

Aus dem Klinischen Department für Kleintiere und Pferde, Klinik für Chirurgie, Augenheilkunde und Zahnheilkunde¹, dem Klinischen Department für Diagnostische Verfahren, Klinische Virologie² und dem Department für Pathobiologie, Institut für Virologie³ der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Der Einfluss von rekombinantem, felinen Omega-Interferon auf die chronische Gingivostomatitis der Katze

K. ZETNER¹, C. STOIAN¹, V. BENETKA², D. KLEIN³ und K. MÖSTL²

ZUSAMMENFASSUNG:

Bei 20 Katzen mit chronischer Gingivostomatitis wurde der therapeutische Effekt einer subgingivalen Injektion von 1,25 ME felinem rekombinanten Omega-Interferon (Virbagen® Omega) pro Kieferquadrant mittels Indices (Plaque, Gingivitis), einer Beurteilung der Rötung nach dem Pantone™-Farbfächer und mittels computergestützter colorimetrischer Luminanzmessung ermittelt. Der vierstufige Baseline-Plaqueindex sank nach 10 Tagen von 2,21 +/- 1,33 auf 1,84 +/- 1,27 ($p < 0,001$), der vierstufige Baseline-Gingivitisindex reduzierte sich innerhalb von 10 Tagen von 2,15 +/- 1,12 auf 1,62 +/- 1,04 ($p < 0,001$), der Baseline-Farb-Tonwert stieg nach 10 Tagen bei verminderter Entzündung von 57,63 +/- 31,39 auf 95,77 +/- 34,68 ($p < 0,001$), der computergesteuerte Luminanzwert stieg bei geringerer Inflammation nach 10 Tagen von 94,44 +/- 19,55 auf 119,87 +/- 23,65 ($p < 0,001$). Bei 9 von 10 Katzen aus Mehrkatzenhaushalten konnten im Rachentupfer Caliciviren nachgewiesen werden, bei einer dieser Katzen lag eine Doppelinfektion mit Caliciviren und felinem Herpesvirus 1 vor. Aus therapeutisch indizierten Gewebeexzisaten konnte keine spezifische Nukleinsäure von FeLV, FIV oder Calicivirus nachgewiesen werden. Die Befragung der Tierbesitzer ergab bei allen 20 Patienten eine deutliche Verbesserung des Wohlbefindens und bei 18 Patienten eine markante Verbesserung des Fressverhaltens. Insbesondere wurde von den Tierbesitzern betont, dass die Katze offensichtlich weniger Schmerzen hat, zutraulicher und zugänglicher geworden ist, dass sie sich nicht mehr verkriecht, ein schöneres Haarkleid aufweist und die Katze besser und mehr frisst.

Die subgingivale Injektion von Virbagen® Omega ist eine wertvolle Ergänzung der derzeit bekannten Therapieformen und kann besonders im Rahmen einer Parodontalbehandlung zusätzlich zur Entfernung von Plaque und Zahnstein, Scaling und Root planing empfohlen werden. Neben der Verringerung der durch die Gingivostomatitis bedingten Schmerzen und der signifikanten Verringerung des Plaqueindex als Zeichen der geringeren Anzahl der Bakterien, ist besonders die auffällige, positive Veränderung des Verhaltens für die Tierbesitzer offensichtlich, welche sie schon nach wenigen Tagen bemerken.

SCHLÜSSELWÖRTER: *Gingivitis, Stomatitis, Gingivostomatitis, Katze, Omega-Interferon, Virusinfektionen*

Influence of Omega-Interferon on the chronic gingivostomatitis of the cat

SUMMARY:

The therapeutical efficiency of a subgingival injection of 1,25 ME of feline recombinant interferon omega per jaw quadrant in 20 cats with severe chronic gingivostomatitis was assessed by indices (plaque, gingivitis), by evaluation of the redness of the mucosa via comparing to the PANTONE™ color sheets and via computer-aided colorimetric luminance measurement. The initial baseline plaque-index (4 grades) of 2,21 +/- 1,33 decreased to 1,84 +/- 1,27 ($p < 0,001$) after 10 days, the initial baseline gingivitis-index (4 grades) of 2,15 +/- 1,12 decreased to 1,62 +/- 1,04 ($p < 0,001$) after 10 days, the baseline colour value increased due to the reduced redness from 57,63 +/- 31,39 to 95,77 +/- 34,68 ($p < 0,001$) after 10 days and the baseline computer-aided luminance value increased from 94,44 +/- 19,55 to 119,87 +/- 23,65 ($p < 0,001$) after 10 days due to decreased redness of the gingiva and oral mucosa.

Calicivirus, harvested from oral swabs could be detected in 9 out of 10 cats from multicat-households. In one of these swabs additionally FHV-1 could be detected. No FeLV, FIV or FCV could be detected in therapeutically justified specimens from gingiva or oral mucosa. Thorough questioning of the owners revealed in all 20 patients a marked improvement in well-being and an ameliorated food uptake in 18

patients. Only few days after the subgingival injection, most owners recognized that their pet had less obvious pain, was more friendly and trusting, did not hide away, gained a better and more shiny hair coat and ate more and better.

The subgingival injection of Virbagen® Omega is a valuable supplement to the presently known arsenal for treatment of chronic oral diseases and is especially recommended as an additional tool to professional dental and periodontal treatment. Besides a significant reduction of pain due to decreased inflammation of the gingiva and oral mucosa and the significantly lower plaque index as a marker for lower amount of bacteria, the obvious change in behaviour reported by the owners was the most prominent result.

KEY WORDS: *gingivitis, stomatitis, gingivostomatitis, cat, interferon omega, virus infections*

Einleitung

Die meisten Erkrankungen der Mundhöhle beginnen mit der Ansammlung mikrobieller Beläge auf der Zahnoberfläche, der Bildung sogenannter Plaques. Junge Plaqueflora setzt sich mehr aus grampositiven, aeroben und ältere Beläge mehr aus gramnegativen, anaeroben Keimen zusammen (Harvey et al. 1995). Die Pathogenität der Plaque sowie die Vermehrung der Keime wird weniger durch deren Art oder Virulenz als vielmehr durch die Leistungsfähigkeit des körpereigenen Immunsystems bestimmt. Für die verschiedenen Formen der entzündlichen Erkrankungen gibt es zahlreiche Bezeichnungen. Harvey (1991) unterscheidet dem Schweregrad entsprechend die marginale Gingivitis, die akute hochgradige Gingivitis mit Stomatitis (Inflammation reicht über die Mukogingivalgrenze hinaus), die hochgradige Stomatitis mit Gingivitis (auch als Faucitis bezeichnet) und die hochgradige Oropharyngitis (Entzündung der Rachenschleimhaut im Bereich des *arcus palatoglossus* mit Faltenbildung der Schleimhaut und Ulzerationen).

Die Vorkommenshäufigkeit von Caliciviren bei Patienten mit chronischer Stomatitis (n=78) in Grossbritannien (Knowles et al. 1989) wird mit 79-92% deutlich höher gesehen als mit 19% bei Patienten ohne Stomatitis. Pedersen (1992) wies in seiner Studie nach, dass entzündliche Erkrankungen in der Mundhöhle durch FeLV, FIV und FCV hervorgerufen werden können und Katzen mit chronischer Gingivostomatitis praktisch immer Caliciviren ausscheiden. Nach Reubel et al. (1992) wird die chronische Entzündung des *arcus palatoglossus* (Faucitis) durch eine abnorme Immunreaktion infolge chronischer FCV-Infektion initiiert, wobei die hohe Variabilität der E-Region des Capsidproteins (Aminosäuren 426-458) eine bedeutende Rolle für die antigenetische Variabilität spielen dürfte (Kreutz et al. 1998). Ähnliche Hinweise auf die Pathogenität finden sich auch bei Poulet et al. (2000), wobei diese Autoren annehmen, dass sich antigene Varianten bei chronischen Infektionen mit FCV unter dem Druck des Immunsystems entwickeln können. Die Bedeutung verschiedener Viren in der Ätiologie der chronischen Gingivostomatitis wird neben Hofmann-Lehmann et al. (2001) auch in der neuen Arbeit von Lommer und Verstraete (2003) dargelegt, welche bei 96 % der Patienten mit chronischer Gingivostomatitis FCV-Ausscheidung nachwies. Bemerkenswerterweise wies ein Großteil dieser Katzen (88 %) eine Doppelinfection mit FHV-1 auf, wobei die Autoren die Frage nach der ursächlichen Beteiligung von FHV-1 am Krankheitsgeschehen als ungeklärt ansehen.

Dass rekombinantes felines Interferon eine Wirkung auf pathogene Viren der Katze aufweisen kann, wurde schon 1993 durch Ueda et al. beschrieben. Auch eine in vitro Studie von Mochizuki et al. (1994) konnte die verminderte Vermehrung von Caliciviren durch Behandlung von infizierten Zellkulturen mit felinem Interferon beweisen.

In einer Studie von Truyen et al. (2002) wurde gezeigt, dass rekombinantes felines Interferon Omega in vitro eine antivirale Wirkung im Sinne einer Hemmung der Virusvermehrung, eine antiproliferative und eine immunomodulatorische Wirkung bei Infektionen mit felinen Calici-, Herpes- und Coronaviren entfaltet. Die Ergebnisse dieser Arbeiten wurden in einer klinischen Studie durch Mihaljevic (2002) bei Katzen mit chronischer Gingivostomatitis unter Praxisverhältnissen angewendet, um den klinischen Nutzen am Patienten zeigen zu können.

Unsere Absicht war es, diese Ergebnisse unter Anwendung neuer, objektiv messbarer Parameter sowie mit Hilfe von klinischen und virologischen Spezialuntersuchungen zu hinterfragen.

Material und Methodik

Patienten

Zwanzig Patienten der Zahnstation der Veterinärmedizinischen Universität Wien mit chronischer Gingivostomatitis, Plaque und Zahnstein erhielten eine mehrstufige Behandlung. Darunter befanden sich 2 weibliche Katzen, 3 unkastrierte Kater, 8 kastrierte weibliche Katzen und 7 männlich kastrierte Kater. Das durchschnittliche Gewicht der Patienten betrug 3,73 +/- 0,76 kg, das durchschnittliche Alter 6,20 +/- 4,2 Jahre. Fünf Katzenpatienten stammten aus einem Haushalt mit nur einer Katze, 15 Patienten stammten aus einem Mehrkatzenhaushalt.

Am Tag 0 (baseline) wurden initiale subgingivale Injektionen von rekombinantem felinen Omega-Interferon (Virbagen® Omega, Fa. Virbac), pro Kieferquadrant 0,25 ml (= 4 X 1,25 ME) appliziert. Unter Anästhesie wurden am Tag 10 professionelle Zahnreinigungen (Entfernung von Plaque, Zahnstein, scaling, root planing und Politur) mit anschließender 5-tägiger peroraler Applikation von Clindamycin (Antirobe®, Fa. Pfizer) in einer Dosierung von 11 mg/kg KM einmal täglich durchgeführt.

Am Tag 0 und am Tag 10 wurden vor den Behandlungen die Indices von Plaque (Grad 0-4 nach Anfärbung mit einem kombinierten Plaquerelevator) und Gingivitis (Grad 0-4) festgehalten. Am Tag 0, 10 und 20 wurden jeweils gleichbleibende repräsentative Ausschnitte der Gingiva und /oder der oralen Mundschleimhaut fotografiert.

Am Tag 10 und 20 wurden die Tierbesitzer einer eingehenden Befragung unterzogen, wie und wie stark sich das Fressverhalten und die Psyche der Katze zwischen Tag 0 und 10 sowie zwischen Tag 10 und 20 verändert hatten.

Als Kontrollgruppe (n=20) für den Nachweis von FCV dienten 20 Katzen (Alter: 3,06 +/- 3,42 Jahre), welche eine krankheitsfreie Mundhöhle ohne Gingivitis oder Stomatitis aufwiesen.

Fotografische Dokumentation

Die fotografischen Dokumentationen wurden unter folgenden konstanten Bedingungen durchgeführt: um Farbverschiebungen durch wechselnden Tageslichteinfluss zu vermeiden, wurde der Einfluss des Tageslichtes durch Verdunkelung hintangehalten. Die notwendige Beleuchtung der Zahnstation wurde mittels Leuchtstoffröhren mit konstanter Farbtemperatur von 4700 Grad Kelvin gewährleistet. Um Farbverschiebungen durch Einflüsse verschiedener Chargen der Amateur-Dia-Filme auszuschließen, haben wir ausschliesslich eine professionelle Ektachrome-EPN-Charge verwendet, wobei die Filme unverzüglich in einem Professionallabor entwickelt wurden. Der Abbildungsabstand war mit einer Olympus-Spiegelreflexkamera mit 2 extension tubes konstant auf 1:1 eingestellt.

Auswertung des Entzündungsgrades der Gingiva und der Mundschleimhaut

Um neben der Feststellung des Grades der Gingivitis durch den Gingivalindex auch eine Information über die Inflammation der Mundschleimhaut zu bekommen, wurden von den Dias am Tag 0, 10 und 20 großformatige Farbbilder auf professionellem Hochglanzpapier unter geeichten und standardisierten Verhältnissen hergestellt. Diese Bilder wurden von einem Tierarzt, welcher weder an der Veterinärmedizinischen Universität Wien arbeitet noch um die Bedeutung der Bilder informiert war, der jedoch in Farbenlehre speziell ausgebildet ist, anhand einer zur Verfügung gestellten Farbtabelle bei einer Raumbeleuchtung von 4700 Grad Kelvin beurteilt. Dabei wurde aus zahlreichen Stellen in der Mundhöhle mit verschiedenen, je nach Lokalisation wechselnden Entzündungsgraden, ein Mittelwert gebildet. Der Zahlenwert eines bestimmten Entzündungsgrades wurde durch den Vergleich mit einer Farbtafel entnommen, die alle möglichen Stadien einer Inflammation zeigt. Um die bestmögliche, wiederholbare Beurteilung zu gewährleisten, waren den Farbtafelwerten auch genau definierte, in der Farbdruckereibranche übliche Bezeichnungen nach den PANTONE™ - Farbtafelwerten (HIT, Fa. Huber, München, BRD) zugeordnet (gesunde Gingiva: hellrosa, Pantone 1767C, mittelgradige Entzündung Pantone 1785C, hochgradige Entzündung Pantone 199C).

Computergestützte Colorimetrie

Zusätzlich zur oben angeführten Methode wurden alle Dias eingescannt und einer computergestützten Colorimetrie zugeführt. Hierzu wurden von jedem Patienten die drei Digitalbilder der Tage 0, 10 und 20 in das Windows-Programm Photoshop 6.0 geladen und ein für alle 3 Zeitpunkte repräsentativer Ausschnitt gewählt. Der kreisrunde oder fallweise auch ovale Ausschnitt wurde mit dem Zeichenwerkzeug „Auswahlellipse“ ausgewählt. Zu beachten ist, dass man beim Ansetzen des Werkzeugs etwas weiter links oben beginnen sollte, um die repräsentative Lokalisation möglichst genau durch Ziehen mit der Maus (bei gedrückter linker Maustaste) zu umgrenzen. Nach Loslassen der linken Maustaste ist der Kreis durch eine blinkende Umgrenzungslinie zu sehen. Im Menüpunkt „Bild“ > „Histogramm“ kann man den Luminanzwert im aufspringenden Fenster unter „Mittelwert“ ablesen. Je geringer die Luminanz, desto dunkler ist die rote Farbe als Zeichen der Inflammation am Patienten zu interpretieren.

Probenentnahmen

An den Tagen 0 und 10 wurden von allen Patienten Blutproben mit EDTA-Zusatz und am Tag 0 auch medizinisch indizierte Schleimhaut- bzw. Gingivaexzisate entnommen. Ab Patient Nr. 11 wurden weiters am Tag 0 Rachentupfer zwecks Virusisolierung entnommen. Bei positivem Ergebnis wurden auch am Tag 10 nochmals Rachentupfer entnommen.

Von den Kontrollkatzen gelangten ausschließlich Rachentupferproben zur Untersuchung.

Blutstatus

An allen Patienten wurden vor dem Beginn der Behandlungen (Tag 0) ein Blutstatus und eine biochemische Untersuchung durchgeführt.

Virologische Untersuchungen

An allen Patienten wurde am Tag 0 ein Test zum Nachweis von FeLV-Antigen (Snap-Test der Fa. Idexx) durchgeführt.

Die Gingivaproben aller Patienten wurden auf das Vorhandensein von FeLV-spezifischer proviraler DNA mittels nested PCR (Hofmann-Lehmann et al. 2001) sowie auf FCV-spezifische RNA mittels RT-PCR untersucht.

Die Rachentupfer, welche ab Patient Nr. 11 entnommen worden waren, wurden zwecks Isolierung cytopathogener Viren auf Zellkulturen verimpft sowie auf das Vorhandensein von FCoV-spezifischer RNA mittels RT-PCR (Herrewegh et al. 1995) und FHV-1-spezifischer DNA mittels PCR (Reubel et al. 1993, Stiles et al. 1997a) untersucht. Die Blutplasmen von 19 Katzen (von einem Tier war keine Probe verfügbar) wurden auf Antikörper gegen Coronaviren der Gruppe 1 (Möstl 1983) getestet.

Die Gingivaproben aller Katzen, entnommen am Tag 0, wurden mit 135 µl ATL-Puffer (Fa. Qiagen) und 15 µl Proteinase K (Fa. Qiagen) bei 56 °C ca. 1 Stunde verdaut. Die Nukleinsäureextraktion erfolgte mit einem kommerziell erhältlichen Kit (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Fa. Qiagen). Die Untersuchung auf provirale DNA des Felinen Leukämievirus (FeLV) wurde wie bei Hofmann-Lehmann et al. (2001) mittels nested PCR durchgeführt. In jedem Ansatz wurden positive und negative Kontrollen mitgeführt. Für die RT-PCR auf FCV-spezifische RNA wurden die Primer FCV1f (5' GATCCGAGCAGGAGGTGTCA 3'; Position 2698) und FCV1r (5' GCGCCACTCATCGTACTCGT 3'; Position 2983) mit einer Amplifikatgröße von 286 bp unter Verwendung eines kommerziell erhältlichen RT-PCR Kits (OneStep RT-PCR Kit, Qiagen) eingesetzt. Nach zwei initialen Schritten (50°C 30 min, 95°C, 15 min) wurde die PCR in 45 Zyklen zu je 30 sec für die Denaturierung (94 °C), 30 sec für das Annealing (55 °C) und 30 sec für die Elongation (72 °C) durchgeführt.

Die entnommenen Tupferproben wurden im Transportmedium ausgedrückt, dieses abzentrifugiert und der Überstand auf Monolayers von Crandell Feline Kidney Zellen (mit Minimum Essential Medium) verimpft. Die beimpften Zellkulturen wurden täglich bezüglich des Auftretens eines cytopathischen Effektes (cpe) kontrolliert. Im Falle eines cpes wurden die Kulturen durch Frieren auf -80 °C geerntet,

durch Verimpfen auf neuerliche Zellrasen in 96-Loch-Gewebekulturplatten passagiert und nach ca. 24 Stunden Inkubation mittels 96 %igem Äthanol fixiert. Je 2 beimpfte Vertiefungen der 96-Loch-Gewebekulturplatten wurden wie folgt behandelt: indirekter Immunfluoreszenz-Test auf feline Caliciviren (Überschichtung mit Antiserum gegen feline Caliciviren und nach 3 Waschschritten mit FITC-konjugiertem Goat Anti-Cat IgG [Fa. Jackson Immuno Research Lab. Inc.]); direkter Immunfluoreszenz-Test auf felines Herpesvirus 1 (Überschichtung mit FHV direct FA conjugate ready to use [Fa. VMRD, Inc., Szabo-Scandic]); negative Kontrolle (Überschichtung mit Puffer und nach 3 Waschschritten mit FITC-konjugiertem Goat Anti-Cat IgG). Anhand von positiven Kontrollen (mit felinem Calicivirus- bzw. felinem Herpesvirus 1-Stamm beimpfte Zellkulturen) wurde die Methodik überprüft. Die Beurteilung der Fluoreszenz erfolgte mittels UV-Mikroskopes.

Der Überstand des Tupfers wurde weiters zum Nachweis von Coronavirus-spezifischer Nukleinsäure verwendet. Die RNA-Extraktion erfolgte wie oben beschrieben, die RT-PCR wurde wie bei Herrewegh et al. (1995) angegeben durchgeführt. Außerdem wurde das Tupfermaterial mittels nested PCR auf das Vorhandensein von FHV-1 spezifischer DNA untersucht. Es wurde ein 224 bp großes Segment des Thymidinkinase-Gens amplifiziert, wobei die externen Primer wie bei Reubel et al. (1993) beschrieben und die internen Primer und das PCR-Protokoll wie bei Stiles et al. (1997a) angegeben eingesetzt wurden.

Die entnommenen Blutproben wurden abzentrifugiert und die Plasmen mittels indirektem Immunfluoreszenz-Test auf Antikörper gegen Coronaviren der Gruppe 1 untersucht. Die Methode erfolgte wie bei Möstl (1983) beschrieben, unter Verwendung von 96-Loch-Gewebekulturplatten und FITC-konjugiertem Goat-Anti-Cat IgG (Jackson Immuno Research Lab. Inc., West Grove, PA, USA). Die Plasmen wurden in den Verdünnungen 1:10, 1:100 und 1:400 angesetzt. Die Beurteilung erfolgte im UV-Mikroskop, die letzte Verdünnung mit klar erkennbarer Fluoreszenz wurde als Titer gewertet.

Von den Patienten Nr. 11 bis 20 wurde sowohl im Blut als auch in den Gingivabiopsien das Vorhandensein von FIV-spezifischer Nukleinsäure mittels PCR untersucht. Bei 9 dieser Patienten wurde auch das CD4/CD8 Verhältnis an den Blutproben der Tage 0 und nach der professionellen Zahnreinigung ermittelt.

Zum Nachweis von FIV-spezifischer Nukleinsäure wurde ein modifiziertes Protokoll von Klein et al. (2000) verwendet. Die wesentlichen Unterschiede bestehen in der Verwendung einer anderen Taq DNA Polymerase (AmpliTaq Gold, Fa. Applied Biosystems) und einem geänderten Temperaturprofil. Nach einem ersten Denaturierungsschritt von 5 min bei 95 °C folgten 38 Zyklen mit einem Temperaturprofil von 15 sec bei 94 °C, 30 sec bei 56 °C und 60 sec bei 72 °C. Anschließend erfolgte ein zusätzlicher Elongationsschritt von 3 min bei 72 °C (GeneAmp 2400, Fa. Applied Biosystems).

CD4 / CD8-Bestimmung mittels Durchflußzytometrie

Zur Bestimmung des Immunstatus der Katzen wurde das Verhältnis von CD4-positiven T-Helfer Zellen (CD4-Zellen) zur Anzahl der CD8-positiven Zellen (CD8-Zellen) mit Hilfe der Durchflußzytometrie bestimmt. Für die Detektion von CD4 und CD8 wurden nicht-konjugierte Antikörper verwendet (B. Willett, University of Glasgow). Der Nachweis der Primärantikörper erfolgte mit Hilfe von Fluoreszeinisothiocyanat (FITC; Fa. Zymed)- oder Phycoerythin (PE)- konjugierten Zweitantikörpern (Fa. Dako). Erst- und Zweitantikörper wurden für 20 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurden 100 µl Vollblut mit diesem Antikörperkomplex für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Erythrozyten wurden mit einer 1:10 verdünnten FACS Lysing Solution (Fa. Becton Dickinson) lysiert und anschließend zweimal mit CellWASH (Fa. Becton Dickinson,) gewaschen. Die durchflußzytometrische Messung erfolgte an einem FACSCalibur (Fa. Becton Dickinson). Pro Messung wurden 10000 Leukozyten gemessen und mittels der CellQUEST-Pro Software (Fa. Becton Dickinson) ausgewertet.

Statistische Auswertung

Die ermittelten Werte für die Plaqueindices sowie die Entzündungsgrade der Gingiva und der Mundschleimhaut an den Tagen 0, 10 und 20 bildeten die Grundlage für die statistische Auswertung im Programm SPSS für Windows (Wilcoxon-Test). Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ herangezogen. Ebenso erfolgte die statistische Auswertung der ermittelten Werte für CD4/CD8-Bestimmungen an den Tagen 0 und 10.

Ergebnisse

Blutstatus

Bei 2 Katzen war die Anzahl der Leukozyten geringgradig verändert (1 Patient erhöht, 1 Patient erniedrigt). Im Differentialblutbild waren bei 3 Patienten die Lymphozyten geringgradig erniedrigt, bei 2 Patienten geringgradig erhöht. Die Segmentkernigen waren bei 4 Katzen geringgradig erniedrigt, bei 6 Patienten gering- bis mittelgradig erhöht. Bei 11 Patienten war eine gering- bis mittelgradige Eosinophilie vorhanden. Bei 3 Katzen war der Kreatininwert gering erhöht, bei 8 Patienten der MCHC geringgradig erhöht.

Bei 2 Katzen war der Glucosespiegel geringgradig, bei 12 Patienten mittel- bis hochgradig erhöht. Bei 15 Patienten war das Totalprotein gering- bis mittelgradig erhöht.

Klinische Ergebnisse

Bei allen 20 Katzen ist eine Besserung der klinischen Befunde aufgetreten. Alle Ergebnisse sind als Durchschnittswerte +/- Standardabweichung der bei den 20 Patienten erhobenen Befunde angegeben.

Plaque (Abb. 1 A)

Plaqueindex am Tag 0 (vor subgingivaler Injektion von Omega-Interferon):

2,21 +/- 1,33

Plaqueindex am Tag 10 (vor professioneller Zahnreinigung):

1,84 +/- 1,27

Der Plaqueindex war am Tag 10 gegenüber dem Tag 0 signifikant verringert ($p < 0,001$).

Gingivitis (Abb. 1 B)

Gingivitisindex am Tag 0 (vor subgingivaler Injektion von Omega-Interferon):

2,15 +/- 1,12

Gingivitisindex am Tag 10 (vor professioneller Zahnreinigung):

1,62 +/- 1,04

Der Gingivitisindex war am Tag 10 gegenüber dem Tag 0 signifikant verringert ($p < 0,001$).

Auswertung des Entzündungsgrades der Gingiva und der Mundschleimhaut (Abb. 2 A)

Farb -Tonwert am Tag 0 (vor subgingivaler Injektion von Omega-Interferon):

57,63 +/- 31,39

Farb -Tonwert am Tag 10 (vor professioneller Zahnreinigung):

95,77 +/- 34,68

Farb -Tonwert am Tag 20 (10 Tage nach professioneller Zahnreinigung):

106,31 +/- 33,97

Die Erhöhung der Farb-Tonwerte war signifikant, und zwar

zwischen Tag 0 und 10 ($p < 0,001$)

zwischen Tag 10 und 20 ($p = 0,027$)

zwischen Tag 0 und 20 ($p < 0,001$).

Colorimetrische Auswertung (Abb. 2 B und Abb. 3 a und b)

Luminanz -Tonwert am Tag 0 (vor subgingivaler Injektion von Omega-Interferon):

94,44 +/- 19,55

Luminanz -Tonwert am Tag 10 (vor professioneller Zahnreinigung):

119,87 +/- 23,65

Luminanz-Tonwert am Tag 20 (10 Tage nach professioneller Zahnreinigung):

124,65 +/- 24,34

Die Erhöhung der Luminanz-Tonwerte war signifikant, und zwar

zwischen Tag 0 und 10 ($p < 0,001$)
zwischen Tag 10 und 20 ($p = 0,02$)
zwischen Tag 0 und 20 ($p < 0,001$).

Virologische Ergebnisse

Bei keinem Patienten war im Blut FeLV-Antigen nachweisbar. In keiner der Gingivaproben konnte FeLV-spezifische provirale DNA detektiert werden.

Bei den untersuchten Patienten (Nr. 11 bis 20) waren sowohl im Blut als auch in den Gingivaproben keine proviralen FIV-Sequenzen nachweisbar.

Während die PCR auf FCV-spezifische Nukleinsäure in allen Gingivaproben negativ ausfiel, konnte bei 9 der 10 Katzen (alle aus Mehrkatzenhaushalten) aus den auf Zellkultur verimpften Rachentupferproben der Tage 0 felines Calicivirus isoliert werden (Abb. 4). Von allen 9 Katzen, bei denen am Tag 0 felines Calicivirus aus dem Rachentupfer isoliert worden war, enthielten auch die Rachentupferproben vom Tag 10 felines Calicivirus.

Die Isolierung von Felinem Herpesvirus 1 gelang aus keiner der Rachentupferproben. Allerdings ergab die PCR auf FHV-1 spezifische Nukleinsäure an einer der 9 Calicivirus-positiven Proben ebenfalls ein positives Ergebnis.

Die RT-PCR auf Coronavirus-spezifische RNA fiel an allen 10 untersuchten Rachentupferproben negativ aus.

Die serologische Untersuchung auf Coronaviren der Gruppe 1 ($n=19$) ergab nur bei 2 Tieren ein negatives Ergebnis (89,5 % der Tiere waren seropositiv). Eine Katze wies einen Titer von 1:10, 8 Katzen von 1:100, eine von 1:100-400 und 7 Katzen von $\geq 1:400$ auf.

Aus den Rachentupferproben der 20 Kontrollkatzen konnte nur aus einer einzigen Probe FCV isoliert werden.

CD4 / CD8 Verhältnis im Blut (Abb. 5)

Bei den Patienten Nr. 12 bis 20 war das CD4 / CD8 - Verhältnis am Tag 0 $1,96 \pm 0,49$ und stieg dann leicht auf $2,23 \pm 0,85$ an. Der Unterschied vor und 10 Tage nach subgingivaler Injektion von Virbagen® Omega war nicht signifikant ($p=0,31$).

Psychologische Auswertung

Die am Tag 10 durchgeführte Befragung der Besitzer erbrachte folgende Antworten (auch Mehrfachnennungen !):

Frisst besser, frisst mehr: 18 Tierbesitzer

Ist zutraulicher, zugänglicher: 15 Tierbesitzer

Verkriecht sich nicht mehr: 13 Tierbesitzer

Hat eindeutig weniger Schmerzen: 12 Tierbesitzer

Schöneres Haarkleid, weniger Haarausfall: 11 Tierbesitzer

Frisst sogar hartes Futter wieder: 5 Tierbesitzer

Hat weniger Mundgeruch: 2 Tierbesitzer

Nur 2 Tierbesitzer berichteten, dass sich bis auf eine vermehrte Zutraulichkeit keine Verbesserung ergab.

Bei der am Tag 20 durchgeführten Befragung bemerkten viele Tierbesitzer eine nochmalige Steigerung des Wohlbefindens und der Fresslust. Detailliert ergab sich dabei folgendes Resultat:

Frisst noch besser, frisst noch mehr: 10 Tierbesitzer

Ist noch zutraulicher, noch zugänglicher: 6 Tierbesitzer

Verkriecht sich noch weniger: 5 Tierbesitzer

Hat eindeutig noch weniger Schmerzen: 6 Tierbesitzer

Noch schöneres Haarkleid, noch weniger Haarausfall: 5 Tierbesitzer

Frisst noch mehr hartes Futter: 5 Tierbesitzer

Diskussion

Über erste Therapieansätze mit Interferon berichten Mochizuki et al. (1994) in vitro, wobei die Vermehrung der Caliciviren mit rekombinantem felinen Interferon gehemmt werden konnte. Ähnliche

Ergebnisse erzielten Ueda et al. (1993) in vivo, wobei nach einer Applikation von rekombinantem felinen Interferon die 2'5' Adenylatsynthetase 3 Tage lang erhöht war. Drei Stunden nach der i.v. Applikation war Interferon in Thyreoidea, Urin und im Magendarmtrakt nachweisbar. Nachdem die Adenylatsynthetase die RNase L reguliert und diese wiederum die virale mRNA degradiert, scheint diese gezielte Interferonwirkung für die Verminderung der viralen Belastung des Patienten von Bedeutung zu sein, wobei nach Hartmann et al. (1998) diese Wirkung durch einen Paramunitätsinducer bei der FeLV-Virämie nicht erzielt werden kann.

Eine weitere in-vitro Studie von Truyen et al. (2002) konnte beweisen, dass rekombinantes felines Omega-Interferon in der Zellkultur die Vermehrung verschiedener Viren der Katze (FCV, FHV, FCoV, Panleukopenie-Virus) hemmt.

Im Gegensatz zu bisherigen Arbeiten, in welchen der Entzündungsgrad ausschliesslich mittels Gingivitisindex beurteilt wurde, haben wir zusätzlich noch eine computergestützte colorimetrische Methode entwickelt, welche eine objektive Farbtonbeurteilung erlaubt. Diese hiermit erstmals beschriebene Methode erlaubt es, verschiedene Rottöne als Zeichen verschiedener Entzündungsgrade ohne die geringste Subjektivität menschlichen Sehens mittels exakter Zahlen zu definieren.

Mit Hilfe dieser objektiven Methoden konnten wir eine signifikante Verbesserung der Inflammation sowie eine signifikante Verminderung der Plaquebakterien als Folge der subgingivalen Injektion von Virbagen® Omega feststellen.

Dass neben der Verringerung der Inflammation (Grad der Gingivitis, mittels dreierlei verschiedener, voneinander unabhängiger Methoden bestimmt), auch eine signifikante Verringerung der Plaqueindices festgestellt wurde, könnte mit der verringerten Belastung des Immunsystems durch die antivirale Wirkung des felinen rekombinanten Interferon Omega erklärt werden.

Die Erfolge bei der Behandlung unserer Patienten sind auch in sehr guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Mihaljevic (2002), welche jedoch neben der subgingivalen Injektion von Virbagen® Omega zusätzlich auch subcutane Applikationen im Rahmen der sogenannten 3- oder 5-Tages-Therapie durchführte und bei manchen Patienten auch Begleittherapien mit Megestrolacetat und Antibiotika angewendet hat.

Die Infektion mit Viren (FCV, FeLV, FIV, FHV) ist für die Pathogenese und Erkrankung bei chronischer Gingivostomatitis von grosser Bedeutung (Harvey 1991, Reubel et al. 1992, Uthman et al. 1996, Lommer und Verstraete 2003). In der vorliegenden Untersuchung konnte von den in der Literatur bei chronischer Gingivostomatitis beschriebenen Virusinfektionen vor allem FCV nachgewiesen werden, dieses allerdings in den Rachentupfern von 9 der 10 untersuchten Patienten, im Vergleich zu nur einer einzigen FCV-positiven Katze in der Kontrollgruppe der 20 Mundhöhlen-gesunden Tiere. Dies bestätigt die in der Literatur beschriebene bedeutende Beteiligung von Caliciviren bei chronischen inflammatorischen Problemen in der Mundhöhle von Katzen, wobei die ermittelte Zahl positiver Tiere gut mit der bei Knowles et al. (1989) und Lommer und Verstraete (2003) beschriebenen übereinstimmt. Für die Pathogenese der verschiedenen Lokalisationen inflammatorischer Bezirke scheinen ursächlich mehrere Virustypen verantwortlich zu sein. Dawson et al. (1993) typisierten verschiedene Calicivirus-Isolate und konnten zeigen, dass Patienten mit akuter oral-respiratorischer Erkrankung ein anderer Virustyp zugeordnet werden kann als bei Katzen mit chronischer Gingivostomatitis. Nach Reubel et al. (1992) wird die chronische Entzündung des *arcus palatoglossus* (synonym für Faucitis, Plasmazellgingivitis) durch eine abnorme Immunantwort auf eine chronische Infektion mit FCV verursacht, wobei auch eine autodestruktive Komponente möglich ist.

Die Komplexität der Pathogenese der Gingivostomatitis ist auch durch die hohe Variabilität der Caliciviren vermutlich in der E Region (Aminosäuren 426 bis 458) des Capsidproteins bedingt (Kreutz et al. 1998). Dass eine virale Infektion bei Katzen jedoch nicht immer zur Erkrankung führen muss, hat Pedersen schon 1992 bewiesen. Gemäss dieser Arbeit können orale Inflammationen durch FeLV, FIV und FCV hervorgerufen werden, die experimentelle Infektion mit FCV hat jedoch nie zu chronischen oralen Erkrankungen geführt. Das ulzeroproliferative Erscheinungsbild jedoch wird eher einer persistierenden FCV Infektion mit atypischer Immunantwort zugeordnet. Knowles et al. (1991) konnten nach experimentellen Infektionen keine chronische Stomatitis erzeugen, auch Truyen et al. (1999) fanden nach einer experimentellen Infektion von SPF Katzen mit 2 verschiedenen FCV-Stämmen (gewonnen von respiratorisch bzw. oral erkrankten Patienten) keine Unterschiede (respiratorisch oder oral) in der klinischen Manifestation.

Im Gegensatz zu Lommer und Verstraete (2003), welche bei 88% der Patienten mit chronischer Gingivostomatitis FCV und FHV-1 aus der Mundhöhle isolieren konnten, gelang die Isolierung von FHV-1 in unserem Patientenmaterial nicht, in einer Probe konnte allerdings mittels PCR FHV-1 spezifische Nukleinsäure nachgewiesen werden. Die höhere Sensitivität der PCR verglichen mit der

Virusisolierung wird auch von anderen Autoren, wie z.B. von Stiles et al. (1997b) und von Burgesser et al. (1999) beschrieben. Auch wenn nach Lommer und Verstraete (2003) die Rolle der Herpesvirusinfektion bei der Katze mit chronischer Gingivostomatitis noch unklar erscheint, konnten diese Autoren bei Katzen mit solitärer Parodontitis ohne chronische Gingivostomatitis nur 21% FCV/ FHV - positive Katzen finden.

In der vorliegenden Untersuchung konnte keine FeLV-positive Katze (weder virämisch bzw. antigenämisch noch in den Gingivaproben) und keine FIV-positive Katze (weder virämisch noch in der Gingiva) nachgewiesen werden. Auch die FCV-positiven Befunde beschränkten sich auf die Rachentupfer, während in den Gingivaexcisaten keine FCV-spezifische Nukleinsäure nachgewiesen werden konnte.

Die ermittelte Seroprävalenz gegen Coronaviren der antigenetischen Gruppe 1 ist mit 89,5 % hoch einzustufen, was damit im Zusammenhang stehen könnte, dass der Großteil der Patienten aus Mehrkatzenhaushalten stammte, in denen die Seroprävalenz erfahrungsgemäß höher ist als bei einzeln gehaltenen Tieren. Dennoch war aus keinem der 10 Rachentupfer virale Nukleinsäure nachzuweisen.

Unabhängig von den verschiedenen Viren kommt bei Patienten häufig eine Hyperglobulinämie vor (Zetner et al. 1989, White et al. 1992). Auch in der vorliegenden Arbeit war bei 15 von 20 Patienten das Totalprotein erhöht, sodass man annehmen muss, dass auch hier die Überproduktion von IgG, IgA und IgM (Zetner et al. 1989) eine Rolle spielt, wenngleich der pathophysiologische Mechanismus der Immunantwort noch nicht ganz geklärt ist. Harley et al. konnten 1999 zeigen, dass bei Katzen mit chronischer Gingivostomatitis eine erhöhte Expression der mRNA für Interleukine (IL 2,4,6,10,12) und Interferon gamma nachgewiesen werden kann.

Die ermittelten CD4/CD8-Verhältnisse waren schon vor der Therapie im Normbereich (Langbein et al. 2003) und haben sich erwartungsgemäß während der Therapie nicht signifikant verbessert.

Abschliessend kann hiermit festgestellt werden, dass die pro Kieferquadrant erfolgte subgingivale Injektion von 0,25 ml Virbagen® (entspricht insgesamt 4 X 1,25 ME) eine wertvolle Ergänzung der derzeit bekannten Therapieformen darstellt und im Rahmen einer Parodontalbehandlung zusätzlich zur Entfernung von Plaque und Zahnstein, scaling und root planing angewendet werden sollte. Neben der durch die Gingivostomatitis bedingten Verringerung der Schmerzen und der infolge verminderter viraler Belastung bedingten Verbesserung der Immunitätslage ist besonders die auffällige, positive Veränderung des Verhaltens für die Tierbesitzer offensichtlich, welche sie schon nach wenigen Tagen bemerken.

Literatur

- BURGESSER, K.M., HOTALING, S., SCHIEBEL, A., ASHBAUGH, S.E., ROBERTS, S.M., COLLINS, J.K.: Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11, 122-126 (1999).
- DAWSON, S., McARDLE, F., BENNETT, M., CARTER, M., MILTON, I.P., TURNER, P., MEANGER, J., GASKELL, R.M.: Typing of feline calicivirus isolates from different clinical groups by virus neutralisation tests. *Vet. Rec.* 133, 13-7 (1993).
- HARLEY, R., HELPS, C.R., HARBOUR, D.A., GRUFFYD-JONES, T.J., DAY, M.J.: Cytokine mRNA expression in lesions with chronic gingivostomatitis. *Clin-Diagn-Lab-Immunol.* 6, 471-478 (1999).
- HARVEY, C.E.: Oral Inflammatory Diseases in Cats. *Journ.Am.Anim.Hosp.Ass.* 27, 585-591 (1991).
- HARVEY, C.E., THORNSBERRY, C., MILLER, B.R.: Subgingival Bacteria-Comparison of Culture Results in Dogs and Cats with Gingivitis. *J. Vet. Dent.* 12, 147-150 (1995).

- HARTMANN, K., BLOCK, A., FERK, G., VOLLMAR, A., GOLDEBRG, M., LUTZ, H.: Treatment of feline leukemia virus-infected cats with paramunity inducer. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 65, 2-4, 267-275 (1998).
- HERREWEGH, A.A.P.M., DeGROOT, R.J., CEPICA, A., EGBERINK, H.F., HORZINEK, M.C., ROTTIER, P.J.M.: Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J.Clin.Microbiol.* 33, 684-689 (1995).
- HOFMANN-LEHMANN, R., HUDER, J.B., GRUBER, S., BORETTI, F., SIGRIST, B., LUTZ, H.: Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *J.Gen.Virol.* 82, 1589-1596 (2001).
- KLEIN, D., MUSIL, C., HIRT, R., GOLD, P., THALHAMMER, J.G., GÜNZBURG, W.H.: Möglichkeiten und Grenzen neuer molekularer Untersuchungsmethoden in der klinischen Mikrobiologie: dargestellt am Beispiel des feline Immundefizienzvirus. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 87, 269-267 (2000).
- KNOWLES, J.O., McARDLE, F., DAWSON, S., CARTER, S.D., GASKELL, C.J., GASKELL, R.M.: Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. *Vet. Microbiol.* 27, 205-219 (1991).
- KNOWLES, J.O., GASKELL, R.M., GASKELL, C.J., HARVEY, C.E., LUTZ, H.: Prevalence of feline calicivirus, feline leukemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis. *Vet. Rec.* 124, 336-338 (1989).
- KREUTZ, L.C., JOHNSON, R.P., SEAL, B.S.: Phenotypic and genotypic variation of feline calicivirus during persistent infection of cats. *Vet. Microbiol.* 59, 229-236 (1998).
- LANGBEIN, I., KÜHNLEIN, P., SCHIMMER, C., VAHLENKAMP, T.W., HUEBNER, J., MÜLLER, E.: Durchflußzytometrische Bestimmung der Lymphozyten-subpopulationen im peripheren Blut von Hunden und Katzen. *Kleintierpraxis* 48: 537-546 (2003).
- LOMMER, M.J., VERSTRAETE, F.J.M.: Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 18, 131-134 (2003).
- MIHALJEVIC, S. Y.: Erste klinische Erfahrungen mit dem Einsatz von Interferon. *Proceedings BPT Kongress 2002, Nürnberg*, 163-170 (2002).
- MOCHIZUKI, M., NAKATANI, H., YOSHIDA, M.: Inhibitory effects of recombinant feline interferon on the replication of feline enteropathogenic viruses in vitro. *Vet. Microbiol.* 39, 145-152 (1994).
- MÖSTL, K.: Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Feline Infektiösen Peritonitis in Katzenserum und Peritonealexsudaten. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 70, 318-323 (1983).
- PEDERSEN, N.: Inflammatory oral cavity diseases of the cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 22, 1323-1345 (1992).
- POULET, H., BRUNET, S., SOULIER, M., LEROY, V., GOUTEBROZE, S., CHAPPUIS, G.: Comparison between acute oral/respiratory and chronic stomatitis/gingivitis isolates of feline calicivirus: pathogenicity, antigenic profile and cross-neutralisation studies. *Arch. Virol.* 145, 243-261 (2000).
- REUBEL, G.H., HOFFMANN, D.E., PEDERSEN, N.: Acute and chronic faucitis of domestic cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 22, 1347-1360 (1992).
- REUBEL, G., RAMOS, R., HICKMAN, A., RIMSTAD, E., HOFFMANN, D., PEDERSEN, N.: Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infections using polymerase chain reaction. *Arch. Virol.* 132, 409-420 (1993).

STILES, J., McDERMOTT, M., BIGSBY, D., WILLIS, M., MARTIN, C., ROBERTS, W., GREENE, C.: Use of nPCR to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis. *Am. J. Vet. Res.* 58, 338-342 (1997a).

STILES, J., McDERMOTT, M., WILLIS, M., ROBERTS, W., GREENE, C.: Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying feline herpesvirus in cats with conjunctivitis. *Am. J. Vet. Res.* 58, 804-807 (1997b).

TRUYEN, U., BLEWASKA, S., SCHULTHEISS, U.: Untersuchung der antiviralen Wirksamkeit von Interferon-Omega (IFN-?) gegen ausgewählte Viren von Hund und Katze. *Praktischer Tierarzt* 83, 862-865 (2002).

TRUYEN, U., GEISSLER, K., HIRSCHBERGER, J.: Tissue distribution of virus replication in cats experimentally infected with distinct feline calicivirus isolates. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 112, 355-358 (1999).

UEDA, Y., SAKURAI, T., KASAMA, K., SATOH, YI., ATSUMI, K., HANAWA, SY., UCHINO, T., YANAI, A.: Pharmacokinetic properties of recombinant feline interferon and its stimulatory effect on 2',5'-oligoadenylate synthetase activity in the cat. *Journal of Veterinary Medical Science* 55, 1-6 (1993).

UTHMAN, A., MÖSTL, K., ZETNER, K., STEURER, I., TSCHACHLER, E.: Detection of sequences of Feline Leukemia Virus in chronically inflamed oral tissue of FeLV-non-viremic cats by using polymerase chain reaction. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 83, 195-198 (1996).

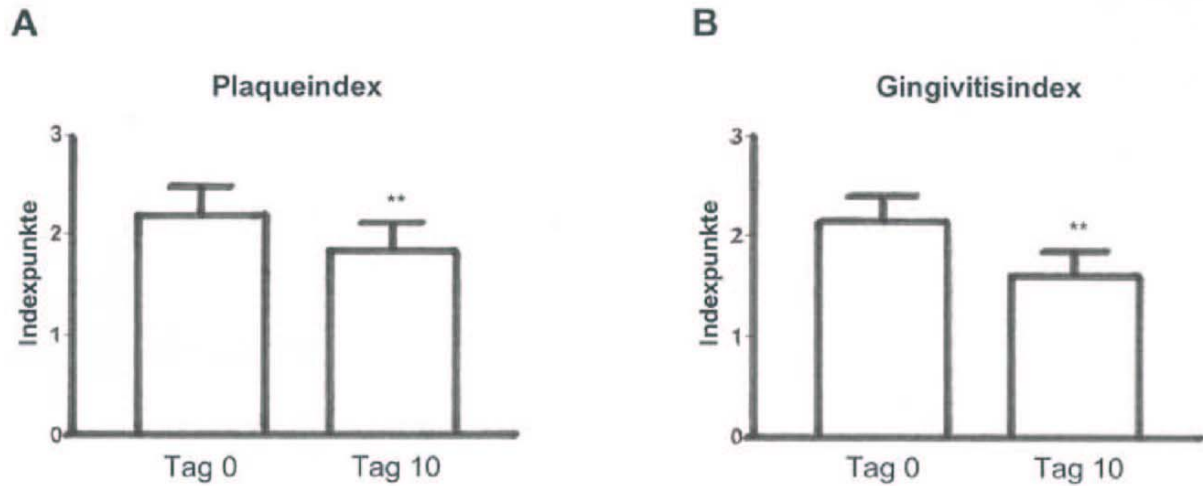
WHITE, S.D., ROSYCHUK, R.A.W., JANIK, T.A., DENEROLLE, P., SCHULTHEISS, P.: Plasma cell stomatitis-pharyngitis in cats. *J.Am.Vet.Med.Ass.* 200, 1377-1380 (1992).

ZETNER, K., KAMPFER, P., LUTZ, H., HARVEY, C.: Vergleichende immunologische und virologische Untersuchungen von Katzen mit chronischen oralen Erkrankungen. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 76, 303-308 (1989).

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. Karl Zetner und DDr. Camil Stoian, Klinisches Department für Kleintiere und Pferde, Klinik für Chirurgie, Augenheilkunde und Zahnheilkunde, Prof. Dr. Karin Möstl und Dr. Viviane Benetka, Klinisches Department für diagnostische Verfahren, Klinische Virologie, Prof. Dr. Dieter Klein, Department für Pathobiologie, Institut für Virologie, alle Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien.
E-mail: Karl.Zetner@vu-wien.ac.at

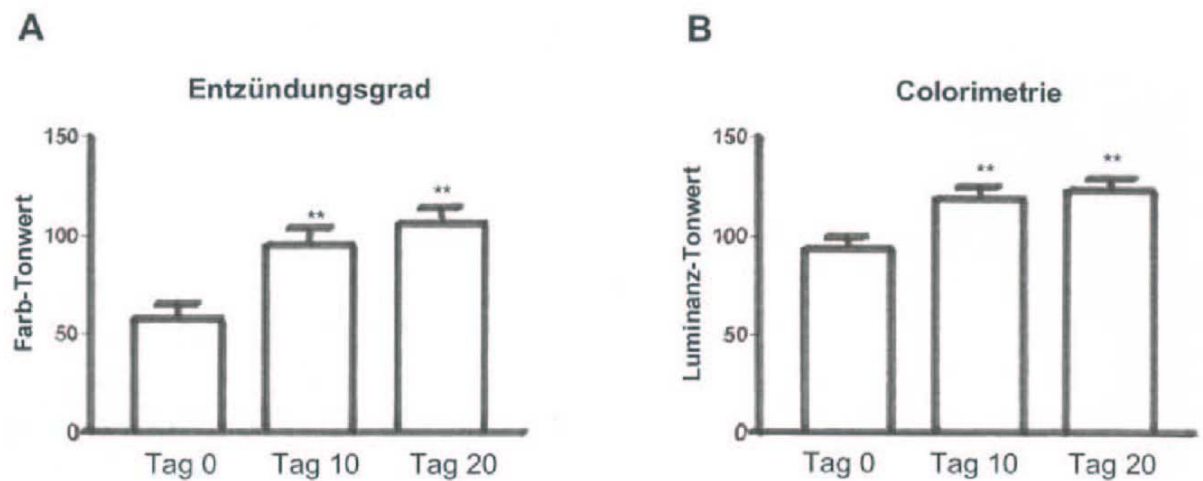
Abbildungen

Abbildung 1



Graphische Darstellung der Ergebnisse des Plaquesindex (A) und des Gingivitisindex (B) am Tag 0 und 10. Hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zum Tag 0 sind gekennzeichnet (**).

Abbildung 2



Graphische Darstellung der Ergebnisse des Entzündungsgrads (A) und der Colorimetrie (B) am Tag 0, 10 und 20. Hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zum Tag 0 sind gekennzeichnet (**).

Abbildung 3



Abb.3a

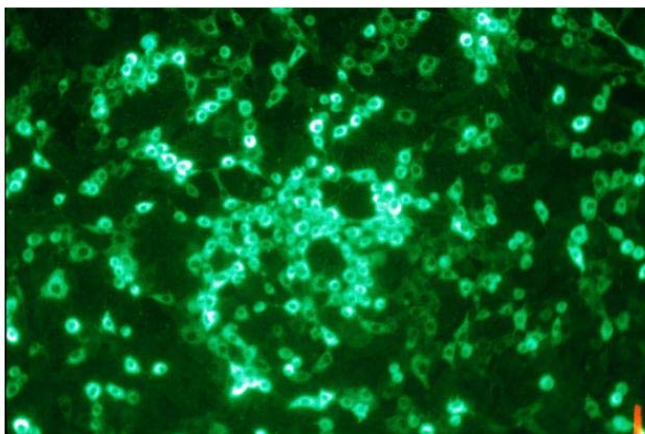
Computerlumineszenz vor der subgingivalen Injektion von Virbagen Omega®



Abb. 3b

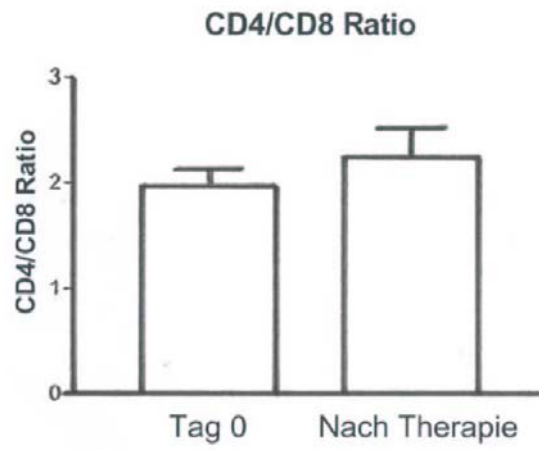
Computerlumineszenz 10 Tage nach der subgingivalen Injektion von Virbagen Omega®

Abbildung 4



Nachweis von Calicivirusantigenen an infizierten Zellkulturen mittels Immunfluoreszenztests

Abbildung 5



Graphische Darstellung der CD4/CD8-Verhältnisse am Tag 0 und nach erfolgter Therapie.