

1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Feline infektiöse Peritonitis.....	3
2.1.1 Geschichte und Epizootiologie	3
2.1.2 Ätiologie	5
2.1.2.1 Coronaviren	5
2.1.2.1.1 Morphologie	5
2.1.2.1.2 Genom	7
2.1.2.1.3 Replikationszyklus	8
2.1.2.1.4 Coronaviren und Mutationen.....	9
2.1.2.1.5 Einteilung der Coronaviren	10
2.1.2.1.6 Feline Coronaviren	12
2.1.3 Klinisches Bild und Diagnose.....	15
2.1.4 Pathogenese	17
2.1.5 Prophylaxe und Therapie	21
2.2 Nichtstrukturproteingene	23
2.2.1 Nichtstrukturproteingene bei felineen Coronaviren	23
2.3 FCoV-Stämme – Unterschiede und Gemeinsamkeiten.....	27
3 Material und Methoden	29
3.1 Untersuchungsmaterial	29
3.2 Präparation der Gewebe für die histopathologische und immunhistologische Untersuchung.....	30
3.2.1 Histopathologische Diagnose	30
3.2.2 Immunhistologische Diagnose.....	31
3.3 Präparation der Gewebe für die molekularbiologische Aufarbeitung.....	33
3.4 Isolierung von RNA aus Gewebe	33
3.4.1 Isolierung von Gesamt-RNA aus unfixiertem Gewebe mittels Qiagen RNeasy® Mini Kit und Qiagen QIAshredder® Tubes.....	33

3.4.2 Isolierung von Gesamt-RNA aus unfixiertem Gewebe mittels Qiagen RNeasy® Mini Kit und Next Advance Bullet Blender® Blue 50 (Homogenisator)	36
3.4.3 Isolierung von Virus-RNA aus Kotproben mittels Qiagen QIAamp® Viral RNA Mini Kit	37
3.5 Photometrische Konzentrationsbestimmung der isolierten RNA.....	39
3.6 Reverse Transkription.....	39
3.7 Amplifikation des Genomabschnitts ORF 3c.....	42
3.7.1 Semi-nested PCR	45
3.8 Amplifikation einer Sequenz aus dem GAPDH-Gen der Katze zur Kontrolle der RNA-Isolierung sowie der reversen Transkription	47
3.9 Amplifikation des Genomabschnitts ORF 7b.....	48
3.10 Ergebniskontrolle mittels Agarosegelektrophorese.....	50
3.11 DNA-Sequenzierung und Auswertung der Ergebnisse	51
3.12 Statistische Analyse	53
4 Ergebnisse	54
4.1 Untersuchung der „Referenzsequenzen“	54
4.2 Überprüfung der Primer.....	59
4.2.1 Kombination verschiedener Primer	64
4.3 Untersuchung der Katzengewebe auf feline Coronaviren	65
4.3.1 Photometrische Konzentrationsbestimmung der Gesamt-RNA	65
4.3.2 Polymerase-Kettenreaktion	66
4.3.2.1 Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Gen	66
4.3.2.2 Nichtstrukturproteingen ORF 3c	67
4.3.2.2.1 Erste PCR	67
4.3.2.2.2 Semi-nested PCR (zweite und dritte PCR).....	71
4.3.2.3 Nichtstrukturproteingen ORF 7b	74
4.4 Kotproben	78
4.5 Zusammenhang zwischen immunhistologischem Signal, Nachweis von ORF 3c/7b und FIP-Form.....	79
4.6 Häufigkeit des Nachweises von ORF 3c/7b in verschiedenen Geweben	80
4.7 Sequenzierungsergebnisse	80
4.7.1 Sequenzierungsergebnisse von ORF 3c.....	80

4.7.1.1 Mutationsanalyse.....	88
4.7.2 Sequenzierungsergebnisse von ORF 7b	91
4.8 Aminosäuresequenzen.....	95
4.8.1 Aminosäuresequenzen von ORF 3c.....	95
4.8.1.1 Häufigkeit des Auftretens von Stopcodons bei FECV und FIPV	98
4.8.2 Aminosäuresequenzen von ORF 7b	100
4.9 Geschlechterverteilung der Katzen mit Deletionen und/oder Stopcodons in ORF 3c	102
4.10 Mutationen und pathologisch-anatomische Veränderungen	102
5 Diskussion	103
5.1 Untersuchung von FCoV der NCBI-GenBank®	103
5.2 Qualität der isolierten RNA.....	104
5.3 Effizienz verschiedener RNA-Isolierungsmethoden	105
5.4 Problematik bei der Primerwahl.....	105
5.5 Aussagekraft der Agarosegelektrophorese	106
5.6 Auswertung und Aussagekraft der Sequenzierungsergebnisse	107
5.7 Nachweisbarkeit von ORF 3c.....	107
5.7.1 Sequenzierungsergebnisse von ORF 3c.....	108
5.7.1.1 Mutationen.....	110
5.8 Nachweisbarkeit von ORF 7b	112
5.8.1 Sequenzierungsergebnisse von ORF 7b	112
5.8.1.1 Mutationen.....	112
5.9 Analyse der Aminosäuresequenzen.....	113
5.9.1 Aminosäuresequenzen von ORF 3c.....	114
5.9.2 Aminosäuresequenzen von ORF 7b	115
5.10 Vergleich der Nachweisbarkeit von ORF 3c und ORF 7b	115
5.11 Assoziation von Geschlecht, pathologisch-anatomischem Erscheinungsbild und immunhistologischem Signal mit dem Nichtstrukturproteingen 3c	118
5.12 Nichtstrukturproteinogene und immunologische Vorgänge	119
5.13 Bedeutung der Ergebnisse für die Diagnostik und die Vorstellungen von der Pathogenese der FIP	120

6 Zusammenfassung	122
7 Summary	124
8 Literaturverzeichnis	126
9 Anhang	137
9.1 Tabellen	137
9.2 Genetischer Code.....	164
9.3 Bezugsquellen für Chemikalien, Kits und Antikörper	166
9.4 Bezugsquellen für Geräte und Gebrauchsmaterialien	168
9.5 Lösungen und Puffer	170
10 Abkürzungsverzeichnis	173
11 Danksagung	176