats) lymphocytes from 5/12 cats reacted positively to FHV-1.

In general, all proliferation assays produced relatively low values. Neither the magnitude of the stimulation indices nor the response to the type of FHV-1 preparation was specific for any of the three patient groups. The only exception was the reaction to non-inactivated FHV-1, which only occurred in cats either positive for FeLV or FIV.

In summary, in single examinations of four different groups of cats a wealth of clinical as well as of laboratory diagnostic parameters were collected. Differences were observed not only between the different groups of cats but also within each group of cats. The findings will allow the design of future long-term studies of cats with symptoms of an upper respiratory infection.

8. Literatur

ACKLEY, C.D.; HOOVER, E.A.; COOPER, M.D. (1990):

Identification of a CD4 homologue in the cat.

Tissue Antigens 35, 92 - 98

AMERICAN ASSOCIATION OF FELINE PRACTITIONERS (2000):

Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine
Advisory Panel on Feline Vaccines

Internet, <http://www.aafponline.org/about/guidelines.htm>, 8

BAKER, J.A. (1942):

A virus obtained from a pneumonia of cats and its possible relation to the cause of atypical pneumonia in man.

Science 96, 475 - 476

BAKER, J.A. (1944):

A virus causing pneumonia in cats and producing elementary bodies.

J. Exp. Med. 79, 159 - 170.

BARLOUGH, J.E.; ACKLEY, C.D.; GEORGE, J.W.; LEVY, N.; ACEVEDO, R.; MOORE, P.F.; RIDEOUT, B.A.; COOPER, M.D.; PEDERSEN, N.C. (1991):

Acquired immune dysfunction in cats with experimentally induced feline immunodeficiency virus infection: comparison of short-term and long-term infections.

Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes 4, 219 - 227

BARTHOLOMEW, P.T.; GILLESPIE, J.H. (1968):

Feline viruses. I. Characterization of four isolates and their effect on young kittens.

The Cornell Veterinarian 58, 248 - 265

BECH-NIELSEN, S.; FULTON, R.W.; COX, H.U.; HOSKINS, J.B., MALONE, J.B.Jr.; McGrath, R.K. (1980):

Feline respiratory tract disease in Louisiana.

Am. J. Vet. Res. 41 (8), 1293 - 1298

BISHOP, S.A.; WILLIAMS, N.A.; GRUFFYDD-JONES, T.J.; HARBOUR, D.A.; STOKES, C.R. (1992):

An early defect in primary and secondary T-cell-responses in asymptomatic cats during acute feline immunodeficiency virus (FIV) infection.

Clin. exp. Immunol. 90, 491 - 496

BISTNER, S.I.; CARLSON, J.H.; SHIVLEY, J.N.; SCOTT, F.W. (1971):

Ocular manifestations of feline herpesvirus infection.

J.A.V.M.A. 159, 1223 - 1237

BITTLE, J.L.; YORK, C.J.; NEWBERNE, J.W.; MARTIN, M. (1960):

Serologic relationship of new feline cytopathogenic viruses.

Am. J. Vet. Res. 21, 547 - 550

BITTLE, J.L.; PECKHAM, J.C. (1971):

Comments: Genital infection induced by feline rhinotracheitis virus and effects on newborn kittens.

J.A.V.M.A. 158, 927 - 928

BITTLE, J.L.; RUBIC, W.J. (1974):

Studies of feline viral rhinotracheitis vaccine.

Vet. Med. small Anim. Clin. 69, 1503 - 1505

BITTLE, J.L.; RUBIC, W.J. (1975):

Immunogenic and protective effects of the F-2 strain of feline viral rhinotracheitis virus.

Am. J. Vet. Res. 36, 89 - 91

BITTLE, J.L.; RUBIC, W.J. (1976):

Immunization against feline calicivirus infection.

Am. J. Vet. Res. 37, 275 - 278

BONIN, O. (1973):

Errechnung des Titers einer Infektionskrankheit.

In: Bonin, Otto: Quantitativ virologische Methodik, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 183

BREHAUT, L.; JONES, R.H.; McEWAN, P.J.; MILES, J.A.R. (1969):

Viruses associated with feline respiratory disease in Dunedin.

N. Z. Vet. J. 17, 82 - 86

BÜRKI, F.; LINDT, S.; FREUDIGER, U. (1964):

Enzootischer, virusbedingter Katzenschnupfen in einem Tierheim. 2. Mitteilung:
Virologischer und experimenteller Teil.

Zentralblatt für Veterinärmedizin B 11, 110 - 118

BÜRKI, F. (1965):

Picornaviruses of cats.

Archive für die gesamte Virusforschung 15, 690 - 695

BURGENER, D.C.; MAES, R.K. (1988):

Glycoprotein-specific immune response in cats after exposure to feline herpesvirus-1.

Am. J. Vet. Res. 49 (10), 1673 - 1676

BURROUGHS, J.N.; BROWN, F. (1974):

Physico-chemical Evidence for the Re-classification of the Caliciviruses.

J. gen. Virol. 22, 281 - 286

CARTER, J.J.; WEINBERG, A.D.; POLLARD, A.; REEVES, R.; MAGNUSON, J.A.;
MAGNUSON, N.S. (1989):

Inhibition of T-Lymphocyte Proliferative Responses and Effects on Cell Functions by Bovine Herpesvirus 1.

Journal of Virology 63 (4), 1525 - 1530

CELLO, R.M. (1971):

Microbiological and immunological aspects of feline pneumonitis.

J.A.V.M.A. 158, 932 - 938

COCKER, F.M.; HOWARD, P.E.; HARBOUR, D.A. (1987):

Effect of human α -hybrid interferon on the course of feline viral rhinotracheitis.

Vet. Rec. 120, 391 - 393

COCKER, F.M.; NEWBY, T.J.; GASKELL, R.M.; GASKELL, C.J.; STOKES, C.R.;
HARBOUR, D.A.; BOURNE, J.F. (1986):

Responses of cats to nasal vaccination with a live, modified feline herpesvirus type 1.

Res. Vet. Sci. 41, 323 - 330

COCKERELL, G.L.; HOOVER, E.A.; LoBUGLIO, A.F.; YOHN, D.S. (1975):

Phyтомитоген- and antigen-induced blast transformation of feline lymphocytes.

Am. J. Vet. Res. 36 (10), 1489 - 1494

COE CLOUGH, N.E.; ROTH, J.A. (1995):

Methods for assessing cell-mediated immunity in infectious disease resistance and in the development of vaccines.

J.A.V.M.A. 206 (8) 1208 - 1216

CRANDELL, R.A. (1973):

Feline viral rhinotracheitis (FVR).

Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 17, 201 - 224

CRANDELL, R.A.; DESPEAUX, E.W. (1959):

Cytopathology of feline viral rhinotracheitis virus in tissue cultures of feline renal cells.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 494 - 497

CRANDELL, R.A.; GANAWAY, J.R.; NIEMANN, W.H.; MAURER, F.D. (1960):

Comparative Study of Three Isolates with the Original Feline Viral Rhinotracheitis Virus.

Am. J. Vet. Res. 21, 504 – 506

CRANDELL, R.A.; MADIN, S.H. (1960):

Experimental studies on a new feline virus.

Am. J. Vet. Res. 21, 551 - 556

CRANDELL, R.A.; MAURER, F.D. (1958):

Isolation of a feline virus associated with intranuclear inclusion bodies.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97, 487 - 490

CRANDELL, R.A.; REHKEMPER, J.A.; W.H.; GANAWAY, J.R.; MAURER, F.D. (1961):

Experimental feline viral rhinotracheitis.

J.A.V.M.A. 138, 191 - 196

CRANDELL, R.A.; WEDDINGTON, G.R. (1967):

Effects of nucleic acid analogues on the multiplication and cytopathogenicity of feline viral rhinotracheitis virus in vitro.

Cornell Vet. 57, 38 - 42

CSIZA, C.K.; de LAHUNTA, A.; SCOTT, F.W.; GILLESPIE, J.H. (1972):

Spontaneous feline ataxia.

Cornell Vet. 62, 300

DAVIS, E.V.; BECKENHAUER, W.H. (1976):

Studies on the safety and efficacy of an intranasal feline rhinotracheitis-calici virus vaccine.

Vet. Med. small Anim. Clin. 71, 1405 - 1410

DEAN, G.A.; QUACKENBUSH, S.A.; ACKLEY, C.D.; COOPER, M.D.; HOOVER, E.A. (1991):

Flow cytometric analysis of T-lymphocyte subsets in cats.

Veterinary Immunology and Immunopathology 28, 327 - 335

DENIS, M.; KAASHOEK, M.J.; VAN OIRSCHOT, J.T.; PASTORET, P.-P.; THIRY, E. (1994):

Quantitative assessment of the specific CD4+ T lymphocyte proliferative response in bovine herpesvirus 1 immune cattle.

Veterinary Immunology and Immunopathology 42, 275 - 286

DITCHFIELD, J.; GRINYER, I. (1965):

Feline rhinotracheitis virus: a feline herpesvirus.

Virology 26, 504 - 506

DIXON, W.J. (1993):

BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2.

University of California Press, Berkley, Los Angeles, London

EDWARDS, B.G.; BUELL, D.J.; ACREE, W.M. (1977):

Evaluation of a new feline rhinotracheitis virus vaccine.

Vet. Med. small Anim. Clin. 72, 205 - 209

EIKMEIER, H. (1986):

Infektionen des Respirationsapparates der Katzen, Katzenschnupfen, Katzenstaupe, Virusschnupfen, Rhinotracheitis.

In: Eikmeier, H.: Therapie innerer Krankheiten der Haustiere, 3. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 189

ELLIS, T.M. (1981):

Feline respiratory virus carriers in clinically healthy cats.

Aust. Vet. J. 57, 115 - 118

ELLIS, T.M. (1982):

Feline viral rhinotracheitis virus: explant and cocultivation studies on tissue collected from persistently infected cats.

Res. Vet. Sci. 33, 270 - 274

FASTIER, L.B. (1957):

A new feline virus isolated in tissue culture.

Am. J. Vet. Res. 18, 382 - 389

FINDIK, A. (1994):

Zellkulturelle Isolierung zytopathogener Virusarten (felines Herpesvirus, felines Calicivirus) von Patienten mit Katzenschnupfen-Komplex und die Behandlung herpesvirusassoziierter Erkrankungen mit Aciclovir.

Vet. Diss., Hannover

FLAGSTAD, A. (1973):

Experimental picornavirus infection in cats.

Acta vet. scand. 14, 501 - 510

FORD, R.B.; LEVY, J.L. (1994):

Infectious diseases of the respiratory tract.

In: Sherding, R.G.: The Cat, diseases and clinical management. 2. Auflage, Churchill Livingstone Inc, New York, 489 - 500

FULTON, R.W.; BURGE, L.J. (1985):

Susceptibility of feline herpesvirus 1 and a feline calicivirus to feline interferon and recombinant human leukocyte interferons.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 28, 698 - 699

GASKELL, R.M. (1986):

An update on feline upper respiratory disease (URD).

Vet. Annual 26, 318 - 323

GASKELL, R.M.; DENNIS, P.E.; GODDARD, L.E.; COCKER, F.M.; WILLS, J.M. (1985):
Isolation of felid herpesvirus I from the trigeminal ganglia of latently infected cats.
J. gen. Virol. 66, 391 - 394

GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1973):
Re-excretion of feline viral rhinotracheitis virus following corticosteroid treatment.
Vet. Rec. 93, 204 - 205

GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1977):
Experimental induction of feline viral rhinotracheitis virus re-excretion in FVR-recovered cats.
Vet. Rec. 100, 128 - 133

GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1979a):
The dose response of cats to experimental infection with feline viral rhinotracheitis virus.
J. Comp. Pathol. 89, 179 - 191

GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1979b):
Feline viral rhinotracheitis: sites of virus replication and persistence in acutely and persistently infected cats.
Res. Vet. Sci. 27, 167 - 174

GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1982):
Transmission of feline viral rhinotracheitis.
Vet. Rec. 111, 359 - 362

GASKELL, R.M.; WARDLEY, R.C. (1977):
Feline respiratory disease: a review with particular reference to its epizootiology and control.
J. small Anim. Pract. 19, 1 - 16

GILLESPIE, J.H.; SCOTT, F.W. (1973):

Feline viral infections: III. Feline Calicivirus (FCV) Infection; IV. Feline Reovirus (FRV) Infection.

Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 17, 176 - 188, 188 - 191

GODDARD, L.E. (1984):

Immunological studies during acute and latent felid herpesvirus 1 infection.

PhD Thesis, Bristol

HARA, Y.; ISHIDA, T.; EJIMA, H.; TAGAWA, M.; MOTOYOSHI, S.; TOMODA, I.; SHIMIZU, M.; SHICHINOHE, K. (1990):

Decrease in mitogen-induced lymphocyte proliferative response in cats infected with feline immunodeficiency virus.

Jpn. J. Vet. Sci. 52 (3) 573 - 579

HARBOUR, D.A.; HOWARD, P.E.; GASKELL, R.M. (1991):

Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats 1980 to 1989.

Vet. Rec. 128, 77 - 80

HARDER, T.C.; FINDIK, A.; NOLTE, I.; LIESS, B. (1994):

Untersuchung zum Spektrum viraler Erreger im Rahmen des Katzenschnupfen-Komplexes.

Kleintierpraxis 39 (2), 93 - 106

HARDY, W.D. Jr. (1981):

Feline leukemia virus non-neoplastic diseases.

J.A.A.H.A. 17, 941 - 949

HARDY, W.D.Jr.; ESSEX, M. (1986):

FeLV-Induced Feline Acquired Immune Deficiency Syndrome.

Prog. Allergy 37, 353 - 376

HARDY, W.D.; McClelland, A.J. (1977):

Feline leukemia Virus. Its Related Diseases and Control.

Veterinary Clinics of North America 7 (1), 93 - 103

HARTMANN, K.; KRAFT, W. (1993):

Retrovirus-Infektionen der Katze: Felines Leukosevirus (FeLV) und Felines Immunschwächevirus (FIV).

Tierärztl. Praxis 21, 541 - 557

HERBST, W.; LANGE, H.; DANNER, K.; SCHLIESSER, T. (1988):

Virologisch-diagnostische Untersuchungen beim "Katzenschnupfen".

Kleintierpraxis 33, 433 - 434

HERRMANN, S.C.; GASKELL, R.M.; EHLERS, B.; LUDWIG, H. (1982):

Characterization of the feline herpesvirus genome and molecular epidemiology of isolates from natural outbreaks and latent infections.

In: Wittmann, G.; Gaskell, R.M.; Rziha, H.-J.: Latent Herpes Virus Infections in Veterinary Medicine. 1. Auflage (1984), MARTINUS NIJHOFF PUBLISHERS, BOSTON, DEN HAAG, 321 - 336

HEYWARD, J.T.; SABRY, M.Z.; DOWDLE, W.R. (1969):

Characterization of mycoplasma species of feline origin.

Am. J. Vet. Res. 30, 615 - 621

HICKMAN, M.A.; REUBEL, G.H.; HOFFMANN, D.E.; MORRIS, J.G.; ROGERS, Q.R.; PEDERSEN, N.C. (1993):

An epizootic of feline herpesvirus type 1 in a large specific pathogen-free cat colony and attempts to eradicate the infection by identification and culling of carriers.

Laboratory Animals 28, 320 - 329

HIRSCHBERGER, J. (1988):

Applikation von Aciclovir (Virustatikum) bei der Katze.

Tierärztl. Prax. 16, 427 - 430

HOFFMANN-FEZER, G.; THUM, I.; HERBOLD, M.; ACKLEY, C.; MYSLIWIEZ, J.,
HARTMANN, K.; KRAFT, W. (1991):

T-Helfer und T-Suppressorzellen im peripheren Blut spontan FIV-positiver Katzen.

Tierärztl. Prax. 19, 682 - 686

HOFMANN-LEHMANN, R.; HOLZNAGEL, E.; AUBERT, A.; OSSENT, P.; REINACHER,
M.; LUTZ, H. (1995):

Recombinant FeLV vaccine: long-term protection and effect on course and outcome of FIV
infection.

Veterinary Immunology and Immunopathology 46, 127 - 137

HOOVER, E.A.; GRIESEMER, R.A. (1971a):

Bone lesions produced by feline herpesvirus.

Laboratory Investigation 25, 457 - 464

HOOVER, E.A.; GRIESEMER, R.A. (1971b):

Experimental feline herpesvirus infection in the pregnant cat.

Am. J. Pathol. 65, 173 - 188

HOOVER, E.A.; KAHN, D.E. (1973):

Lesions produced by feline picornaviruses of different virulence in pathogen-free cats.

Vet. Path. 10, 307 - 322

HOOVER, E.A.; KAHN, D.E.; LANGLOSS, J.M. (1978):

Experimentally Induced Feline Chlamydial Infection (Feline Pneumonitis).

Am. J. Vet. Res. 39 (4), 541 - 547

HOOVER, E.A.; ROHOVSKY, M.W.; GRIESEMER, R.A. (1970):

Experimental Feline Viral Rhinotracheitis in the Germfree Cat.

Am. J. Pathol. 58, 269 - 282

HORIMOTO, T.; LIMCUMPAO, J.A.; XUAN, X.; ONO, M.; MAEDA, K.; KAWAGUCHI, Y.; KAI, C.; TAKAHASHI, E.; MIKAMI, T. (1992):

Heterogeneity of feline herpesvirus type 1 strains.

Arch. Virol. 126, 283 - 292

HORVATH, Z.; BARTHA, A.; PAPP, L.; JUHASZ, M. (1965):

On feline rhinotracheitis.

Acta Veterinaria (Budapest) 15, 415 - 420

ISHIDA, T.; TOMODA, I. (1990):

Clinical Staging of Feline Immunodeficiency Virus Infection.

Jpn. J. Vet. Sci. 52 (3), 645 - 648

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P. (1997):

Die Untersuchung von Lymphozyten. Antigenerkennung durch T-Lymphozyten.

In: Janeway, C.A.; Travers, P.: Immunologie. 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 56 - 64, 123 - 141

JENSEN, M.M.; BUELL, D.J.; McKIM, R.M. (1977):

Isolation rates of feline respiratory viruses in lokal cat populations.

J. small. Anim. Pract. 18, 656 - 661

JOHNSON, F.W.A. (1984):

Isolation of chlamydia psittaci from nasal and conjunctival exsudate of a domestic cat.

Vet. Rec. 114, 342 - 344

JOHNSON, R.H. (1966):

Feline panleucopenia virus. III. Some properties compared to a feline herpesvirus.

Res. vet. Sci. 7, 112 - 115

JOHNSON, R.H.; THOMAS, R.G. (1966):

Feline viral rhinotracheitis in Britain.

Vet. Rec. 79, 188 - 190

JOHNSON, R.P. (1992):

Antigenic change in feline calicivirus during persistent infection.

Can. J. Vet. Res. 56, 326 - 330

JOHNSON, R.P.; SABINE, M. (1971):

The isolation of herpesviruses from skin ulcers in domestic cats.

Vet. Rec. 89, 360 - 363

JOHNSON, R.P.; POVEY, R.V. (1983):

Transfer and decline of maternal antibody to feline calicivirus.

Can. Vet. J. 24, 6 - 9

JORDAN, R.T.; KEMPE, L.L.; RASMUSSEN, A.F. Jr. (1956):

Inactivation of some animal viruses with gamma radiation from cobalt-60.

Proceedings of the society for experimental biology and medicine 91, 212 - 215

KAHN, D.E.; GILLESPIE J.H. (1971):

Feline viruses: Pathogenesis of Picornavirus Infection in the Cat.

Am. J. Vet. Res. 32, (4) 521 - 531

KAHN, D.E.; HOOVER, E.A. (1976):

Feline caliciviral disease: experimental immunoprophylaxis.

Am. J. Vet. Res. 37, 279 - 283

KAHN, D.E.; HOOVER, E.A.; BITTLE, J.L. (1975):

Induction of immunity to caliciviral disease.

Infection and Immunity 11 (5), 1003 - 1009

KAHN, D.E.; WALTON, T.E. (1971):

Epizootiology of feline respiratory infections.

J.A.V.M.A. 158 (6), 955 - 959

KARPAS, A.; ROUTLEDGE, J.K. (1968):

Feline Herpes Virus: Isolations and Experimental Studies.

Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B, 15, 599 - 606

KELLER, E. (1994):

Einführung in die Grundmechanismen der spezifischen Immunität, Lymphatischer Apparat.

Immunität gegenüber Virusinfektionen.

In: Keller, E.: Immunologie und Immunpathologie. 4. Auflage, Thieme, Stuttgart, 69 - 74,

119 - 151, 292 - 303

KLIMENTOWSKI, S.; KÖLBL, S.; FISCHER, M. (1992):

Untersuchungen über die Wirksamkeit der Paramunisierung zur Bekämpfung des Katzenschnupfens.

Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 105 (8), 253 - 259

KLOTZ, F.W.; COOPER, M.D. (1986):

A Feline Thymocyte Antigen Defined by a Monoclonal Antibody (FT2) Identifies a Subpopulation of Non-Helper Cells Capable of Specific Cytotoxicity.

Journal of Immunology 136 (7), 2510 - 2514

KNECHT, E. (1979):

Viruserkrankungen der Kopfschleimhäute sowie des Respirationstraktes bei Katzen.

Vet. Diss., Gießen.

KNOWLES, J.O.; DAWSON, S.; GASKELL, R.M.; GASKELL, C.J.; HARVEY, C.E.

(1990):

Neutralisation patterns among recent British and North American feline calicivirus isolates from different clinical origins.

Vet. Rec. 127, 125 - 127.

KNOWLES, J.O.; GASKELL, R.M.; GASKELL, C.J.; HARVEY, C.E.; LUTZ, H. (1989):
Prevalence of feline calicivirus, feline leukaemia virus and antibodies to FIV in cats with
chronic stomatitis.

Vet. Rec. 124, 336 - 338

KRAFT, W. (1991):

Katzenschnupfenkomplex.

In: Kraft, W., Dürr, U.: Katzenkrankheiten, Klinik und Therapie. 3. Aufl., Schaper, Alfeld,
Infektionskrankheiten, 98 - 102

KRAFT, W.; DÜRR, U.M.; KLEE, W.; BOSTEDT, H.; HEINRITZI, K. (1995):

Serum - Protein.

In Kraft, W.; Dürr, U.: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 3. Aufl. Schattauer,
Stuttgart, New York, 134 - 140

KRAMER, J.W.; EVERMANN, J.F.; LEATHERS, C.W.; McKEIRNAN, A.J.; RASHTI, L.
(1991):

Experimental infection of two dogs with a canine isolate of Feline Herpesvirus Type 1.

Vet. Pathol. 28, 338 - 340

KRISTENSEN, F.; KRISTENSEN, B.; LAZÁRY, S. (1982):

The Lymphocyte Stimulation Test in Veterinary Medicine.

Veterinary Immunology and Immunopathology 3, 203 - 277

KRUGER, J.M.; SUSSMAN, M.D.; MAES, R.K. (1996):

Glycoproteins gI and gE of feline herpesvirus-1 are virulence genes: safety and efficacy of a
gI-gE deletion mutant in natural host.

Virology 220 (2), 299 - 308

LAPPIN, M.R. (1998):

Prevention of infectious diseases.

In: Nelson, R.W.; Couto, C.G. Small Animal Internal Medicine, 2. Auflage, Mosby, St. Louis,
Baltimore, Boston, 1265 - 1272

LAURENT, J.C.; OUDAR, J.; CHAPPIUS, G. (1977):

Affections respiratoires felines d'origine virale. Sondage serologique.

Revue Méd. vét. 128, 1099 - 1110

LAWRENCE, C.E.; CALLANAN, J.J.; JARRETT, O. (1992):

Decreased mitogen responsiveness and elevated tumor necrosis factor production in cats shortly after feline immunodeficiency virus infection.

Veterinary Immunology and Immunopathology 35, 51 - 59

LEE, K.M.; GILLESPIE, J.H. (1973):

Thermal and pH-stability of feline calicivirus.

Infection and Immunity 7, 678

LEHMANN, R.; JOLLER, H.; HAAGMANN, B.L.; LUTZ, H. (1992):

Tumor necrosis factor α levels in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus: effects of immunization and feline leukemia virus infection.

Veterinary Immunology and Immunopathology 35, 61 - 69

LEVINGS, R.L. (1984):

The effect of some common inactivation procedures on the antigens of bovine herpesvirus 1.

Veterinary Microbiology 9, 313 - 328

LINDT, S. (1965):

Zur Morphologie und Ätiologie der Erkrankungen des oberen Respirationstraktes bei Katzen.

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 107, 196 - 203

LINDT, S.; MÜHLETHALER, E.; BÜRKI, F. (1965):

Enzootischer, virusbedingter Katzenschnupfen in einem Tierheim. I. Mitteilung: Klinik, Patho-Histologie, Ätiologie und Epizootologie.

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 107, 91 - 101

LOPEZ, C.; O'REILLY, R. (1977):

Cell-mediated immune responses in recurrent herpesvirus infections.

The Journal of Immunology 118 (3), 895 - 902

LORENZ, R.J. (1988):

Grundbegriffe der Biometrie. 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

LUTZ, H. (1992):

Virusinfektionen: Felines Herpesvirus Typ 1, Felines Calicivirus.

In: Schmidt, V., Horzinek, M.Ch.: Krankheiten der Katze, Band 1, 1. Auflage, Fischer-Verlag,

Jena, Stuttgart, 299 - 306, 306 - 311

MacLACHLAN, N.J.; BURGESS, G.W. (1978):

A survey of feline viral upper respiratory tract infections.

N. Z. Vet. J. 26, 260 - 261

MAEDA, K.; HORIMOTO, T.; MIKAMI, T. (1998):

Properties and Functions of Feline Herpesvirus Type 1 Glycoproteins.

J. Vet. Med. Sci. 60 (8), 881 - 888

MAGGS, D.J.; LAPPIN, M.R.; REIF, J.S.; COLLINS, J.K.; CARMAN, J.; DAWSON, D.;

BRUNS, C. (1999):

Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpesvirus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease.

J.A.V.M.A. 214 (4), 502 - 507

MAYR, A.; EIBNER, G.; MAYR-BIBRACK, B. (1984):

Katzenschnupfen.

In: Mayr, A.; Eißner, G.; Mayr-Bibrack, B.: Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin, 1. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 962 - 972

MAYR, A.; RAETTIG, H.; STICKL, H.; ALEKSANDER, M. (1979):

Paramunität, Paramunisierung, Paramunitätsinducer.

Fortschr. Med. 97, 1159 - 1165

MILLER, G.W.; CRANDELL, R.A. (1962):

Stability of the Virus of Feline Viral Rhinotracheitis.

Am. J. Vet. Res. 23, 351 - 353

MILLER-EDGE, M.; SPLITTER, G. (1986):

Detection of impaired T cell-mediated immune responses to herpesvirus (BHV-1) in cattle.

Veterinary Immunology and Immunopathology 13, 1 - 18

MILLER-EDGE, M.; WORLEY, M. (1991):

In vitro mitogen responses and lymphocyte subpopulations in cheetahs.

Veterinary Immunology and Immunopathology 28, 337 - 349

MILLER-EDGE, M.; WORLEY, M. (1992):

In vitro response of cheetah mononuclear cells to feline herpesvirus-1 and *Cryptococcus neoformans*.

Veterinary Immunology and Immunopathology 30, 261 - 274

MOCHIZUKI, M.; TAMAZUMI, T.; KAWANISHI, A.; AZUMA, T.; SHIMIZU, T. (1992):

Serotype 2 reoviruses from the feces of cats with and without diarrhea.

J. Vet. Med. Sci. 54 (5), 963 - 968

MOCHIZUKI, M.; UCHIZONO, S. (1993):

Experimental infections of feline reovirus serotype 2 isolates.

J. Vet. Med. Sci. 55 (3), 469 - 470

MUIR, P.; HARBOUR, D.A.; GRUFFYD - JONES, T.J. (1992):

Reovirus type 2 in domestic cats, isolation and experimental transmission.

Vet. Microbiol. 30 (4), 309 - 316

NASISSE, M.P. (1990):

Feline herpesvirus ocular disease.

Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 20, 667 - 679

NASISSE, M.P.; GUY, J.S.; DAVIDSON, M.G.; SUSSMAN, W.; DeCLERQ, E. (1989a):

In vitro susceptibility of feline herpesvirus-1 to vidarabine, idoxuridine, trifluridine, aciclovir or bromovinyldeoxyuridine.

Am. J. Vet. Res. 50, 158 - 160

NASISSE; M.P., GUY, S.G.; DAVIDSON, M.G.; SUSSMAN, W.A.; FAIRLEY, N.M. (1989b):

Experimental ocular herpesvirus infection in the cat.

Investigative Ophthalmology & Visual Science 30 (8), 1758 - 1768

NASISSE, M.P., DAVIS, B.J., GUY, J.S., DAVIDSON, M.G., SUSSMAN, W. (1992):

Isolation of feline herpesvirus 1 from the trigeminal ganglia of acutely and chronically infected cats.

J. Vet. Int. Med. 6, 102 - 103

NASISSE, M.P.; GUY, J.S.; STEVENS, J.B.; ENGLISH, R.V.; DAVIDSON, M.G. (1993):

Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983 - 1991).

J.A.V.M.A. 203, 834 - 837

NASISSE, M.P.; ENGLISH, R.V.; TOMPKINS, M.B.; GUY, J.S.; SUSSMAN, W. (1995):

Immunologic, histologic, and virologic features of herpesvirus-induced stromal keratitis in cats.

Am. J. Vet. Res. 56 (1), 51 - 55

NOVOTNEY, C.; ENGLISH, R.V.; HOUSMAN, J.; DAVIDSON, M.G.; NASISSE, M.P.; JENG, C.-R.; DAVIS, W.C.; TOMPKINS, M.B. (1990):

Lymphocyte population changes in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus.

AIDS 4, 1213 - 1218.

OHNO, K.; WATARI, T.; GOITSUKA, R.; TSUJIMOTO, H.; HASEGAWA, A. (1992):
Altered Surface Antigen Expression on Peripheral Blood Mononuclear Cells in Cats Infected
with Feline Immunodeficiency Virus.

J. Vet. Med. Sci. 54 (3), 517 - 522

ORR, C.M.; GASKELL, C.J.; GASKELL, R.M. (1980):

Interaction of an intranasal combined feline viral rhinotracheitis, feline calicivirus vaccine and
the FVR carrier state.

Vet. Rec. 106, 164 - 166

OTT, R.L. (1971):

Comments on feline pneumonitis.

J.A.V.M.A. 158, 939 - 941

PALMER, G.H. (1980):

Feline upper respiratory disease.

Vet. Med. small Anim. Clin. 75 (10) 1556 - 1558

PAXTON, H.; KIDD, P.; LANDAY, A.; GIORGI, J.; FLOMENBERG, N.; WALKER, E.;
VALENTINE, F.; FAHEY, J.; GELMAN, R. (1989):

Results of the Flow Cytometry ACTG Quality Control Program: Analysis and Findings.

Clinical Immunology and Immunopathology 52, 68 - 84

PEDERSEN, N.C. (1987):

Feline Herpesvirus Type I (Feline Rhinotracheitis Virus). Feline Calicivirus.

In: Appel, M.J.: Virus Infections of Carnivores, Elsevier Science Publishers B.V.,
Amsterdam, Oxford, New York, Tokio, Chapter 21, 227 - 237, 339 -345

PEDERSEN, N.C.; BARLOUGH, J.E. (1991):

Clinical overview of feline immunodeficiency virus.

J.A.V.M.A. 199 (10), 1298 - 1310

PEDERSEN, N.C.; LALIBERTE, L.; EKMAN, S. (1983):

A transient febrile limping syndrome of kittens caused by two different strains of calicivirus.
Feline Practice 13, 26 - 35

PIERCY, S.E.; PRYDIE, J. (1963):

Feline Influenza.

Vet. Rec. 75, 86 - 89

PLUMMER, G.; HOLLINGSWORTH, D.C.; PHUANGSAB, A.; BOWLING, C.P. (1970):

Chronic Infections by Herpes Simplex Viruses and by the Horse and Cat Herpesvirus
Infection and Immunity 1 (4), 351 - 355

POVEY, R.C. (1969):

Viral Respiratory Disease.

Vet. Rec. 84, 335 - 338

POVEY, R.C. (1970):

Studies of viral induced respiratory disease in cats.

PhD-Thesis, Bristol

POVEY, R.C. (1978):

Effect of orally administered Ribavirin on experimental feline calicivirus infection in cats.

Am. J. Vet. Res. 39, 1337 - 1341

POVEY, R.C.; HALE, C.J. (1974):

Experimental infection with feline caliciviruses (Picornaviruses) in specific-pathogen-free kittens.

J. Comp. Path. 84, 245 - 255

POVEY, R.C.; JOHNSON, R.H. (1967):

Further observations on feline viral rhinotracheitis.

Vet. Rec. 81, 686 - 689

POVEY, R.C.; JOHNSON R.H. (1970):

Observations on the epidemiology and control of viral respiratory disease in cats.

J. small Anim. Pract. 11, 485 - 494

POVEY, R.C.; JOHNSON R.H. (1971):

A survey of feline viral rhinotracheitis and feline picornavirus infection in Britain.

J. small Anim. Pract. 12, 233 - 247

POVEY, R.C.; WARDLEY, R.C.; JESSEN, H. (1973):

Feline Picornavirus infection: The in vivo carrier state.

Vet. Rec. 92, 224 - 229

PRYDIE, J. (1966):

Viral diseases of cats.

Vet. Rec. 79, 729 - 738

RADIN, M.J. (1994):

Interpretation von Laborwerten.

In: Fenner, W.: Kleintierkrankheiten, Differentialdiagnostik und Therapie in der Praxis.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Kapitel 21, 783 - 798

RENZI, P.; GINNS, L.C. (1987):

Analysis of T cell subsets in normal adults.

Journal of Immunological Methods 98, 53 - 56

REUBEL, G.H.; GEORGE, J.W.; BARLOUGH, J.E.; HIGGINS, J.; GRANT, C.K.;
PEDERSEN, N.C. (1992):

Interaction of acute feline herpesvirus-1 and chronic feline immunodeficiency virus infections
in experimentally infected specific pathogen free cats.

Veterinary Immunology and Immunopathology 35, 95 - 115

REUBEL, G.G.; RAMOS, R.A.; HICKMAN, M.A.; RIMSTAD, E.; HOFFMANN, D.E.; PEDERSEN, N.C. (1993):

Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infections using the polymerase chain reaction.

Arch. Virol. 132, 409 - 420

ROLLE, M.; MAYR, A. (1984):

Herpesviridae, Rhinotracheitis der Katze, Mykoplasmen.

In: Mayr, A.: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 5. Auflage,

Enke-Verlag, Stuttgart, 291, 324 - 326, 935 - 948

RUTTGEN, V.P.M.G.; WENTINK, G.H.; DE JONG, W.A.C.; VAN EXSEL, A.C.A.; HENSEN, E.J. (1990):

Determination of BHV 1 Specific Immune Reactivity in Naturally Infected and Vaccinated Animals by Lymphocyte Proliferation Assays

Veterinary Immunology and Immunopathology 25, 259 - 26

SACHS, L. (1992):

Angewandte Statistik. 7. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

SCHMIDT, V. (1993):

Augen: Erkrankungen der Bindehaut, Erkrankungen der Hornhaut.

In: Schmidt, V.; Horzinek, M.C.: Krankheiten der Katze, Band 2, 1. Auflage, Fischer-Verlag, Jena, Stuttgart, 256 - 267, 278 - 291

SCHNORR, B. (1985):

Plazentation bei Haussäugetieren und Menschen.

In: Schnorr, B.: Embryologie der Haussäugetiere, 1. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 74 - 99

SCOTT, F.W.; GEISSINGER, C.M. (1999):

Long-term immunity in cats vaccinated with an inactivated trivalent vaccine.

Am. J. Vet. Res. 60 (5), 652 - 658

SCOTT, F.W., KAHN, D.E., GILLESPIE, J.H. (1970):

Feline Viruses: isolation, characterization and pathogenicity of a feline reovirus.

Am. J. Vet. Res. 31, 11 - 20

SHERIDAN, J.F.; DONNENBERG, A.D.; AURELIAN, L.; ELPERN, D.J. (1982):

Immunity to Herpes Simplex Virus Type 2. Impaired Lymphokine Production during Recrudescence Correlates with an Imbalance in T-Lymphocyte Subsets.

Journal of Immunology 129(1), 326 - 331

SPRADBROW, P.B.; MARLEY, J.; PORTAS, B.; BURGESS, G. (1970a):

The isolation of mycoplasmas from cats with respiratory disease.

Aust. Vet. J. 46, 109 - 110

SPRADBROW, P.B.; BAGUST, T.J.; BURGESS, G.; PORTAS, B. (1970b):

The isolation of Picornaviruses from Cats with respiratory disease.

Aust. Vet. J. 46, 105 - 108

SPRADBROW, P.B., CARLISLE, C., WATT, D.A. (1971):

The association of a herpesvirus with generalised disease in a kitten.

Vet. Rec. 89, 542 - 544

STADES, F.C.; NEUMANN, W.; BOEVÉ, M.H.; WYMANN, M. (1996):

Die wichtigsten Ophthalmologika in der Veterinärmedizin: Virustatika (DNA-Synthesehemmer), Kortikosteroide; Konjunktiva: Conjunctivitis purulenta; Hornhaut und Sklera: Keratitis.

In: Stades, F.: Praktische Augenheilkunde für den Tierarzt, 1. Auflage, Schlütersche Verlagsanstalt, 26 - 27, 97 - 98, 112 - 123

STEVENS, J. (1978):

Latent characteristics of selected herpesviruses.

Advances in Cancer Research 26, 227 - 256

STILES J. (1995):

Treatment of cats with ocular disease attributable to herpesvirus infection: 17 cases.

J.A.V.M.A. 207, 599 - 603

STILES, J.; McDERMOTT, M.; WILLIS, M.; ROBERTS, W.; GREENE, C. (1997):

Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying herpesvirus in cats with conjunctivitis.

A.J.V.R. 58 (8), 804 - 807

STRUBE, W.; THEIN, P.; KRETZDORN, D.; GRUNMACH, J. (1989):

Baypamun: Neue Möglichkeiten der Bekämpfung von Infektionserkrankungen bei Haustieren.

Vet. Med. Nachr. 60, 3 - 15

STUDDERT, M.J. (1978):

Caliciviruses Brief Review.

Arch. Virol. 58, 157 - 191

STUDDERT, M.J.; MARTIN, M.C. (1970a):

Viral diseases of the respiratory tract of cats: Isolation and properties of viruses tentatively classified as picornaviruses.

Am. J. Vet. Res. 31 (10), 1723 - 1732

STUDDERT, M.J.; MARTIN, M.C. (1970b):

Virus diseases of the respiratory tract of cats. I. Isolation of a feline rhinotracheitis virus.

Aust. Vet. J. 46, 99 - 105

SUSSMAN, M.D., MAES, R.K.; KRUGER, J.M. (1997):

Vaccination of cats for feline rhinotracheitis results in a quantitative reduction of virulent feline herpesvirus - 1 latency load after challenge.

Virology 228 (2), 379 - 382

SYKES, J.E.; BROWNING, G.F.; ANDERSON, G.; STUDDERT, V.P.; SMITH, H.V. (1997):

Differential sensitivity of culture and the PCR of feline herpesvirus 1 in vaccinated and unvaccinated cats.

Arch. Virol. 142, 65 - 74

TAN, R.J.S.; LIM, E.W.; ISHAK, B. (1977):

Ecology of mycoplasmas in clinically healthy cats.

Aust. Vet. J. 53, 515 - 518

TAN, R.J.S.; MILES, J.A.R. (1973):

Characterization of mycoplasmas from cats with conjunctivitis.

N. Z. Vet. J. 21, 27 - 32

TAN, R.J.S.; MILES, J.A.R. (1974):

Incidence and significance of mycoplasmas in sick cats.

Res. vet. Sci. 16, 27 - 34

TEGTMAYER, P.; ENDERS, J.F. (1969):

Feline Herpesvirus Infection in Fused Cultures of Naturally Resistant Human Cells.

Journal of Virology 3 (5), 469 - 476

THAM, K.M.; STUDDERT, M.J. (1987):

Antibody and Cell-Mediated Immune Response to Feline Herpesvirus 1 Following Inactivated Vaccine and Challenge.

J. Vet. Med. B 34, 585 - 597

THOMAS, F.C.; OUTWERK, T.; McKERCHER, P. (1982):

Inactivation by Gamma Irradiation of Animal Viruses in Simulated Laboratory Effluent.

Appl. Environm. Microbiol. 43 (5), 1051 - 1056

TORTEN, M.; FRANCHINI, M.; BARLOUGH, J.E.; GEORGE, J.W.; MOZES, E., LUTZ, H.; PEDERSEN, N.C. (1991):

Progressive Immune Dysfunction in Cats Experimentally Infected with Feline Immunodeficiency Virus.

Journal of Virology 65 (5), 2225 - 2230

TOTH, T.E.; SMITH, B.; PYLE, H. (1992):

Simultaneous separation and purification of mononuclear and polymorphnuclear cells from the peripheral blood of cats.

Journal of Virological Methods 36, 185 - 196

TRUYEN, U.; SCHUNCK, B. (1996):

Das feline Calicivirus: eine Übersicht.

Tierärztl. Prax. 23, 300 - 305

VAHLENKAMP, T.W. (1993):

Untersuchungen zur Wirksamkeit antiviraler Mittel gegenüber der felinen Immunschwächevirus (FIV)-Infektion in in-vitro-Testsystemen und an experimentell FIV-infizierten Katzen.

Vet. Diss., München

WALDE, I.; SCHÄFFLER, E.H.; KÖSTLIN, R.G. (1997):

Augenerkrankungen der Katze.

In Walde, I.; Schäffler, E.H.; Köstlin, R.G.: Atlas der Augenerkrankungen bei Hund und und Katze, 2. Auflage, Schattauer, Stuttgart, New York, 252

WALKER, C.; CANFIELD, P.J.; LOVE, D.N. (1994):

Analysis of leucocytes and lymphocyte subsets for different clinical stages of naturally acquired feline immunodeficiency virus infection.

Veterinary Immunology and Immunopathology 44, 1 - 12

WALTON, T.E.; GILLESPIE, J.H. (1970a):

Feline viruses. VI. Survey of the incidence of feline pathogenic agents in normal and clinically - ill cats.

Cornell Vet. 60, 215 - 232

WALTON, T.E.; GILLESPIE, J.H. (1970b):

Feline viruses. VII. Immunity to the feline herpesvirus in kittens inoculated by the aerosol method.

Cornell Vet. 60, 232 - 239

WARDLEY, R.C. (1976):

Feline calicivirus carrier state a study of the host/virus relationship.

Archives of Virology 52, 243 - 249

WARDLEY, R.C.; GASKELL, R.M.; POVEY, R.C. (1974):

Feline respiratory viruses - their prevalence in clinically healthy cats.

J. small Anim. Pract. 15, 579 - 586

WARDLEY, R.C.; POVEY, R.C. (1976):

The clinical disease and patterns of excretion associated with three different strains of feline caliciviruses.

Res. Vet. Sci. 23, 7 - 14

WARDLEY, R.C.; POVEY, R.C. (1977a)

Aerosol Transmission of feline caliciviruses. An assessment of its epidemiological Importance.

Br. Vet. J. 133, 504 - 508

WARDLEY, R.C.; POVEY, R.C. (1977b):

The pathology and sites of persistence associated with three different strains of feline Calicivirus.

Res. Vet. Sci. 23, 15 - 19

WARDLEY, R.C.; ROUSE, B.T.; BABIUK, L.A. (1976):

Observations on recovery mechanisms from feline viral rhinotracheitis.

Can. J. comp. Med. 40, 257 - 264

WEISS, R.C. (1989):

Synergistic antiviral activity of acyclovir and recombinant human leukocyte (alpha) interferon on feline herpesvirus replication.

Am. J. Vet. Res. 50 (10), 1672 - 1677

WEISS, R.C.; OOSTROM - RAM, T. (1990):

Effect of recombinant human interferon-alpha in vitro and in vivo on mitogen-induced lymphocyte blastogenesis in cats.

Veterinary Immunology and Immunopathology 24, 147 - 157

WILLEMSE, M.J.; CHALMERS, W.S.; SONDERMEIJER, P.J. (1996):

In vivo properties of a feline herpesvirus type 1 mutant carrying a lacZ insertion at the gI locus of the unique short segment.

Vaccine 14 (1), 1 - 5

WILLETT, B.J.; HOSIE, M.J.; CALLANAN, J.J.; NEIL, J.C.; JARRETT, O. (1993):

Infection with feline immunodeficiency virus is followed by the rapid expansion of a CD8 lymphocyte subset.

Immunology 78, 1 - 6

WILLS, J.; GRUFFYDD-JONES, T.J.; RICHMOND, S.; PAUL, I.D. (1984):

Isolation of chlamydia psittaci from cases of conjunctivitis in a colony of cats.

Vet. Rec. 114, 344 - 346

YOKOYAMA, N.; MAEDA, K.; FUJITA, K.; ISHIGURO, S.; SAGAWA, T.; MOCHIZUKI, M.; TOHYA, Y.; MIKAMI, T. (1996a):

Vaccine efficacy of recombinant feline herpesvirus type 1 expressing immunogenic proteins of feline calicivirus in cats.

Arch. Virol. 141 (12), 2339 - 2351

YOKOYAMA, N.; MAEDA, K.; TOHYA, Y., KAWAGUCHI, M.; FUJITA, K.; MIKAMI, T. (1996b):

Recombinant feline herpesvirus type 1 expressing immunogenic proteins inducible virus neutralising antibody against feline calicivirus in cats.

Vaccine 14 (17), 1657 - 1663

YOKOYAMA, N.; FUJITA, K.; DAMIANI, A.; SATO, E.; KUROSAWA, M.; MIYAZAWA, T.; ISHIGURO, S.; MOCHIZUKI, M.; MAEDA, K.; MIKAMI, T. (1998):

Further development of a recombinant feline herpesvirus type 1 vector expressing feline calicivirus immunogenic antigen.

J. Vet. Med. Sci. 60 (6), 717 - 723

9. Anhang

Tabelle 42: Lymphozytensubpopulationen bei Katzen (absolute Zahlen)

| Autor | Probanden | Anzahl (n) | Parameter (x 10 ⁹ / l) | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-----------|---------------|--------------------------------------|------|---------------|------|-----|------|-----|------|---------|------|
| | | | Pan T | s | B- Lymphos | s | CD4 | s | CD8 | s | CD4:CD8 | s |
| BARLOUGH et al. (1991) | SPF | 18 | - | - | - | - | 1,3 | 0,18 | 0,7 | 0,10 | 2,05 | 0,19 |
| | Nicht SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| HOFFMANN-FEZER et al. (1991) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 33 | - | - | 0,8 | 0,47 | 1,3 | 0,67 | 0,4 | 0,3 | 3,3 | 1,4 |
| BISHOP et al.(1992) | SPF | 5 | - | - | - | - | 0,9 | 0,17 | 0,7 | 0,16 | 1,3 | 0,37 |
| | Nicht SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| WILLETT et al. (1992) | SPF | 4 | - | - | - | - | 1,5 | 0,4 | 1,4 | 0,53 | 1,5 | - |
| | Nicht SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| WALKER et al. (1994) | SPF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Nicht SPF | 43 | 2,3 | 1,66 | 1,17 | 1,2 | 1,1 | 0,51 | 0,8 | 0,65 | 1,6 | 0,76 |

- = in dieser Untersuchung nicht untersucht oder Ergebnisse nicht angegeben, s = Standardabweichung

Tabelle 43: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 1

| Tier Nr. | Leukozyten (^x 6,0 - 11,0 x 10 ⁹ /l) | Lymphozyten (^x 15 - 30 %) | Neutrophile Granulozyten (^x 60 - 75 %) | Eosinophile Granulozyten (^x 0 - 4 %) | Monozyten (^x 0 - 5 %) |
|----------|--|--|--|--|--------------------------------------|
| 1 | 13,6 | 19,0 | 74,0 | 5,0 | 2,0 |
| 3 | 20,8 | 60,0 | 36,0 | 3,0 | 1,0 |
| 20 | 12,1 | 26,0 | 69,0 | 4,0 | 1,0 |
| 25 | 16,0 | 60,0 | 34,0 | 3,0 | 3,0 |
| 28 | 16,0 | 15,0 | 80,0 | 1,0 | 4,0 |
| 29 | 6,6 | 31,0 | 67,0 | 0,0 | 2,0 |
| 30 | 13,7 | 40,0 | 52,0 | 4,0 | 4,0 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere

Tabelle 44: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 2

| Tier Nr. | Leukozyten (^x 6,0 - 11,0 x 10 ⁹ /l) | Lymphozyten (^x 15 - 30 %) | Neutrophile Granulozyten (^x 60 - 75 %) | Eosinophile Granulozyten (^x 0 - 4 %) | Monozyten (^x 0 - 5 %) |
|----------|--|--|--|--|--------------------------------------|
| 2 | 8,6 | 39,0 | 53,0 | 8,0 | 0,0 |
| 6 | 27,5 | 57,0 | 41,0 | 0,0 | 2,0 |
| 8 | 10,6 | 38,0 | 60,0 | 1,0 | 1,0 |
| 10 | 9,8 | 72,0 | 23,0 | 4,0 | 1,0 |
| 13 | 10,9 | 10,0 | 85,0 | 3,0 | 2,0 |
| 15 | 18,9 | 94,0 | 5,0 | 1,0 | 0,0 |
| 16 | 12,0 | 44,0 | 49,0 | 2,0 | 5,0 |
| 22 | 14,9 | 11,0 | 87,0 | 2,0 | 0,0 |
| 24 | 17,4 | 60,0 | 37,0 | 2,0 | 1,0 |
| 26 | 27,1 | 12,0 | 78,0 | 6,0 | 4,0 |
| 27 | 14,0 | 42,0 | 51,0 | 7,0 | 0,0 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere

Tabelle 45: Leukozytenzahlen und Differentialblutbild der Gruppe 3

| Tier Nr. | Leukozyten (^x 6,0 – 11,0 x 10 ⁹ /l) | Lymphozyten (^x 15 - 30 %) | Neutrophile Granulozyten (^x 60 - 75 %) | Eosinophile Granulozyten (^x 0 - 4 %) | Monozyten (^x 0 - 5 %) |
|----------|--|--|--|--|--------------------------------------|
| 4 | 15,4 | 32,0 | 55 | 9,0 | 1,0 |
| 5 | 7,6 | 26,0 | 68,0 | 6,0 | 0,0 |
| 7 | 17,8 | 82,0 | 17,0 | 0,0 | 1,0 |
| 9 | 11,6 | 29,0 | 57,0 | 2,0 | 2,0 |
| 11 | 11,3 | 57,0 | 38,0 | 0,0 | 5,0 |
| 12 | 15,6 | 98,0 | 0,0 | 1,0 | 1,0 |
| 14 | 17,5 | 56,0 | 39,0 | 2,0 | 3,0 |
| 17 | 19,4 | 16,0 | 78,0 | 3,0 | 3,0 |
| 18 | 11,3 | 83,0 | 16,0 | 0,0 | 1,0 |
| 19 | 20,0 | 28,0 | 68,0 | 3,0 | 1,0 |
| 21 | 7,1 | 13,0 | 79,0 | 6,0 | 1,0 |
| 23 | 25,5 | 13,0 | 82,0 | 4,0 | 0,0 |

^x Labordiagnostische Referenzbereiche der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik / Kleintiere

Tabelle 46: Mittlere Serumalbumin- und Globulinwerte und die Albumin-Globulin-Quotienten der Gruppen 1 - 3 sowie der Kontrollkatzen

| Probanden | Albumin (g/l) | Globuline (g/l) | Albumin-Globulin -Quotient |
|---------------|------------------|--------------------|-------------------------------|
| Kontrolltiere | 33,3 | 38,8 | 0,85 |
| Gruppe 1 | 29,5 | 52,7 | 0,56 |
| Gruppe 2 | 28,4 | 50,1 | 0,56 |
| Gruppe 3 | 29,0 | 49,3 | 0,58 |

Tabelle 47: FCoV-Titer der Kontrolltiere und der Katzen der Gruppen 1 - 3
(absolute und prozentuale Werte)

| FCoV-Titer | | < 1 : 25 | 1 : 25 | 1 : 100 | 1 : 400 | 1 : 1600 | Mittelwerte der Gruppen |
|-------------------------|------|----------|--------|---------|---------|----------|-------------------------------|
| Kontrollgr. (n = 15) | abs. | 0 | 3 | 9 | 2 | 1 | 2,06 |
| | % | 0 | 20,0 | 60,0 | 13,3 | 6,6 | |
| Gruppe 1 (n = 7) | abs. | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3,14 |
| | % | 0 | 0 | 28,6 | 13,3 | 43,0 | |
| Gruppe 2 (n = 11) | abs. | 0 | 0 | 3 | 6 | 2 | 2,90 |
| | % | 0 | 0 | 27,3 | 54,5 | 18,3 | |
| Gruppe 3 (n = 11) | abs. | 0 | 2 | 5 | 3 | 2 | 2,41 |
| | % | 0 | 16,6 | 41,8 | 25,0 | 16,6 | |

Tabelle 48: FHV-1-Neutralisationstiter der Kontrolltiere und der Gruppen 1 - 3
(absolute und prozentuale Werte)

| FHV-1-Titer | | < 1 : 2 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | Mittelwerte der Gruppen |
|-------------------------|------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|-------------------------------|
| Kontrollgr. (n = 15) | abs. | 9 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1,20 |
| | % | 60 | 6,6 | 6,6 | 13,2 | 6,6 | 6,6 | |
| Gruppe 1 (n = 7) | abs. | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1,85 |
| | % | 14,2 | 28,6 | 28,6 | 14,2 | 14,2 | 0 | |
| Gruppe 2 (n = 11) | abs. | 1 | 2 | 3 | 3 | 2 | 0 | 2,27 |
| | % | 9,1 | 18,1 | 27,3 | 27,3 | 18,1 | 0 | |
| Gruppe 3 (n = 11) | abs. | 0 | 2 | 1 | 1 | 7 | 0 | 3,18 |
| | % | 0 | 18,1 | 9,1 | 9,1 | 63,6 | 0 | |

Abbildung 23: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (66-Stunden-Ansatz)

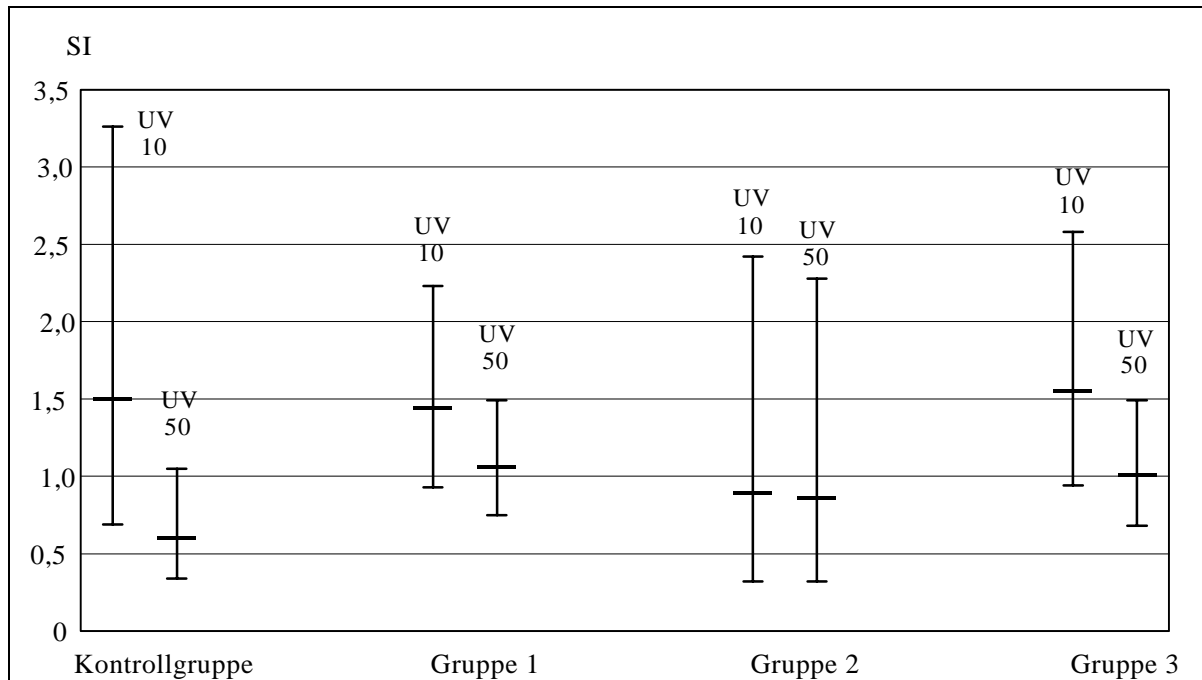


Abbildung 24: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (114-Stunden-Ansatz)

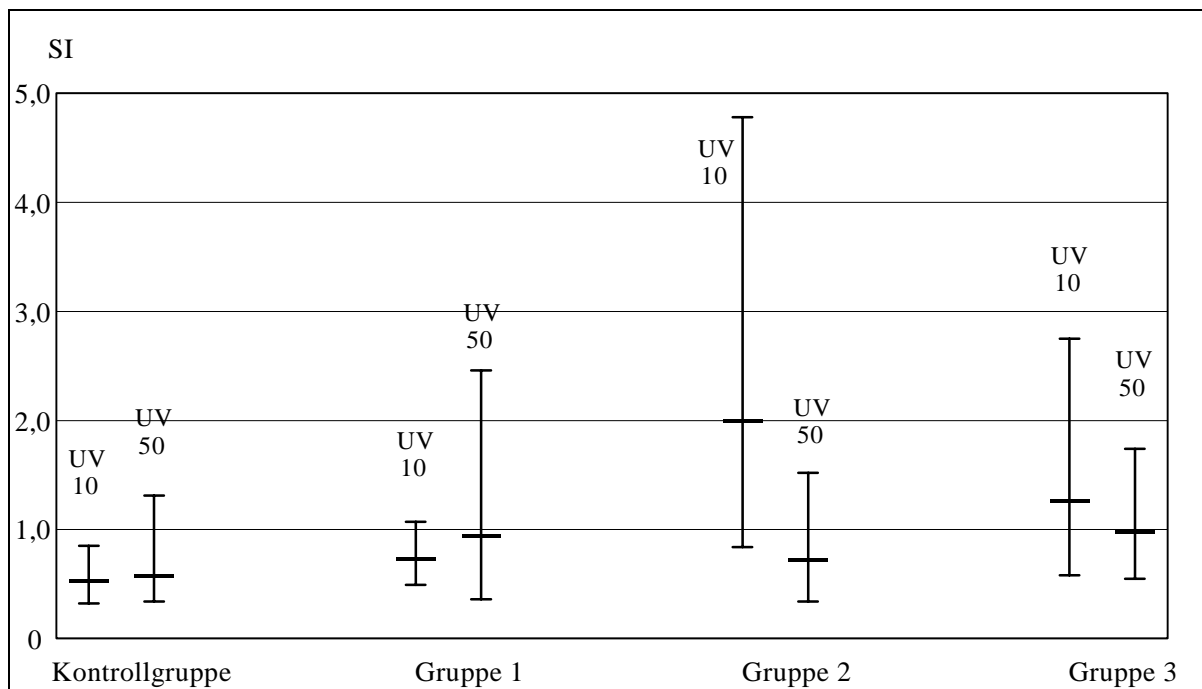


Abbildung 25: Mittelwerte ($\bar{x}_g + SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit zwei verschiedenen H UV-Konzentrationen (138-Stunden-Ansatz)

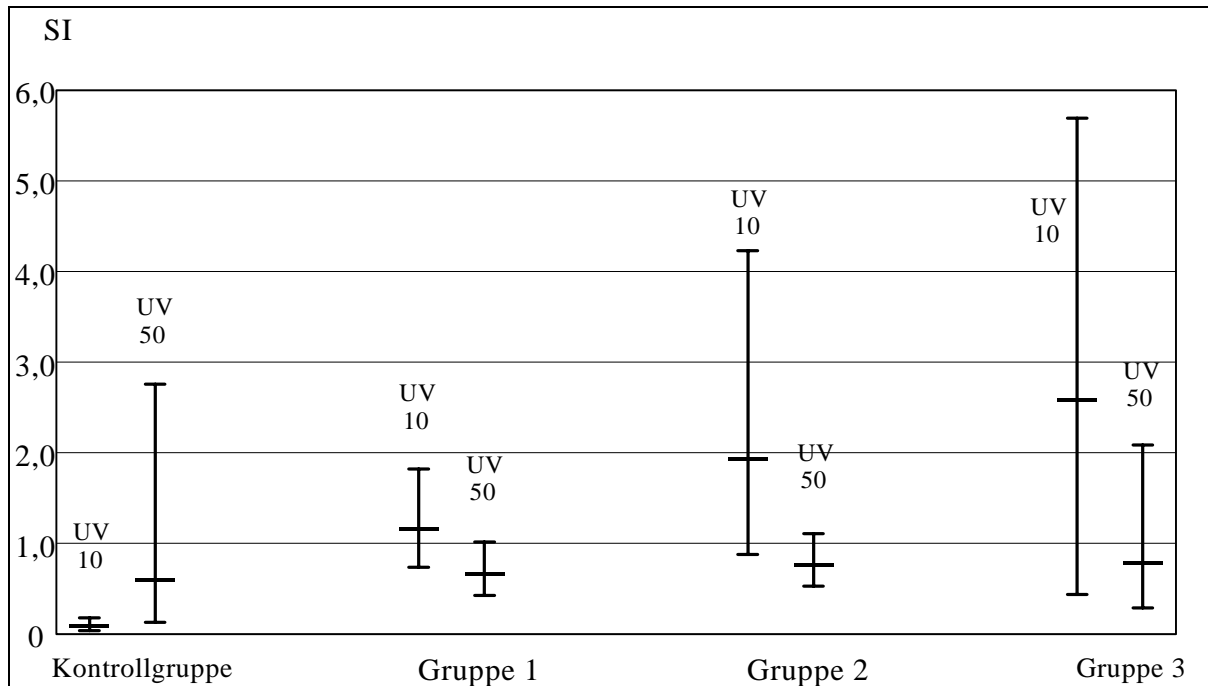


Abbildung 26: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 1)

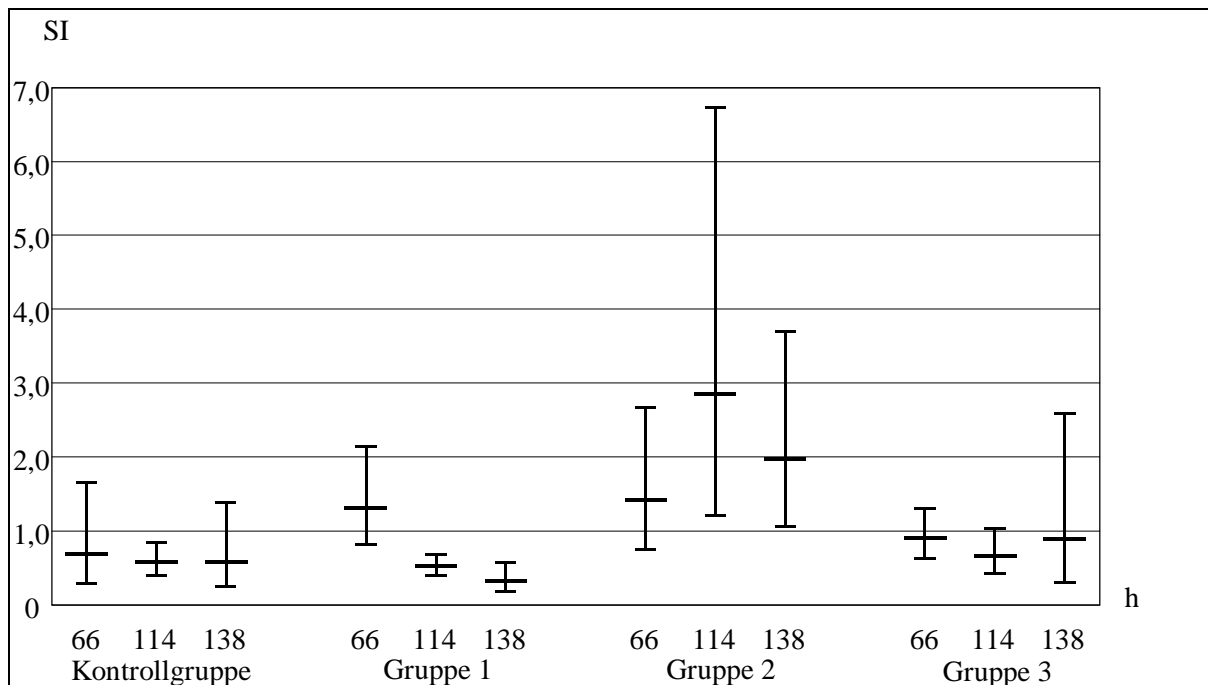


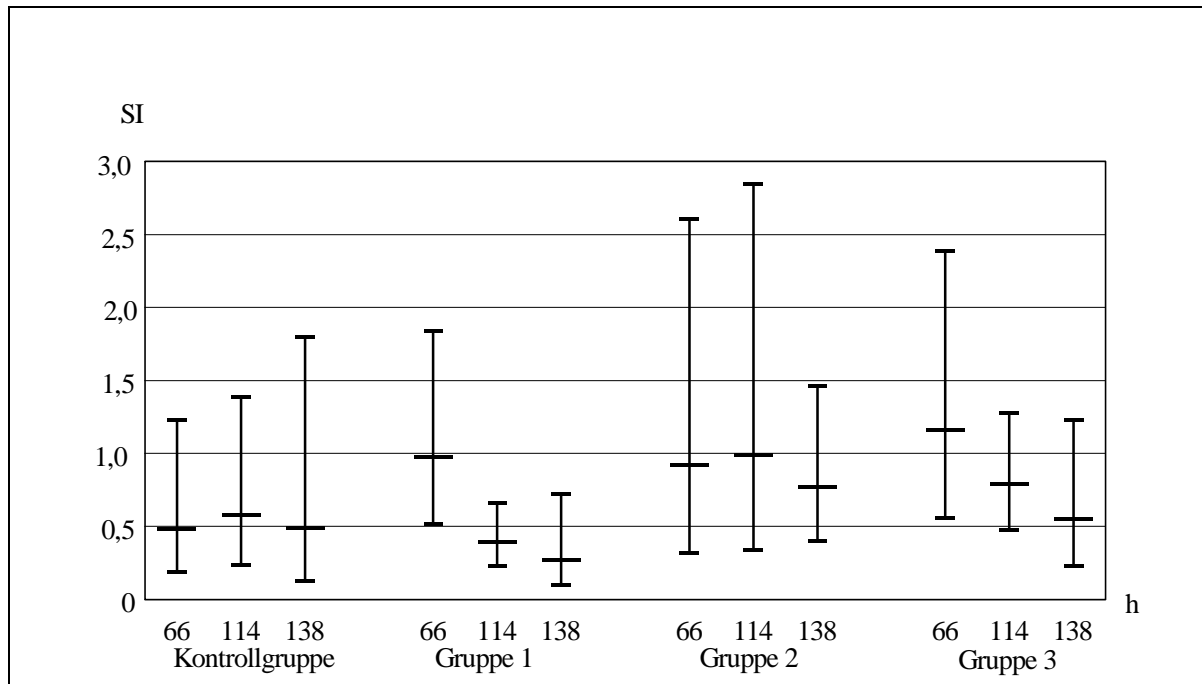
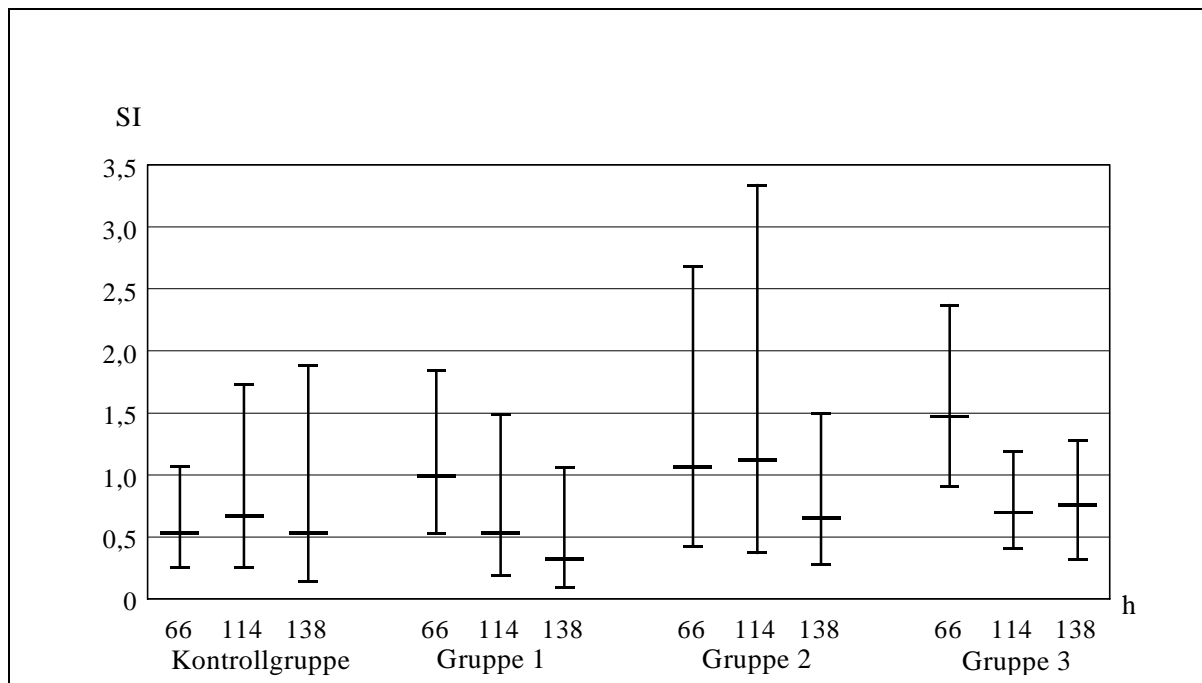
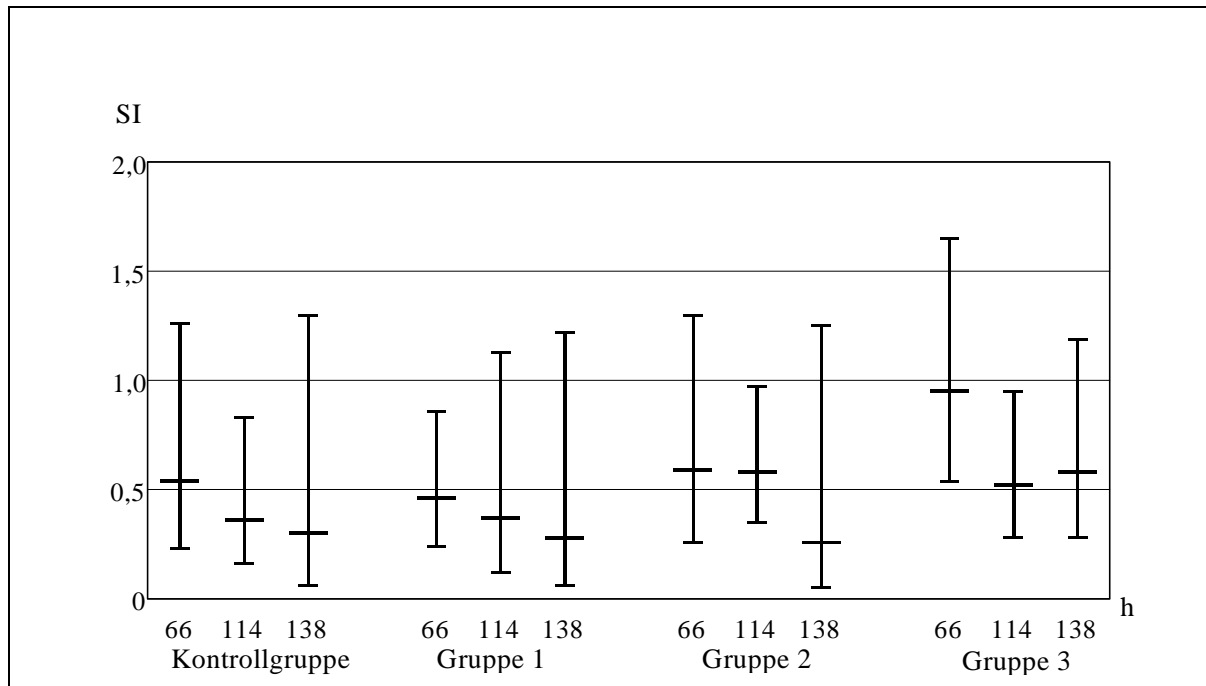
Abbildung 27: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 5)Abbildung 28: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 10)

Abbildung 29: Darstellung der Mittelwerte ($\bar{x}_g \pm SF$) aller Gruppen nach Stimulation mit nicht inaktiviertem FHV 1 (Vir. 50)



Danksagungen

Bei all denen, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben, möchte ich mich sehr herzlich bedanken.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. E.-G. Grünbaum für die Überlassung des interessanten Themas und die Unterstützung aller erforderlichen Projekte. In besonderem Maße danke ich auch Herrn Dr. H. Neu für die Initiierung, Betreuung und Durchsicht der Arbeit, für die Knüpfung und Pflege der Kontakte zwischen den Instituten sowie für seine fachliche Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. H. J. Thiel für die freundliche Aufnahme im Institut und für die Bereitstellung der Institutseinrichtungen und ganz besonders auch Herrn Prof. Dr. L. Stitz für die wissenschaftliche Betreuung bei der Durchführung der immunologisch-virologischen Untersuchungen und die gewährte Gastfreundschaft in seinem Labor. Ohne seine stets wertvollen Ratschläge beim Auftreten von Schwierigkeiten, seine Bereitschaft zum Gedankenaustausch bei fachlichen Fragen und die kritische Durchsicht des Geschriebenen wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Weiterhin möchte ich mich bei dem Laborteam um Herrn Prof. Dr. L. Stitz, d.h. bei Herrn Dr. O. Planz, Herrn Dr. M. Sobbe, Frau Dr. K. Nöske und nicht zuletzt Frau Silke Gommel bedanken. Sie haben mir stets das Gefühl gegeben, zum Team dazuzugehören. Ihre Unterstützung und die Einarbeitung in die praktischen virologischen und immunologischen Arbeiten, sowie ihre stete Hilfsbereitschaft haben erst die Grundlagen für diese Arbeit geschaffen. Dank geht auch an Herrn Prof. Dr. T. Rümenapf für die freundliche Überlassung von Laborgerät und die moralische Unterstützung während langer Laborstunden in der Endphase der praktischen Arbeiten, und an Herrn Dr. E. Holznagel für seine Einweisung in die Bearbeitung der feline Lymphozyten für die Immunphänotypisierungen.

Herrn Prof. Dr. Dr. G. Baljer danke ich für die gewährte Gastfreundschaft in seinem Haus, den Herren Prof. Dr. L. Wieler und Dr. C. Menge für die Einarbeitung am Durchflußzytometer und ihren stets gewährten Rat in allen Fragen rund um die Immunphänotypisierungen.

Herrn Dr. W. Herbst und Mitarbeitern danke ich für die Bereitstellung des Grundstocks sowohl der felines Embryonalzellen als auch des FHV 1, sowie für die Bestimmung der FHV-1-Serumneutralisationstiter, Herrn Dr. K. Leidinger für die Bestimmung der Coronavirustiter.

Besonders hervorzuheben ist mein Dank an Frau Neuhaus, Tierhilfe Romrod, für die Bereitstellung der in der Arbeit verwendeten Patientenkatten.

Ein herzlicher Dank geht auch an Frau Dr. A. Steinberg und Frau Dr. K. Ober für die Unterstützung bei den Blutentnahmen der Patientenkatten, sowie allen Kollegen der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I für die Hilfe bei den Blutentnahmen an den Kontrollkatten und ihre kollegiale und freundschaftliche Zusammenarbeit, wie auch den medizinisch-technischen Assistentinnen der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I für die stets freundliche Erledigung der angefallenen Arbeit bei der Erstellung der Blutbilder der Kontroll- und Patientenkatten. Für die geduldige Beratung und Betreuung bei der statistischen Auswertung meiner Untersuchungsergebnisse danke ich den Herren Dr. K. Failing und H. Heiter.

Nicht zuletzt danke ich meiner Frau Claudia für ihr Verständnis, ihre Geduld und ihre Übernahme von Mehrarbeit, was mir die Zeit gab, mich der Abfassung dieser Arbeit zu widmen, sowie meinen Eltern und meiner Schwester für Ihre Anteilnahme und Unterstützung, ohne die mein Studium und diese Arbeit nicht möglich gewesen wären.