

# Die Infektion mit felinem Leukämievirus : Immunologie und Serodiagnostik als Grundlage der Infektionsbekämpfung

Autor(en): **Lutz, Hans**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **126 (1984)**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-587900>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 126, 1–22, 1984

Aus der Veterinär-Medizinischen Klinik der Universität Zürich  
(Direktor: Prof. Dr. P. F. Suter)

## Die Infektion mit felinem Leukämievirus: Immunologie und Serodiagnostik als Grundlage der Infektionsbekämpfung<sup>1</sup>

### 1. Teil

Hans Lutz<sup>2</sup>

#### 1. Einleitung

Bei der Entstehung von Tumoren des Menschen wird die ätiologische Beteiligung zwar für einige Viren vermutet (Epstein-Barr-Virus, Herpes-simplex-Virus Typ II), lässt sich aber aus naheliegenden Gründen nicht experimentell abklären. In der Veterinärmedizin besteht dagegen kein Zweifel, dass eine ganze Reihe von Tumoren durch Viren verursacht werden können. Es handelt sich dabei um Vertreter aus allen doppelsträngigen DNA-Virusfamilien der Wirbeltiere und aus einer Familie der RNA-Viren, der Retroviridae, zu welcher auch das feline Leukämievirus (FeLV) gehört. Dem FeLV ist während der letzten zehn Jahre erhebliches Interesse aus der Tumorforschung zugekommen, weil die Katzenleukose aus verschiedenen Gründen (Katzen sind nicht ingezüchtet, leben in nahem Kontakt mit dem Menschen) als ideales Modell zum Studium der Leukämiepathogenese betrachtet wurde [44, 135]. Für den Tierarzt und Katzenbesitzer ist das FeLV als Krankheitserreger von Bedeutung, weil FeLV-Infektionen weltweit vorkommen und auch in der Schweiz eine grosse Zahl von Todesfällen verursachen [61, 74]. Es ist der Zweck dieses Übersichtsartikels, dem Kliniker einen Einblick in die neueren Erkenntnisse der FeLV-Forschung zu geben und mit einem Überblick über die heute zur Verfügung stehenden diagnostischen Möglichkeiten die Grundlagen der Infektionsbekämpfung zu vermitteln.

Schon zu Beginn dieses Jahrhunderts erkannten *Ellermann und Bang* (1908), dass die spontane Leukose der Hühner durch einen zellfreien Tumorextrakt übertragen werden konnte [24]. Später fand *Rous* (1911), dass auch ein Sarkom des Huhnes auf ähnliche Weise übertragbar war [171]. *Gross* beschrieb 1951, dass Leukämie bei Mäusen durch ein Virus induziert werden könne [58]. In der Folge wurden als ätiologische Agentien bei all diesen Tumoren sogenannte C-Typ<sup>3</sup> RNA-Viren erkannt [6]. Zu die-

<sup>1</sup> Arbeit ausgeführt mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds, Projekt No. 3.748-0.80

<sup>2</sup> Adresse: Dr. Hans Lutz, Veterinär-Medizinische Klinik, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich

<sup>3</sup> Die Unterteilung in A-, B-, C- und D-Typen oder -Partikel erfolgt aufgrund morphologischer, mittels Elektronenmikroskopie gefundener Kriterien. C-Partikel sind etwa 110 nm gross und erscheinen als sphärische, extrazytoplasmatisch gelegene Teilchen.

sen C-Typ-Viren gehört auch das FeLV, dessen tumorinduzierende Eigenschaften 1964 von *Jarret et al.* erkannt wurden [103, 104].

Das FeLV gehört zur Familie der Retroviridae, Unterfamilie Onkovirinae, welche heute in die Genera der B-, C- und D-Typ-Viren unterteilt wird [37, 137a]. Bei Reptilien, Nagern, Schweinen, Rindern und einigen Primatenarten inklusive dem Menschen sind ebenfalls Onkornaviren nachgewiesen worden [23, 78, 109, 163, 204].

Das FeLV kommt in einer exogenen und endogenen Form vor. Bei der exogenen Form handelt es sich um ein vollständiges, infektiöses Virus, welches horizontal von Tier zu Tier übertragen wird [64, 71, 105, 156, 180]. Nur diese exogene Form ist für den Tierarzt und Katzenbesitzer von Bedeutung. Bei der endogenen Form handelt es sich um ein in der Keimzellen-Desoxyribonukleinsäure (= DNS) normaler Katzen enthaltenes Virusgenom, welches vertikal vom Muttertier auf den Nachwuchs übertragen wird [5, 148, 166]. Das Genom dieser endogenen Virusform ist allerdings kleiner als dasjenige des infektiösen Virus und damit unvollständig [149]. Normale, durch das exogene Virus nicht infizierte Katzenszellen synthetisieren *in vitro* keine durch das Genom des endogenen Virus kodierte Proteine [203]. Vorläufig ist auch noch unklar, ob Sequenzen des endogenen FeLV *in vivo* unter bestimmten Umständen wie z. B. Stress exprimiert werden können oder nicht. Neben dem endogenen, unvollständigen FeLV verfügen normale Katzenszellen noch über ein anderes, vermutlich apathogenes C-Typ-Onkornavirus, das RD-114-Virus [138]. Man vermutet, dass dieses Virus ursprünglich von Altwelt-Primaten auf die Vorfahren der heutigen Katzen übergegangen ist, und sich genetisch auf die heutigen Katzen übertragen hat [204]. Das RD-114-Virus wird zwar durch verschiedene Katzenszelllinien synthetisiert, vermag aber Katzenszellen nicht exogen zu infizieren [121]. Das RD-114-Virus wird in Katzen in vielen Geweben, unter anderem auch in Tumoren des lymphatischen Systems exprimiert [143, 144]. Bis heute konnte aber noch nie gezeigt werden, dass dieses Virus mit Krankheiten der Katze in ätiologischem Zusammenhang steht.

Das FeLV kommt in 3 Subtypen vor (FeLV<sub>A</sub>, FeLV<sub>B</sub> und FeLV<sub>C</sub>), welche sich aufgrund unterschiedlicher Eigenschaften ihrer Hülle durch Interferenztests und Wirtszellspektrum differenzieren lassen [97, 98, 176, 177, 179]. Während FeLV<sub>A</sub> in allen von infizierten Katzen gewonnenen Virusisolaten vorkommt, und FeLV<sub>B</sub> bei einem grossen Teil der Virusisolate mitbeteiligt ist, lässt sich FeLV<sub>C</sub> nur sehr selten isolieren und auch nur zusammen mit FeLV<sub>A</sub> als sogenanntes FeLV<sub>AC</sub> oder zusammen mit FeLV<sub>AB</sub> als FeLV<sub>ABC</sub> [98, 177]. Bis heute ist noch unklar, ob die verschiedenen Virussubtypen mit bestimmten Erkrankungen wie beispielsweise den verschiedenen Lymphosarkomformen in Zusammenhang stehen [98]. *Jarrett* und Mitarbeiter zeigten, dass FeLV<sub>AB</sub> häufiger bei kranken Katzen vorkommt als FeLV<sub>A</sub> [98, 99]. Sie stellten zudem die Hypothese auf, dass FeLV<sub>C</sub> zu aplastischer Anämie führen kann [98, 99, 134]. Vor kurzem gelang es der Forschergruppe von *Jarrett*, die zur aplastischen Anämie führenden Eigenschaften des FeLV<sub>C</sub> experimentell näher abzuklären [153]. Unreife Erythrozyten- nicht aber Granulozytenvorstufen werden durch FeLV<sub>C</sub> in ihrer Teilungsfähigkeit massiv gehemmt. Diese Erythrozytenvorstufen, die sogenannten «burstforming units-erythroid» (BFU-E) verfügen über Rezeptoren, welche dem

FeLV<sub>C</sub>, nicht aber den anderen Subtypen eine Anheftung an die Zellmembran und damit ein Eindringen in die BFU-E gestatten [102].

## 2. Durch FeLV bedingte Krankheiten

Die durch das FeLV verursachten Krankheiten lassen sich in primäre und sekundäre unterteilen.

### 2.1 Primäre durch FeLV bedingte Krankheiten

Zu den primären werden jene Krankheiten gerechnet, welche in unmittelbarem Zusammenhang mit der FeLV-Infektion stehen. Sie gehen von jenen Organen und Zellen aus, in denen sich das FeLV gut vermehrt. Zu diesen primären Krankheiten sind zu rechnen die Tumoren des lymphatischen und myeloischen Systems, Knochenmarksdepressionen, Fertilitätsstörungen und neurologische Ausfallserscheinungen [20, 157].

Bei den mit dem FeLV in Zusammenhang stehenden Tumoren handelt es sich hauptsächlich um Lymphosarkome [68, 110, 131, 133, 167], wobei 3 Formen unterschieden werden können: Eine alimentäre Form (48% im Sektionsgut des Institutes für Veterinärpathologie der Universität Zürich, Ref. 91), eine multizentrische Form (37,0%) und eine Thymus-Form (15,0%). In Schottland und New York wurden andere Häufigkeiten der Tumorformen gefunden und zudem noch eine «unklassierbare Form» abgegrenzt [73, 133].

Im Vergleich zu den Lymphosarkomen sind mit erhöhten Lymphozytenzahlen im peripheren Blut einhergehende Leukämien sehr selten [74, 20]. Vergleichsweise häufig werden dagegen myeloische Leukämien gefunden [17, 68, 74, 77]. Im Zusammenhang mit dem Auftreten von Tumoren ist die Beobachtung interessant, wonach durchschnittlich 70% aller lymphatischen und 90% der myeloischen Tumoren von virämischen Katzen stammen. Die restlichen 30% bzw. 10% stammen von Tieren ohne FeLV-Infektion [17, 41, 73, 74, 131]. Das Verhältnis der virämischen zu nichtvirämischen Tumorträgern ist altersabhängig: Während Lymphosarkome bei Katzen unter 1 Jahr in über 90% mit einer Virämie einhergehen, stammen bei den über 7jährigen Tieren rund 50% von avirämischen Katzen [41, 72, 74, 105, 144]. Ob diese sogenannten FeLV-negativen Tumoren im Zusammenhang mit früher durchgemachten FeLV-Infektionen stehen oder ohne Einfluss durch das FeLV entstehen können, ist zur Zeit noch unklar. Epidemiologische Untersuchungen weisen darauf hin, dass die meisten der FeLV-negativen Tumoren durch einen vorausgegangenen Kontakt mit dem FeLV erklärt werden können [42, 72, 105]. Eine durchgemachte FeLV-Infektion liess sich jedoch mittels neueren, in der Molekularbiologie verwendeten Techniken nicht nachweisen [11].

Knochenmarksdepressionen gehören zu den häufigsten durch FeLV bedingten Erkrankungen. Im Vordergrund stehen hier regenerative und nichtregenerative Anämien, welche oft während Wochen und Monaten mit Hämatokritwerten von unter 10% und mit Erythrozytenzahlen von unter 2 Mio/ $\mu$ l einhergehen [19, 80, 122, 134]. Bei den Leukopenien können sämtliche myeloischen oder aber auch nur einzelne Zelltypen betroffen sein [74]. Zudem können Anämien, Leukopenien und Thrombozytopenien zusammen oder einzeln auftreten [68, 122, 156].

Mit Fertilitätsstörungen ist bei jeder FeLV-positiven Katze zu rechnen. Oft konzipieren Katzen überhaupt nicht. Andere abortieren oder bringen lebensschwache oder tote Junge zur Welt [17, 64, 157]. Kätzchen, die von einer FeLV-positiven Mutter geboren werden, sind und bleiben praktisch immer persistierend virämisch [101, 159]. Kätzchen, welche von Geburt auf FeLV-positiv sind, entwickeln sich in der Regel nicht normal und sterben nach wenigen Wochen [132].

Neurologische Störungen wurden bei Katzen beobachtet, welche während längerer Zeit virämisch waren. Solche Tiere können beidseitig erblinden, einen schwankenden Gang zeigen oder in der Nachhand völlig gelähmt sein. Bei zwei Tieren mit Nachhandlähmungen konnte in den *Nn. ischiatici* und bei einer blinden Katze beidseitig im *N. opticus* mittels der indirekten Immunfluoreszenz und mittels für FeLV spezifischem Antiserum eine massive Infektion des Nervengewebes festgestellt werden [127].

### 2.2 Sekundäre durch FeLV bedingte Krankheiten

Die sekundären durch FeLV bedingten Krankheiten dürften sich vor allem von der mit der FeLV-Infektion einhergehenden Immunsuppression ableiten lassen (siehe auch Kapitel 4.1). Ebenfalls zu den sekundären Krankheiten sind die durch Ablagerung von Immunkomplexen induzierten Iridozyklitiden und Glomerulonephritiden zu rechnen [95]. Diese kommen allerdings auch bei Infektionen mit Herpes- und FIP-Virus vor [112, 213]. Man nimmt an, dass diese Entzündungen dadurch entstehen, dass FeLV-Antigen durch humorale Antikörper gebunden wird. Die entstandenen Immunkomplexe werden zusammen mit der Komplementkomponente 3 ( $C_3$ ) in der Iris im Ziliarkörper und in den Glomerula abgelagert, wo sie mittels spezifischer Antisera in der indirekten Immunfluoreszenztechnik nachgewiesen werden können (Abb. 1).

## 3. Pathogenese der FeLV-Infektion

Katzen infizieren sich in der Regel durch direkten Kontakt mit asymptomatischen FeLV-Ausscheidern oder indirekt durch die Benützung von gemeinsamen Fressgeschirren oder Kot- und Harnabsatzstellen (Katzenkistchen) infizierter Kat-

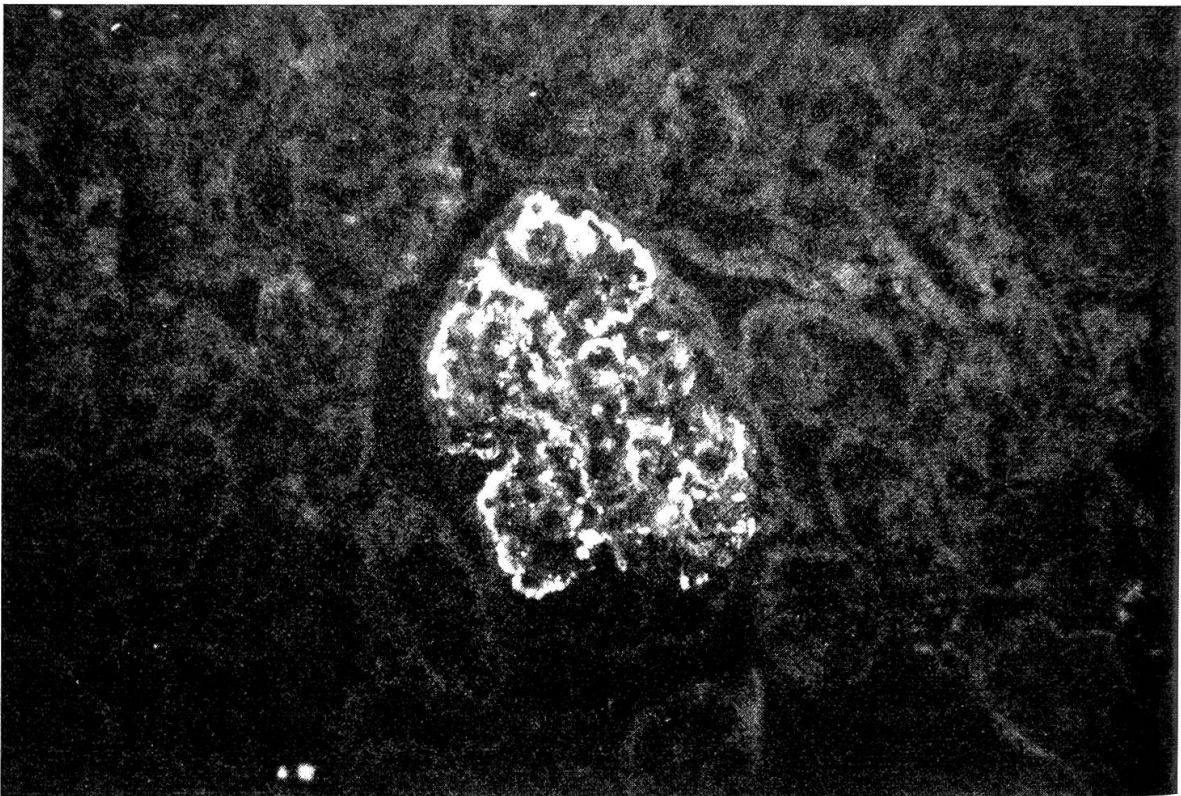


Abb. 1 Immunkomplex-Ablagerung in einem Glomerulum. Die Niere einer persistierend virämischen Katze wurde im flüssigen Stickstoff schockgefroren und im Kryostat geschnitten. Nach Fixation in Azeton bei  $-20^{\circ}\text{C}$  wurde der Schnitt mit fluoreszierendem Kaninchen-anti-Katzenimmunglobulin inkubiert. Die Ablagerungen der Katzenimmunglobuline im Glomerulum sind deutlich zu erkennen. Ähnliche Bilder ergeben sich, wenn Nierenschnitte mit anti-FeLV-Serum inkubiert werden. Häufig wird durch diese abgelagerten Immunkomplexe Komplement aktiviert, was zu Entzündungserscheinungen führen kann.

zen. Als Hauptinfektionsquelle ist der Speichel infizierter Katzen anzusehen, in welchem hohe Konzentrationen von infektiösem Virus (bis zu  $2 \cdot 10^6$  Viruspartikel pro ml) ausgeschieden werden [40, 64]. Als Eintrittspforten kommen vor allem die Mukosa und lymphatischen Gewebe der Maul- und Nasenhöhle in Betracht [79, 169], Zunächst vermehrt sich das Virus in Lymphfollikeln oder Tonsillen in der Nähe der Eintrittspforte [169]. Gelegentlich treten von diesen lokalen Infektionsherden einzelne infizierte Lymphozyten und Monozyten via Lymphgefäße in die Blutbahn über und bringen so das Virus ins Knochenmark. Wenn dieses einmal infiziert ist, vermehrt sich das Virus sehr rasch. In der Folge werden die mit Virusprotein beladenen Granulozyten und Thrombozyten ins periphere Blut ausgeschwemmt und gleichzeitig kommt es zur Virämie, wobei zwischen  $10^3$  und  $10^6$  infektiöse Partikel pro ml Serum gefunden werden können [40, 68, 169].

Im Verlauf dieser Virämie setzt sich das FeLV in den Epithelien von Rachen, Schlund, Magen, Darm, Blase und Speicheldrüsen fest. Durch Virusvermehrung in den Speicheldrüsen und in den Schleimhautepithelien von Darm, Blase, Nasen- und Rachenraum kommt es zur bereits erwähnten Ausscheidung von infektiösem Virus [168], womit der Infektionszyklus geschlossen ist. Persistierend virämische Tiere bleiben unter Umständen während Jahren gesund. In der Regel sind sie aber vermehrt anfällig für Krankheiten, die bei nicht virämischen Tieren kaum auftreten.

Der zur persistierenden Virämie führende Infektionsverlauf betrifft nur wenige Tiere einer dem Infektionsrisiko ausgesetzten Katzenpopulation. In der Regel wird die Ausbreitung der Infektion im Organismus schon frühzeitig beendet, wobei dem Immunsystem die entscheidende Bedeutung zukommt. Neben den verschiedenen Immunmechanismen, auf die in Kapitel 4 näher eingegangen wird, spielen bei der Entstehung einer persistierenden Virämie aber auch noch andere Faktoren eine Rolle, wie die Art der Haltung und das Alter der befallenen Tiere: So werden einzeln gehaltene Katzen nur selten persistierend virämisch, auch wenn sie gelegentlich mit Virusträgern Kontakt haben mögen. Werden dagegen mehrere Tiere einer sogenannten «Grossfamilie» zusammen mit Virusträgern gehalten, so kann der Anteil virämischer Katzen 50% und mehr erreichen [18, 53, 68, 74, 210]. Junge Tiere sind für das FeLV besonders empfänglich, wogegen ältere Tiere sich nur schwer infizieren lassen, auch wenn sie intensiven Kontakt mit Virusträgern haben [53, 81].

#### 4. Die Immunreaktion der Katze

Bei der Beantwortung der Frage, wie das Immunsystem der Katze auf eine FeLV-Infektion reagiert, sind drei Aspekte von Interesse: 1) die Immunsuppression, die oft mit der FeLV-Infektion einhergeht, 2) unspezifische Immunität und zelluläre Abwehrmechanismen sowie 3) die humorale Immunreaktion.

##### 4.1 Immunsuppression

FeLV-Infektionen führen oft zu Immunsuppressionen. Dies geht einerseits aus den klinischen Beobachtungen hervor, wonach z.B. rezidivierende Abszesse, Otitiden, Gingivitiden und schlecht heilende, infizierte Wunden oft bei Katzen gefunden werden, die chronisch mit FeLV infiziert sind. Virämische Katzen leiden auch häufiger an normalerweise harmlos verlaufenden Virusinfektionen

wie der Infektion mit felinem Rhinotracheitisvirus oder felinem Parvovirus [20, 74, 157, 165]. Etwas anders verhält es sich bei der Infektion mit felinem infektiösem Peritonitisvirus (FIPV): Im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur [74, 165] haben wir in eigenen Untersuchungen keine positive Korrelation zwischen FeLV- und FIPV-Infektion gefunden [129].

Neben den klinischen Hinweisen auf die Immunsuppression konnte diese aber auch experimentell nachgewiesen werden. Mit FeLV infizierte Katzen tolerierten Hauttransplantate wesentlich länger als nicht infizierte Kontrolltiere [162]. Diese durch FeLV bedingte Immunsuppression und erhöhte Infektionsanfälligkeit beruht wahrscheinlich nicht auf der im Zusammenhang mit FeLV-Infektionen auftretenden Granulozytopenie, sondern vorwiegend auf einer durch das FeLV bedingten funktionellen Störung der thymusabhängigen Lymphozytenpopulation (T-Lymphozyten) [14, 15, 28, 156, 197]. Eine reine Verminderung der T-Lymphozyten, wie sie im Verlauf einer FeLV-Infektion oft auftritt, kann die Immunsuppression allein nicht erklären. Dies geht aus Experimenten mit FeLV-freien Katzen hervor, bei welchen sich durch Entfernen des Thymus und der damit verbundenen Depletion von T-Lymphozyten keine Immunsuppression induzieren liess [83].

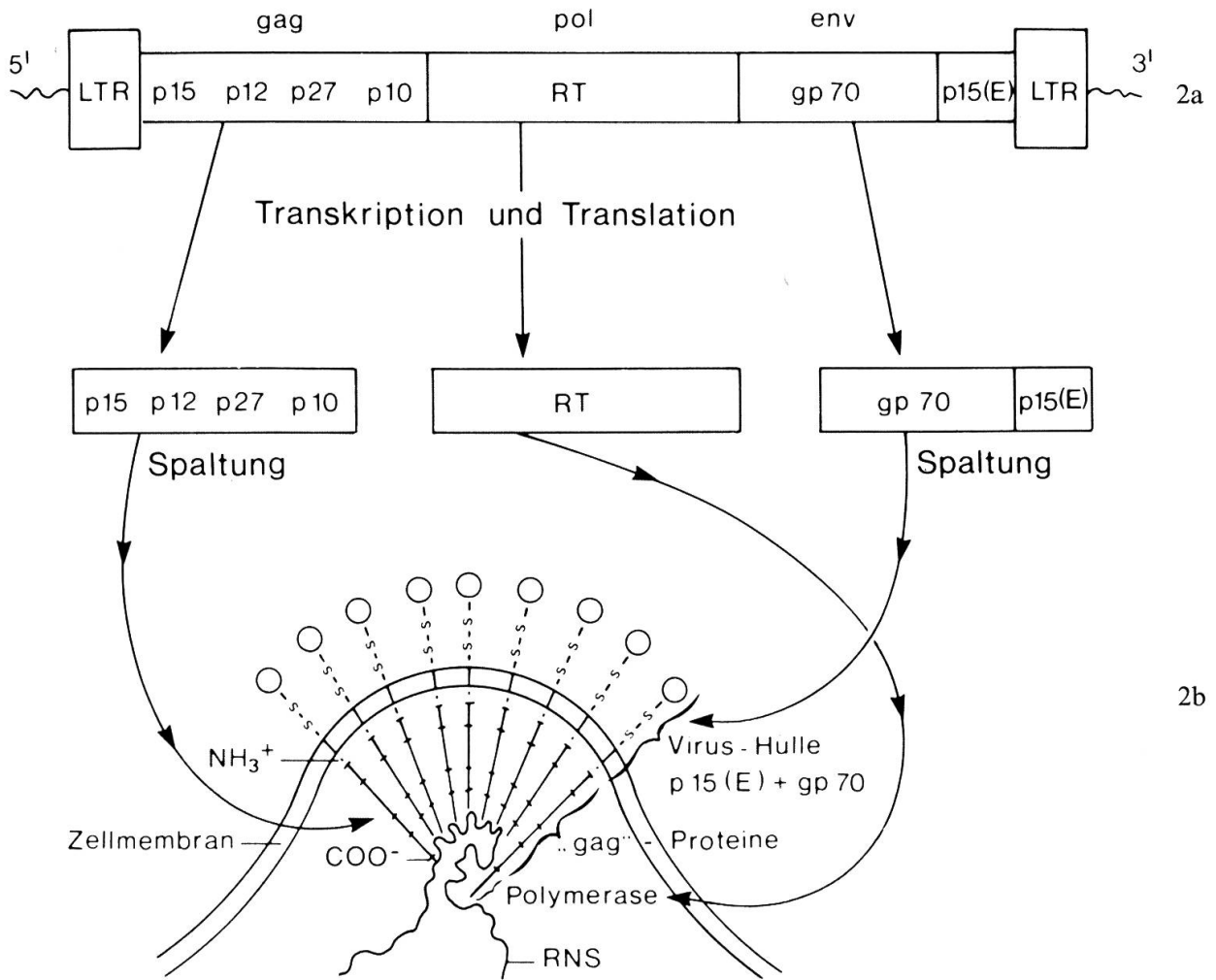
Nach einer neueren Untersuchung von *Mathes et al.* und *Hebebrand et al.* soll das in der Membran des FeLV vorkommende Protein p15(E) besonders hemmend auf T-Lymphozyten wirken,

Abb. 2 a) Schematischer Aufbau des FeLV Provirus-Genoms. Das Virusgenom lässt sich in die 3 Gene «gag», «pol» und «env» unterteilen. Das «gag»-Gen kodiert für die Innenkörperproteine p15, p12, p27 und p10 (p steht für Protein, die dazugehörige Zahl für das Molekulargewicht in Tausend). Die Abkürzung gag ergab sich daraus, dass die Innenkörperproteine z.T. gruppenspezifisches Antigen (oft auch als gsa abgekürzt) enthalten. Die Abkürzungen «gsa» und «gag» werden oft synonym verwendet. Das »pol»-Gen kodiert für die Polymerase, einem Enzym, das im Falle der Retroviren als reverse Transkriptase (RT) von der Virus-RNS eine DNS-Kopie anfertigt, welche als sogenanntes Provirus in die Wirtszell-DNS eingebaut wird. Das «env»-Gen ist für die Komponenten der Virushülle (englisch: envelope) verantwortlich. LTR: Long terminal repeats = Komponenten des Virusgenoms, die für die Kontrolle der Virusreplikation verantwortlich sind.

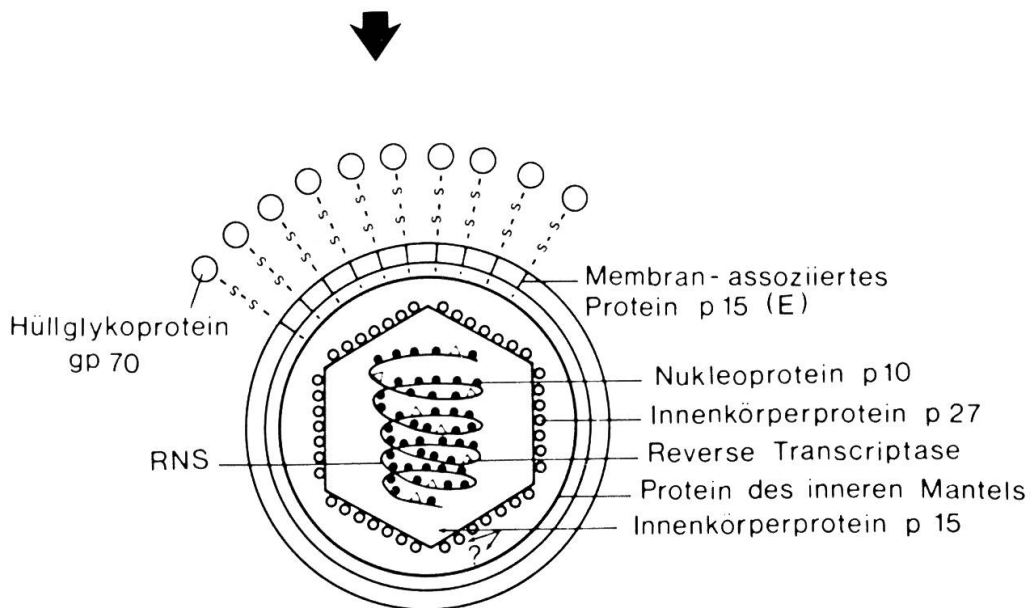
b) Schematischer Reifungsprozess des FeLV. Komponenten der Virushülle (das Glykoprotein gp 70 und das Membranprotein p15(E)) werden in die Zellmembran eingebaut und zwar an jener Stelle, wo sich später das Virus durch Knospung von der Zelle löst. Ungespaltene Vorläufermoleküle der Innenkörperproteine werden dann zur späteren Knospungsstelle transportiert und dort während des Reifungsprozesses durch proteolytische Enzyme in die einzelnen Innenkörperproteine gespalten. Erst nach dieser Spaltung können sich die Komponenten zum Innenkörper und zum inneren Mantel (siehe unten) zusammenlagern. Gleichzeitig mit den Innenkörperproteinen werden die reverse Transkriptase und die Virus-RNS in den Innenkörper eingebaut. Das reife Virus verlässt die Zelle durch Knospung. Dieser Vorgang, bei welchem die Funktion der Zelle erhalten bleibt, wird vermutlich durch kontraktile Elemente unterstützt. Daher erstaunt die Tatsache kaum, dass im reifen Virus eines der auch an der Muskelkontraktion beteiligten Proteine, Aktin, nachgewiesen werden konnte [122].

c) Schematischer Aufbau des reifen FeLV. Das reife Virus hat einen Durchmesser von 110 nm und ist aus 3 konzentrischen Schalen aufgebaut: Die äussere Schale, die Hülle, besteht aus dem Glykoprotein gp 70, das durch Disulfidbindungen mit dem in der Membran verankerten Protein p15(E) verbunden ist. Die Virusmembran setzt sich aus einer Lipiddoppelschicht zusammen, welche dem Virus von der Zelle «mitgegeben» wurde. Es ist daher anzunehmen, dass in der Membran neben den Komponenten der Virushülle noch zelluläre Proteine und Glykoproteine eingebaut sind. Als nächste Schicht folgt der innere Mantel, der zur Hauptsache aus dem Protein p12 aufgebaut sein dürfte. Der eigentliche Innenkörper besteht aus der RNS, dem Nukleoprotein p10 und den Proteinen p15 und p27. Es sei darauf aufmerksam gemacht, dass das Innenkörperprotein p15 und das Membranprotein p15(E) nur das Molekulargewicht von ca. 15 000 gemeinsam haben, sonst aber nicht verwandt sind.

Adaptiert nach Ref. 8, mit Bewilligung durch die American Association for the Advancement of Science und Ref. 16, 74 und 196.



2b



2c



wenn diese in einem in-vitro-Versuch stimuliert werden [76, 136]. Die Schlüsse dieser Experimente erscheinen allerdings nicht gesichert, da die verwendeten Konzentrationen des p15(E)-Antigens extrem hoch waren, wie sie in vivo kaum vorkommen können.

Die Funktion der B-Lymphozyten (B von Bursa Fabricii) ist aber nicht bei jeder FeLV-Infektion gehemmt: Verschiedene Autoren konnten zeigen, dass durch FeLV infizierte, virämische Katzen ebenso in der Lage sind, Antikörper gegen Schaferythrozyten, das Panleukopenievirus oder Albumin zu produzieren, wie nicht infizierte Kontrolltiere [28, 159, 162].

#### 4.2 Unspezifische Immunität und zelluläre Immunmechanismen

Die Diskussion der unspezifischen Immunität und zellulären Immunmechanismen erscheint heute noch wenig ergiebig, da aufgrund der bisherigen Untersuchungen die Bedeutung dieser Schutzmechanismen gegen Virusinfektionen im allgemeinen und Leukämien im besonderen bei der Katze nicht überblickbar sind. Immerhin wurden die drei bei anderen Tierarten für die Antikörper-unabhängige Infektions- und Tumorbabwehr wichtigen Zellsysteme, nämlich Makrophagen [36], zytotoxische T-Lymphozyten [216] und natürliche «Killer»-Zellen [111] auch bei der Katze nachgewiesen [85, 139]. Auch die Beobachtung, dass bei experimenteller Infektion einige Katzen über die Infektion hinwegkommen, ohne einen messbaren Anstieg im Antikörpertiter aufzuweisen, deutet auf funktionierende unspezifische Immunität und zelluläre Immunmechanismen hin [45, 122].

#### 4.3 Humorale Immunreaktionen

Am besten untersucht ist bis heute die humorale Immunreaktion – ihr dürfte auch die wichtigste Bedeutung bei der Immunabwehr der FeLV-Infektion zukommen. Nach einer erfolgreich überwundenen FeLV-Infektion enthält das Katzenserum einerseits gegen die Viruskomponenten gerichtete Antikörper und andererseits Antikörper, die die membranständigen antigenen Determinanten virus-infizierter Zellen erkennen. Diese Membran-Antigene wurden «feline oncornavirus-associated cell membrane antigen» (= FOCMA) genannt. Im folgenden soll die biologische Bedeutung beider Arten von Antikörpern besprochen werden.

##### 4.3.1 Antivirale Antikörper

Die Kenntnis der Virionarchitektur und der Mechanismen der Virusreplikation in der Zelle sind für das Verständnis des Angriffspunktes antiviraler Serumantikörper unabdingbar. Das Virion ist ein aus drei konzentrischen Kugelschalen (Hülle, innerer Mantel, Innenkörper) aufgebautes Teilchen, welches das Genom in der Form eines dichtgeknäuelten, helikal-symmetrischen Ribonukleoproteins enthält. Ein Schema des Partikels, seiner Untereinheiten und der Nomenklatur der im Folgenden zu erörternden Proteine ist in Abb. 2c wiedergegeben.

Bei der Infektion von Zellen mit Retroviren wird ein Replikationsweg beobachtet, der das zentrale Dogma der Biochemie (Informationsfluss von der DNS durch Transkription zur Botenribonukleinsäure [mRNS, m von messenger = Bote] und durch Translation von der mRNS zum Protein) umstürzte [2, 199]. Das viruseigene Enzym «reverse Transkriptase» fertigt nämlich eine DNS-Kopie der Virus-RNS an, deren Doppelstrang als das sogenannte Provirus in das Genom der Wirtszelle integriert wird (Abb. 2a). Danach erfolgt die Transkription und Translation der Provirus-Sequenzen in der auch für zelluläres Eiweiß gebräuchlichen Weise. Allerdings wird die mRNS, welche für die Innenkörperproteine (Transkripte des sogenannten gag-Gens, siehe Abb. 2), und jene, welche für die Hüllproteine, (Transkripte des sogenannten env-Gens) kodiert, integral translatiert, wobei ein hochmolekulares Vorläuferprotein entsteht, das erst nachträglich durch spezifische Proteasen in die «reifen» Strukturproteine gespalten wird. Diese Spaltprozesse finden während des Einbaus der Vorläuferproteine in die Zellmembran (Komponenten der Hülle, gp 70 und p15(E) statt, bzw. in deren unmittelbaren Nachbarschaft (Innenkörperproteine, p27, p15, p12, p10). Abb. 2b gibt einen schematischen Überblick über diesen, allen C-Typ-Onkornaviren gemeinsamen Reifungsprozess, während in Abb. 3 der Vorgang der Knospung eines FeLV-Partikels elektronenoptisch verfolgt wird.

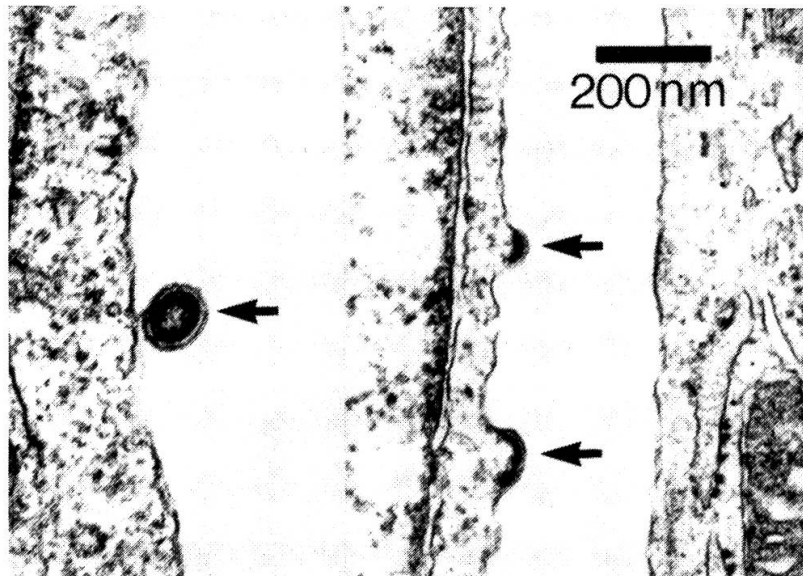


Abb. 3 Elektronenmikroskopische Aufnahme des Reifungs- und Abknospungsprozesses von FeLV. Steril entnommener Urin (Katze 1967) wurde ultrazentrifugiert und der Niederschlag mit fcwf-4-Zellen kokultiviert. In der 8. Passage wurde eine Kultur mit 2% Glutaraldehyd und anschliessend mit 1% OsO<sub>4</sub> und 0,5% Uranylazetat fixiert. Auf der rechten Seite sind zwei reife Viren, auf der linken Seite Virus in Abknospung zu sehen. Nachdruck mit Bewilligung von Elsevier/North Holland, Biomedical Press, Holland, Ref. 124.

In der Regel geht die Zelle während der Virusvermehrung nicht zugrunde, noch treten lichtmikroskopisch sichtbare Veränderungen auf<sup>4</sup>. Es sei darauf hingewiesen, dass die Strukturproteine des FeLV sogenannte Spezies-spezifische antigene Determinanten tragen, also solche, die nur beim FeLV, nicht aber bei den C-Typ-Viren anderer Tierarten vorkommen. Neben diesen Spezies-spezifischen antigenen Determinanten kommen auf den gleichen Proteinen auch sogenannte gruppenspezifische antigene Determinanten (oft auch Interspezies-spezifische Determinanten genannt) vor, welche für die serologischen Kreuzreaktionen innerhalb des Genus der C-Typ-Viren verantwortlich sind (Abb. 4). Diese gruppenspezifischen antigenen Determinanten findet man somit in C-Typ-Viren von Maus, Katze, Ratte, Hamster und anderen Tieren [48, 49, 154]. Dem jüngst erfolgten Nachweis von Interspezies-spezifischen antigenen Determinanten zwischen B- und D-Viren einerseits und C- und D-Viren andererseits wird eine grosse Bedeutung für die Stützung der Hypothese beigemessen, wonach die oben genannten Onkornaviren in ihrer Evolution von einem gemeinsamen Vorfahren abstammen sollen [4].

Infizierte Katzen können gegen alle Komponenten des FeLV Antikörper bilden [32, 33, 93, 122, 146, 195, 196]. Resultiert die Infektion in einer Immunität, so werden häufig gegen das Hüllglykoprotein gp 70 gerichtete, virusneutralisierende Serumantikörper angetroffen [32, 33, 53, 68, 123, 146, 172, 173, 181, 195, 196].

<sup>4</sup> Ein Spezialfall liegt beim Felinen-Sarkom-Virus (FeSV) vor: Die verschiedenen FeSV-Isolate entstanden und entstehen wohl auch immer wieder als sehr seltene Ereignisse dadurch, dass in einer durch FeLV infizierten Zelle die FeLV-spezifische DNA-Sequenz so in die zelluläre DNA eingebaut wird, dass im Genom des neu entstandenen Virus auch zelluläre Sequenzen enthalten sind, die zur Transformation, also zur Entartung der Zelle Anlass geben [16, 43, 188]. Transformierte Zellen lassen sich im Mikroskop an ihrer abweichenden Morphologie erkennen und tragen auch andere Antigene in ihrer Membran als nicht-transformierte infizierte Zellen.

Die Infektiosität des Virus wird durch solche Antikörper dadurch neutralisiert, dass sich diese an das Hüllglykoprotein gp 70 binden und damit die Virusadsorption an die Zellmembran verhindern. Komplement ist für diesen Vorgang nicht erforderlich – im Gegensatz zu den noch zu besprechenden Lyseprozessen an den Zellmembranen infizierter Zellen [38, 181]. Antikörper, welche spezifisch gegen das Protein p15(E) gerichtet sind, haben in der Regel keine virusneutralisierenden Eigenschaften. Dies geht aus der Beobachtung hervor, wonach auch virämische Katzen gegen p15(E) gerichtete Antikörper besitzen, und künstlich induzierte anti-p15(E) Immunsereen nur unter bestimmten Bedingungen (bei ausgewählten Seren und Viren) Virus neutralisieren [38, 122, 142, 196]. Die normalerweise fehlende Virusneutralisation des anti-p15(E)-Serums kann dadurch erklärt werden, dass das Antigen in der Virusmembran über Disulfidbindungen als Anker für das gp 70 dient (vgl. Abb. 2). In dieser Lage und Funktion ist p15(E) für die Mehrheit der homologen Antikörper unzugänglich.

In einigen Katzen, welche sich von einer FeLV-Infektion erholt hatten, und in deren Seren somit anti-gp 70-Antikörper erwartet wurden, liessen sich praktisch keine Antikörper mit Spezifität gegen gp 70 nachweisen. Dagegen wurden Antikörper gefunden, welche spezifisch gegen die Innenkörperproteine des Virus gerichtet waren [122]. Die Innenkörperproteine (= gag-Proteine, p27, p15, p12, p10, siehe Abb. 2) kommen nicht auf der Virusoberfläche vor. Diese Erkenntnis geht daraus hervor, dass p27, p15, p12 und p10 sich mittels spezifischer Antiseren nicht aus intakten Viruspartikeln präzipitieren lassen. Ferner haben gegen diese Proteine gerichtete Seren keinen Virusneutralisierenden Effekt [38, 90]. Hier stellt sich die Frage nach der Art des antiviralen Prinzips dieser gegen Innenkörper gerichteten Antikörper. Es ist bekannt, dass verschiedene durch murines Leukämievirus (MuLV) und FeLV infizierte Zellen auf ihrer Zellmembran neben dem zu erwartenden gp 70 auch noch gag-Proteine tragen [116, 117, 190, 205]. Bei diesen gag-Proteinen handelt es sich nicht etwa um die gespaltenen, zum Einbau in das Virus vorbereiteten Innenkörperproteine, sondern um ihre hochmolekularen Vorläuferproteine, welche z.T. glykolysiert sind [116, 117, 205]. An der Oberfläche von FeLV-infizierten Zellen könnten solche gag-Vorläuferproteine den gegen sie gerichteten Antikörpern als Anheftungsstelle dienen. Dabei kann auch Komplement gebunden und eine Zytolyse herbeigeführt werden. Die Hypothese, dass dieser zweite Weg von humoraler antiviraler Aktivität biologisch wirksam sein könnte, geht auch aus eigenen Beobachtungen hervor. Mit konventionellen, für gag-Vorläuferproteine und für p27 spezifischen Antiseren lässt sich auf lebenden, durch FeLV infizierten Tumorzellen eine sehr intensive Membranfluoreszenz zeigen [122, 128]. Die humorale Immunität dürfte somit auf 2 Hauptmechanismen beruhen: 1) Virusneutralisierende, gegen das gp 70 gerichtete Antikörper inaktivieren infektiöses Virus und stellen wahrscheinlich den wichtigsten Abwehrmechanismus dar. 2) Zusätzlich zu diesem übernehmen für Innenkörperproteine spezifische Antikörper die Lyse von FeLV-infizierten Zellen.

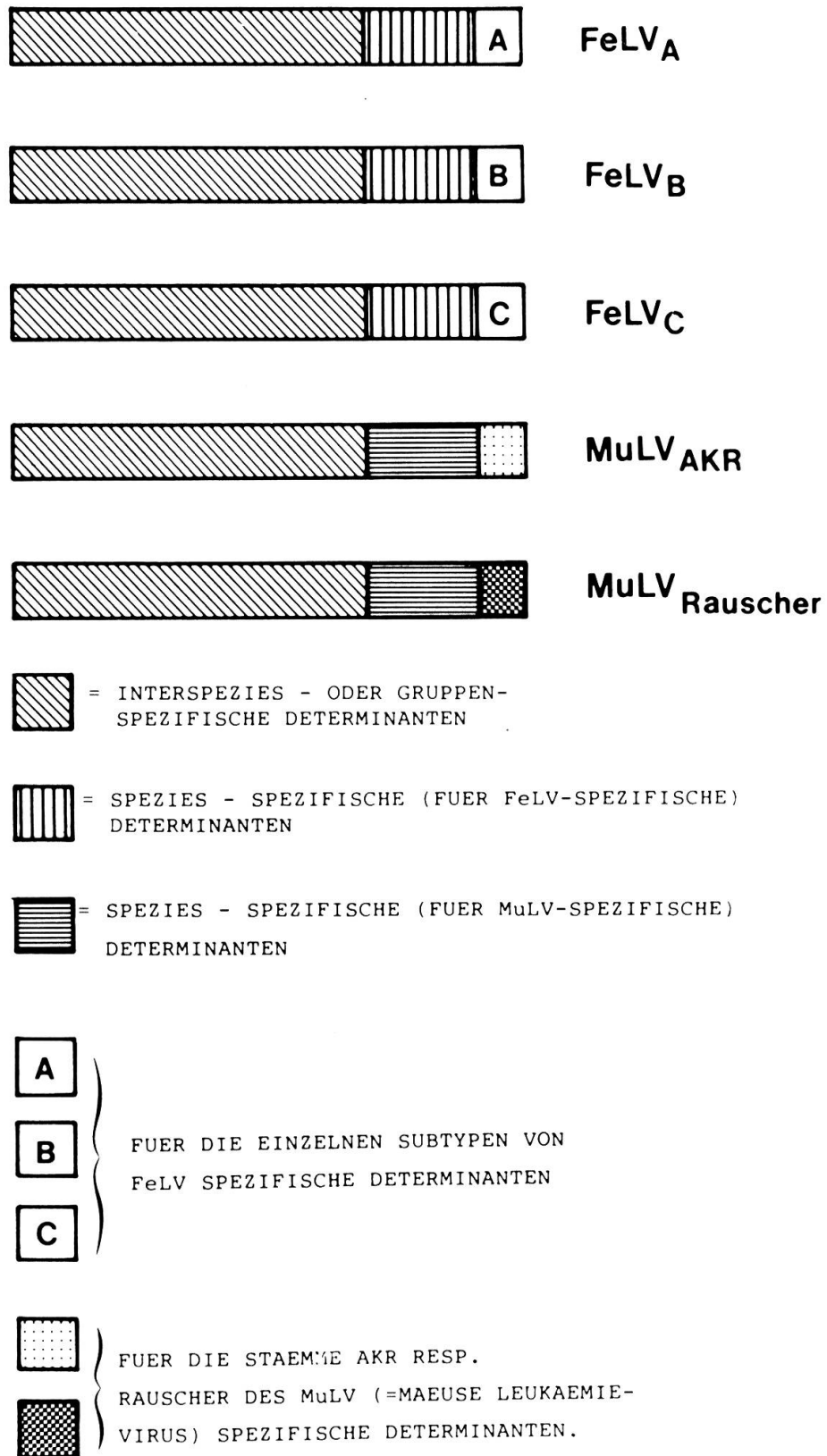
#### 4.3.2 Gegen FOCMA gerichtete Antikörper

*Essex et al.* (1971) beobachteten, dass die Regression von durch FeSV [193] induzierten Tumoren mit dem Auftreten von humoralen Antikörpern korrelierte [26, 27]. Diese Antikörper wurden in

#### Abb. 4 Schematische Darstellung der Interspezies-, Spezies- und Subtyp-spezifischen antigenen Determinanten am Beispiel von FeLV und MuLV

Die einzelnen Komponenten der C-Typ-Viren, so z.B. die Innenkörperproteine p27 des FeLV und p30 des MuLV sind z.T. identisch aufgebaut, was aus Experimenten gefolgert werden kann, die immunologische Kreuzreaktion zeigen. Diese kreuzreagierenden Determinanten, die in C-Typ-Viren von verschiedenen Spezies gefunden wurden, erhielten die Bezeichnung «interspezies-spezifische» oder «Gruppen-spezifische-3» Determinanten. Antigene Determinanten, die nur auf den Viren einer einzigen Spezies vorkommen, wurden «spezies-spezifisch» genannt. Sinngemäß differenziert man weiter die Typ- oder Subtyp-spezifischen Determinanten, die nur bei den einzelnen Subtypen gefunden werden können. FeLV-Subtyp-spezifische Determinanten wurden bislang nur auf dem gp 70 nachgewiesen; wahrscheinlich existieren solche aber auch auf dem p27.

Abbildung 4



einem Immunfluoreszenz-Test nachgewiesen; sie reagierten mit der lebenden Zellmembran der chronisch mit FeLV infizierten Leukämie-Zelllinie FL-74 [200]. Das durch solche Antikörper erkannte Membranantigen der FL-74-Zelllinie wurde Feline-Oncornavirus-associated Cell Membrane Antigen (= FOCMA) genannt [27]. Später wurde gezeigt, dass gesunde, FeLV-freie Katzen mit erhöhten anti-FOCMA-Titern nicht nur gegen virusinduzierte Fibrosarkome, sondern auch gegen Leukämien und Lymphosarkome resistent waren, und dass auch virämische Katzen erhöhte anti-FOCMA-Titer haben können [1, 29, 30, 160]. Die Anti-Tumorwirkung von sogenannten FOCMA-Referenzseren (also Seren mit hohem Anti-FOCMA-Titer, von virämischen Tieren stammend) konnte auch *in vitro* gezeigt werden. In Gegenwart von Komplement sind solche Seren lytisch für eine ganze Reihe feline Leukämie- und Lymphosarkom-Zelllinien, offenbar unabhängig davon, ob diese FeLV produzieren oder nicht [35, 50, 51, 52, 54, 56]. Weiterhin liess sich angeblich nachweisen, dass die FOCMA-Referenzseren keine Antikörper-Aktivität gegen gp 70 und p27 enthielten. Die Anti-FOCMA-Aktivität konnte auch nicht durch Adsorption mit den verschiedenen Virusproteinen (weder mit jenen des Innenkörpers, noch mit jenen der Virushülle) aus solchen Seren entfernt werden [191, 195, 196, 215]. Zudem reagierten Anti-FOCMA-Antikörper nicht mit normalen, nicht transformierten Fibroblasten, die mit FeLV infiziert waren. Die Eigenschaften von Seren, die gegen FOCMA gerichtete Antikörper enthalten, sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Eigenschaften von gegen FOCMA gerichteten Antikörpern

<i>Eigenschaften</i>	<i>Autoren</i>
– Sie haben keine Virus-neutralisierenden Eigenschaften	68
– Sie kommen in hohen Titern bei persistierend virämischen Katzen vor	30, 68
– Sie sind nicht gegen die Viruskomponenten gp70, p27, Reverse Transkriptase, p15 und p12 gerichtet	12, 186, 189, 191, 195, 215
– Sie erkennen antigene Determinanten auf Zellen, welche durch feline Leukämie- oder Sarkomviren transformiert wurden	33, 70, 186, 196
– Sie lysieren eine Reihe transformierter Katzenlymphosarkomzellen – nicht aber normale, FeLV-infizierte Fibroblasten – in Gegenwart von Komplement	26, 50, 51, 52, 54, 56, 57
– Sie schützen die Katze vor der Entstehung von Tumoren	31, 34, 68

Aus den erwähnten Beobachtungen wurde geschlossen, dass FOCMA kein Virusprotein, sondern ein durch FeLV oder FeSV induziertes tumorspezifisches Antigen ist [12, 70, 195]. Mit für FOCMA-spezifischen Seren liess sich aus durch das FeSV transformierten Fibroblasten ein etwa 100 kd schweres Protein isolieren, welches neben den FeLV-Proteinen p15, p12 und einem Teil des p27 auch ein Protein mit einem Molekulargewicht von 65 kd enthielt [3, 186, 187, 196]. Diese 65 kd-Komponente wurde als Produkt des sogenannten Sarkom-Gens (src Gens) des FeSV identifiziert, welches verantwortlich ist für die Zelltransformation [188]. Nach Identifizierung dieses Antigens überprüften *Gardner et al.* eine Anzahl von natürlichen und künstlich induzierten FOCMA-Antisera, aus welchen alle gegen FeLV gerichteten Antikörper herausabsorbiert worden waren, bezüglich ihrer Reaktion mit dem src-Genprodukt [45]. Erstaunlicherweise fanden sie keine einzige Katze mit natürlichen Anti-FOCMA-Antikörpern, die mit dem Src-Genprodukt reagierten. *Gardner et al.* schlossen daraus, dass FOCMA eben doch ein durch das FeLV kodiertes Antigen sein könnte. Da es nicht gelingt, mit Hilfe von gereinigtem Virus die Anti-FOCMA-Aktivität aus dem Katzenserum herauszuabsorbieren, muss man folgern, dass die entsprechenden Antigene nicht in der üblichen Form im Virion vorliegen. Es könnte sich jedoch um die hochmolekularen Vorläufer der Hüll- und Innenkörperproteine handeln, welche glykolysiert oder nicht glykolysiert antigene Determinanten

enthalten, die in den «reifen» Komponenten des Virus nicht mehr enthalten oder sterisch behindert (also für Antikörper unzugänglich) sind.

In eigenen Experimenten, in welchen wir einige FOCMA-Referenzseren von virämischen Katzen untersuchten, fanden wir ebenfalls anti-FeLV-Reaktivität. Wir konnten zeigen, dass solche Seren Antikörper enthielten, die nicht nur die Vorläufer von Innenkörperproteinen, sondern auch die reifen Innenkörperproteine selbst erkannten. Allen untersuchten FOCMA-Referenzseren gemeinsam war aber zudem eine Reaktivität gegen p15(E) [122]. Die komplementabhängige zytotoxische Aktivität solcher Referenzseren, welche von virämischen Tieren stammen, kann wie folgt erklärt werden: FeLV wird durch anti-p15(E)-Antikörper kaum neutralisiert. Virusproduzierende, normale Zellen tragen an ihrer Oberfläche auch keine p15(E)-Determinanten, welche für diese Antikörper zugänglich sind. Wenn nun das Virus aber in transformierten, leukämischen Tumorzellen wächst, so können antigene Determinanten von p15(E) so an der Zelloberfläche exponiert werden, dass sie durch Antikörper erkannt werden. Dass p15(E) auf der Membran von vier bisher untersuchten Leukämie-Zelllinien vorkommt, konnten wir in ersten Experimenten mit monoklonalen Antikörpern (Beschreibung von monoklonalen Antikörpern siehe Abschnitt 5.2.2) zeigen [128].

Es gibt aber noch eine weitere antigene Spezifität, die sich dem FOCMA zuordnen lässt. Es gelang uns, spezifisch gegen gp 70 gerichtete monoklonale Antikörper zu isolieren. Diese erkennen antigene Determinanten, die beim Subtyp C, etwas weniger beim Subtyp B, dagegen beim Subtyp A des FeLV überhaupt nicht vorkommen, wie aus Virus-Neutralisationsexperimenten gefolgert werden kann [102]. Diese und andere monoklonale Antikörper mit Spezifität für gp 70 des FeLV<sub>C</sub> erwiesen sich überraschenderweise als ideale FOCMA-Referenzpräparate, denn sie reagieren im Immunfluoreszenztest mit lebenden FOCMA-Zielzellen [206, 207]. Daraus lässt sich ableiten, dass FOCMA in einer noch näher zu definierenden Weise mit dem gp 70 von FeLV<sub>C</sub> verknüpft ist. Auch andere Beobachtungen stützen diese Hypothese. *Jarrett und Mitarbeiter* hatten bei Virusisolierungsversuchen feststellen können, dass nur etwa 1% der Feldstämme dem Subtyp C angehörten [172]. Man sollte also auch erwarten, dass virusneutralisierende Antikörper gegen FeLV<sub>C</sub> in einer ähnlich geringen Häufigkeit angetroffen werden. *Russell und Jarrett* fanden diese überraschenderweise jedoch in ca. 50% aller Katzenserum, und zwar sowohl bei immunen als auch bei virämischen Tieren. Ausschliesslich immune Katzen hatten dagegen erwartungsgemäss Antikörper gegen FeLV des ubiquitären Subtyps A [173].

Die Diskrepanz zwischen dem häufigen Auftreten von virusneutralisierenden Antikörpern gegen FeLV<sub>C</sub> und dem seltenen Vorkommen von FeLV<sub>C</sub> in infizierten Katzenpopulationen kann durch den folgenden Mechanismus erklärt werden [119, 172, 206]: Bei der Infektion einer Zelle durch FeLV<sub>A</sub> kann dieses mit den in der Zelle vorliegenden endogenen Sequenzen von FeLV eine Rekombination eingehen. Als Folge dieser Rekombination synthetisieren die betroffenen Zellen ein Glykoprotein, welches dem gp 70 des FeLV<sub>C</sub> sehr ähnlich oder mit diesem identisch ist. Aus unbekanntem Gründen wird dieses rekombinierte gp 70 nur selten in die reifen Virionen eingebaut, vermag aber bei den infizierten virämischen Katzen virusneutralisierende Antikörper gegen FeLV<sub>C</sub> zu induzieren.

Fasst man die bei der Untersuchung von FOCMA erzielten Ergebnisse zusammen, so wird deutlich, dass eine befriedigende Erklärung des FOCMA-Phänomens noch nicht angegeben werden kann. Zwar kann das src-Gen-Produkt von der weiteren Betrachtung ausgeschlossen werden, die relative Beteiligung der drei anderen diskutierten Antigene, nämlich Vorläuferproteine, p15(E) und gp 70 einer Subtyp-C-Rekombinante am FOCMA-Phänomen muss durch weitere Experimente abgeklärt werden. Fest steht lediglich die antitumorale Wirksamkeit von anti-FOCMA-Antikörpern, wengleich wir den genauen Ort ihrer Anheftung noch nicht kennen.

## 5. Verlauf der FeLV-Infektion im Spiegel der diagnostischen Möglichkeiten

Die vor 1973 verwendeten Methoden zum Nachweis von FeLV-Antigen, Immundiffusion, Komplementbindung und die Elektronenmikroskopie, sind für die Routinebedürfnisse ungeeignet. Sie sind einerseits zu wenig empfindlich und ander-

seits zu aufwendig [63, 115, 175]. Die Einführung des indirekten Immunfluoreszenztestes (IF-Test) durch *Hardy et al.* 1973 und die Modifikationen von *Hoover et al.* (1978) ermöglichten es, eine Katze relativ schnell und einfach auf das Vorliegen einer FeLV-Infektion untersuchen zu lassen [65, 84]. Wesentlich verfeinert und vereinfacht wurde die Diagnostik der FeLV-Infektion durch die Einführung von immunologischen Verfahren, welche unter der Bezeichnung «Enzyme-linked Immunosorbent Assays» (= ELISA's) bekannt sind. Mittels ELISA-Verfahren – welche 1971 von *Engvall und Perlmann* sowie von *Van Weemen und Schuurs* entwickelt wurden [25, 209] – können sowohl Antikörper als auch Antigene quantitativ gemessen werden.

Beide Verfahren – der IF-Test und ELISA – können in der Praxis zur Diagnose der FeLV-Infektion verwendet werden [108, 124, 125]. Anhand von Verlaufsuntersuchungen experimentell FeLV-infizierter Katzen soll im folgenden der Aussagewert der beiden Testverfahren dargestellt werden. Um den Verlauf der FeLV-Infektion unter möglichst wirklichkeitsnahen Bedingungen zu untersuchen, hielten wir Gruppen von jeweils 6 FeLV-frei aufgezogenen Kätzchen zusammen mit einer persistierend virämischen Katze im gleichen Raum. Alle 2 Wochen wurde den Tieren Blut entnommen und auf Vorliegen einer Infektion untersucht. Gegen FOCMA gerichtete Antikörper wurden mittels eines IF-Testes und lebenden Lymphosarkomzellen nachgewiesen [26]. Zur Titration der gegen die verschiedenen Virusproteine gerichteten Serumantikörper wurde zudem ein ELISA-Verfahren eingesetzt [122].

### 5.1 Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis der FeLV-Infektion

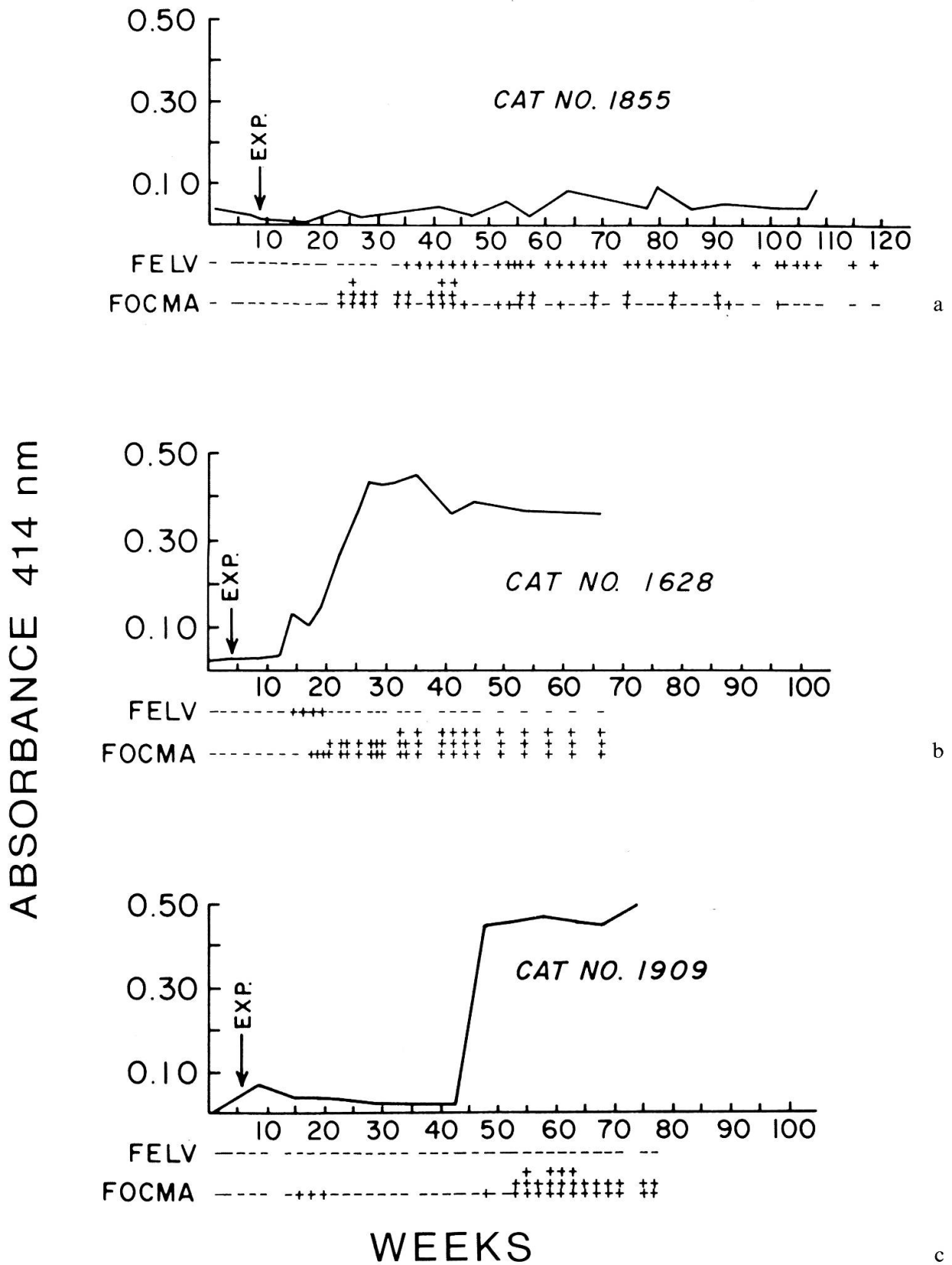
Bei diesem Test wird das gruppenspezifische Antigen des FeLV (gsa, siehe Legende Abb. 2 a) im Zytoplasma der im Blut zirkulierenden Granulozyten und Thrombozyten, z. T. auch der Lymphozyten und Monozyten mittels für gsa spezifischer Antiseren nachgewiesen [65]. Zwischen den Resultaten des IF-Testes und des Virusnachweises im Blut besteht eine gute Korrelation. Bei über 90% IF-positiver Katzen

---

#### Abb. 5 Verlauf der FeLV-Infektion und der Immunreaktion der Katze

Empfängliche Kätzchen wurden in Gruppen von 6–8 Tieren zusammen mit persistierend-virämischen Tieren gehalten. Durch den direkten Kontakt mit den virämischen Katzen infizierten sich die empfänglichen Tiere. Diese Infektionsbedingungen dürften denen der natürlichen Umgebung weitgehend entsprechen. Periodisch wurde den Tieren Blut und Serum entnommen. Blutausstriche wurden mittels IF-Test auf Vorliegen der FeLV-Infektion untersucht. Gegen FeLV gerichtete Antikörper wurden mittels eines ELISA und mittels hochgereinigtem FeLV-Antigen gemessen, während für FOCMA-spezifische Antikörper mittels des klassischen FOCMA-IF-Testes bestimmt wurden. Auf der x-Achse ist die Zeit (in Wochen), auf der y-Achse die mittels Photometer bestimmte Absorption des ELISA's, als Mass der gegen FeLV gerichteten Antikörper, angegeben; FeLV = Resultat des IF-Testes, FOCMA = Resultat des FOCMA-IF-Testes; Exp. = Exposition. Fig. 5 a zeigt den Infektionsverlauf einer Katze, die persistierend virämisch wurde. Es wird deutlich, dass sich hier über den ganzen Infektionsverlauf praktisch keine Antikörper nachweisen liessen. Fig. 5 b zeigt den Verlauf bei einem Tier mit transitorischer Virämie und Fig. 5 c den Verlauf bei einer Katze, die nie diagnostizierbar virämisch war. Bei Fig. 5 b und 5 c wird deutlich, dass die Überwindung der Infektion mit der massiven Produktion von humoralen Antikörpern korreliert werden konnte. Nach Ref. 122, Nachdruck mit Bewilligung des Verlages.

Abbildung 5





konnte infektiöses Virus nachgewiesen werden [82, 105, 100]. Bei über 50% der IF-positiven Tiere enthielt zudem auch der Speichel infektiöses Virus.

Entsprechend ihrer Reaktion auf die FeLV-Infektion konnten unsere Versuchskatzen mit dem IF-Test in drei Gruppen eingeteilt werden: Eine erste Gruppe von Katzen (Abb. 5 a) entwickelte nach der Infektion eine persistierende Virämie und bildete kaum je Antikörper gegen das FeLV. Je nach Haltungsbedingungen (Einzelhaltung oder Haltung in Gruppen, sogenannte «Grossfamilien») gehören zwischen 2% und 30% aller spontan mit FeLV angesteckten Katzen von untersuchten Feldpopulationen zu diesem Reaktionstyp [64, 68, 81, 105, 188]. Eine zweite Gruppe von experimentell gehaltenen Katzen kam nach 2 bis 36 Wochen dauernder Virämie über die Infektion hinweg, wobei die Beendigung der virämischen Phase meistens, jedoch nicht immer, mit dem Auftreten von Antikörpern gegen FeLV und FOCMA verbunden war (Abb. 5 b). In unseren Untersuchungen waren rund 20% aller Tiere einmal vorübergehend diagnostizierbar virämisch [122, 124]. Über die Häufigkeit dieser zweiten Art eines Reaktionsmusters liegen aus naheliegenden Gründen keine Feldangaben vor. Bei einer dritten experimentellen Gruppe kam es nie zu einer virämischen Phase (Abb. 5 c). Im Serum dieser Tiere fanden sich meistens hohe Antikörpertiter gegen FeLV und FOCMA. Im Serum von zwischen 40% und 50% aller spontan dem FeLV ausgesetzten Katzen einer Feldpopulation lassen sich solche Antikörpertiter nachweisen [68, 173].

## 5.2 ELISA-Verfahren zur Diagnose der FeLV-Infektion

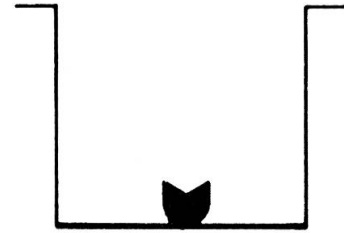
Von den verschiedenen Verfahren, welche durch die Einführung der ELISA-Technik ermöglicht wurden [208], wählten wir die «Sandwich-Technik», wie sie in Abb. 6 skizziert ist. Es war naheliegend, einen solchen ELISA-Test zu entwickeln, da im Serum von infizierten Katzen Virusprotein-Mengen zu erwarten waren, welche im messbaren Bereich dieser Methode liegen, nämlich Nanogramm bis Mikrogramm Mengen pro ml Serum [195]. Im Vergleich zum IF-Test bietet der ELISA folgende Vorteile: 1. Es ist kein Fluoreszenzmikroskop notwendig; 2. Es handelt sich im Gegensatz zum IF-Test um ein quantitatives Verfahren.

### 5.2.1 ELISA mittels konventioneller, polyklonaler Antikörper

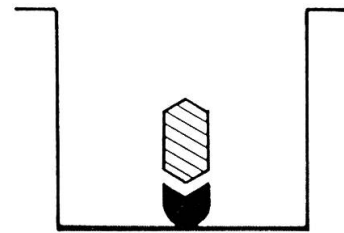
Die Einführung sogenannter monoklonaler Antikörper durch *Köhler und Millstein* [113] macht eine klare Unterscheidung zwischen monoklonalen und polyklonalen Antikörpern notwendig:

Unter polyklonalen Antikörpern verstehen wir Immunglobuline, die als Folge der Stimulierung von Lymphozyten durch unterschiedliche antigene Determinanten *desselben Antigenmoleküls in vivo* synthetisiert worden sind. Jede dieser Determinanten wird durch einen anderen Lymphozyten erkannt, der dadurch zur Vermehrung und schlussendlich zur Ausdifferenzierung in reife Plasmazellen veranlasst wird. Die aus diesem Stimulationsmechanismus resultierenden Plasmazellen synthetisieren Antikörper, welche spezifisch gegen jene Determinanten gerichtet sind, die anfänglich die Lymphozyten zu stimulieren vermochten. Die gebildeten polyklonalen Antikörper

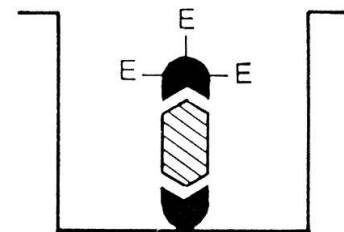
1. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten werden mit anti-FeLV-Antikörpern beschichtet.  
Vor Gebrauch werden Vertiefungen gewaschen.



2. Das zu testende Serum wird zugegeben und inkubiert. Vorhandenes FeLV-Antigen wird gebunden.  
Nicht gebundenes Protein wird ausgewaschen.



3. Zugabe von gegen FeLV gerichteten Antikörpern, die mit einem Enzym konjugiert sind.  
Nicht gebundenes Enzym wird ausgewaschen.



4. Zugabe eines Substrates. Wenn Enzym vorhanden ist, ändert sich dessen Farbe.

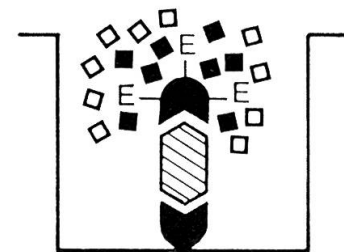


Abb. 6 Schematische Darstellung des zur Bestimmung von p27-Antigen verwendeten ELISA  
Im ersten Schritt wird gereinigtes, gegen p27 gerichtetes Immunglobulin an die Oberfläche der Vertiefungen von Mikrotiterplatten adsorbiert; nicht gebundenes Immunglobulin wird nach der Adsorptionsphase ausgewaschen. Im zweiten Schritt wird das zu testende Katzenserum in der Vertiefung inkubiert. Durch Zugabe eines nicht-ionischen Detergens zum Puffer wird die Hülle des allfällig im Serum vorhandenen Virus entfernt und p27 kann durch den an der Plastik-Oberfläche haftenden Antikörper gebunden werden. Wiederum wird nichtgebundenes Material durch Auswaschen entfernt. Im dritten Schritt wird ein mit einem Enzym konjugiertes, gegen p27 gerichtetes Immunglobulin zugegeben. Falls p27-Antigen gebunden in der Vertiefung vorlag, bleibt auch das Enzym-Konjugat haften. Nachdem nicht gebundenes Enzym wiederum ausgewaschen wurde, wird im 4. Schritt eine Substratlösung in die Vertiefung pipettiert. Vorhandenes Enzym bewirkt eine Farbänderung der Substratlösung, welche von bloßem Auge beurteilt werden kann. Durch Messung der Farbintensität in einem Photometer und Vergleich mit Proben mit bekannter Antigenkonzentration lässt sich zudem die Menge des im Serum enthaltenen p27 bestimmen.  
Adaptiert von *Voller et al.*, Ref. 208, mit Bewilligung von Autor und Verlag.

per bestehen somit aus einer Mischung von Immunglobulinen, deren Herkunft sie verschiedenen Plasmazellenpopulationen verdanken.

Monoklonale Immunglobuline hingegen können nur *in vitro* durch Manipulation einzelner Lymphozyten erzeugt werden (siehe später).

Das in Abb. 6 gezeigte ELISA-Prinzip wurde von uns 1980 erstmals für die Messung von p27 in Katzenserum benutzt [124]; etwa gleichzeitig und unabhängig von uns entwickelte ein pharmazeutisches Unternehmen ein praxisnahes Testverfahren, das inzwischen auf den Markt gebracht wurde, und das auf demselben Prinzip beruht [108]. FeLV p27 wurde als das bestimmende Antigen gewählt, weil es mit etwa 25–30% der Teilchenmasse das vorherrschende Virusprotein ist [122]. Selbstverständlich könnten für diesen Test auch Antiseren verwendet werden, welche durch mehrere Virusproteine gleichzeitig induziert worden waren und welche ein Antikörpergemisch enthalten. Wenn aber nicht jede zur Antikörperinduktion verwendete Viruskomponente sehr gut gereinigt ist, besteht die Wahrscheinlichkeit, dass das resultierende Serum unspezifische Antikörper enthält, welche gegen Kontaminanten gerichtet sind. Seren, die Kontaminanten enthalten, lassen sich für das oben erwähnte quantitative ELISA-Verfahren nur nach erschöpfender Absorption verwenden.

Mit dem ELISA-Verfahren konnten wir in virämischen Katzen zwischen 100 und bis über 2000 ng des FeLV p27 pro ml Serum nachweisen. Die mittels IF diagnostizierte Virämie korrelierte gut mit dem durch ELISA messbaren p27 im Serum [124]. In experimentell infizierten Katzen mit transitorischer Virämie trat p27 nur während der virämischen Phase auf und in Katzen, die nie virämisch waren, konnte p27 nie festgestellt werden. Wiederholt liess sich mittels des ELISA p27 bereits einige Wochen vor dem Auftreten IF-positiver Leukozyten nachweisen; ferner dauerte bei transitorischer Virämie die mit der ELISA-Methode nachgewiesene p27-Antigenämie oft länger an als die Periode, während welcher virusinfizierte Zellen mit der IF-Methode im Blut gefunden werden konnten. Die früher eintretende Nachweisbarkeit des Virus durch ELISA lässt sich dadurch erklären, dass sich das FeLV während der Inkubationsphase zunächst im lymphatischen Gewebe des Nasen- und Rachenraumes vermehrt und bereits zu diesem Zeitpunkt in geringen Mengen ins Serum übertreten kann, wo es sich nur mit einer hochempfindlichen Methode nachweisen lässt. Ähnliche Verhältnisse dürften bei Tieren mit transitorischer Virämie vorliegen: Von einem Infektionsherd ausserhalb des Knochenmarkes kann Virusantigen ins Serum übertreten, wo es durch ELISA nachgewiesen werden kann.

Zusätzlich zu den drei vorerwähnten Formen des Infektionsablaufes bei experimentellen Katzen fanden wir mit ELISA unerwarteterweise noch eine vierte Gruppe von Tieren mit einem unterschiedlichen Reaktionstyp. Dieser vierte Reaktionstyp war gekennzeichnet durch persistierendes Auftreten von p27-Antigen im Serum. Gleichzeitig liess sich aber durch den IF-Test keine Virämie nachweisen. Die diesem vierten Reaktionstyp angehörenden Tiere entwickelten teilweise hohe Titer von anti-FeLV- und anti-FOCMA-Antikörpern. Gemäss den klassischen Parametern hätte man diese Katzen als nicht virämisch und somit immun gegen FeLV klassiert.

Zusammenfassend können wir aufgrund der mit ELISA erfolgten Untersuchungen nach einer FeLV-Infektion die folgenden Reaktionsmuster unterscheiden:

Tabelle 2

Gruppe	Reaktionsmuster	Wirt
1	persistent virämisch	nicht immun
2	transitorisch virämisch	immun
3	nie virämisch	immun
4	antigenämisch <sup>5</sup>	immun

<sup>5</sup> Wir sprechen hier von antigenämisch, da mit Sicherheit Antigen, aber nicht mit Sicherheit vollständiges Virus nachgewiesen wurde.

Dass unsere positiven ELISA-Resultate auf FeLV p27 und nicht auf die Messung unbekannter Antigene zurückzuführen waren, liess sich durch Konkurrenzexperimente mit gereinigtem p27 und durch Absorption (Reinigung) der Antikörper mit Mischseren von spezifisch-pathogen-freien Katzen erhärten [124]. Für p27 positive, für gsa negative Resultate traten immer nur bei Tieren auf, nachdem diese FeLV-Kontakt hatten. Die Spezifität des verwendeten ELISA wurde zudem dadurch bewiesen, dass es schliesslich gelang, aus 2 Katzen der Gruppe 4 infektiöses FeLV zu isolieren (siehe Abb. 3). Bei einer Katze fanden wir das Virus im Sediment einer ultrazentrifugierten Urinprobe. In Biopsien von verschiedenen Darmabschnitten, Lymphknoten, Speicheldrüse und Knochenmark konnte kein Virus nachgewiesen werden. Bei der anderen Katze konnte das FeLV aus mit Leukozyten angereichertem Plasma isoliert werden. In Urin, Speichel und Knochenmark wurde dagegen kein Virus nachgewiesen. Aus diesen Befunden wurde geschlossen, dass es sich bei Tieren der Gruppe 4 um immune FeLV-Träger handelt.

Die Entwicklung eines diagnostischen ELISA-Tests bei Katzen mit FeLV-Infektion ist von direktem Interesse für den Tierarzt, da seit 1980 ein ELISA kommerziell erhältlich ist (Leukassay F., Pitman-Moore, Washington Crossing, New Jersey, Ref. 108). Dieser Test kann – ausser vom diagnostischen Labor – auch vom Tierarzt oder dessen Hilfspersonal durchgeführt werden. Bei sorgfältigem Befolgen der Gebrauchsanweisung sind auch die durch unerfahrene Personen erzielten Resultate reproduzierbar [125]. Der ELISA hat gegenüber dem IF-Test zudem den Vorteil, dass der Aufwand weit geringer ist und die Resultate innerhalb weniger Stunden vorliegen. Zudem kann der ELISA ohne Verwendung teurer Apparate wie Fluoreszenzmikroskope durchgeführt werden.

Auch beim Leukassay-F-Test korreliert die Farbintensität der Reaktion mit der Höhe der p27-Serumkonzentration. Um eine quantitative Bewertung der Reaktion zu ermöglichen, verglichen wir die Farbintensität jeder Probe mit derjenigen der jeweils parallel durchgeführten und im Test-Kit enthaltenen positiven und negativen Kontrolle. Dabei wurde jede Probe entsprechend den in Tabelle 3 angegebenen Kriterien beurteilt.

Um Auskunft darüber zu erhalten, wieweit immune Tiere mit Antigen (Gruppe 4) auch durch den Leukassay-F-Test erkannt werden, untersuchten wir den Infek-

Tabelle 3\*: Beurteilung der Resultate des Leukassay F

Kriterien	Bewertung
Farbreaktion ist ähnlich der negativen Kontrolle, nur wenig heller oder dunkler	–
Farbreaktion liegt zwischen negativer und positiver Kontrolle	+ / –
Farbreaktion ist ähnlich der positiven Kontrolle, nur wenig heller oder dunkler	+
Farbreaktion ist deutlich dunkler als positive Kontrolle	++

\* nach Ref. 125

tionsverlauf von 34 unter wirklichkeitsnahen Bedingungen infizierten Katzen vergleichend mit der Immunfluoreszenz-Technik und dem Leukassay-F-Test. Mit beiden Tests liessen sich Tiere aller vier Gruppen nachweisen (Abb. 7). Wie mit unserem eigenen ELISA liess sich mittels dem Leukassay-F-Test die FeLV-Infektion bei einigen Tieren bis zu mehreren Wochen früher nachweisen als mittels dem IF-Test.

Um über die Übereinstimmung zwischen Leukassay-F-Test und dem IF-Test sowie über die Häufigkeit von immunen FeLV-Trägern (Gruppe 4) in einer natürlich gehaltenen Katzenpopulation Auskunft zu erhalten, untersuchten wir ausserdem 626 Blut- und Serumproben parallel mit dem Leukassay-F-Test und dem IF-Test. Von diesen Proben stammten 374 von privat gehaltenen Katzen, welche dem Tierarzt aus verschiedenen Gründen vorgestellt worden waren. Diese sogenannten «Feldkatzen» wurden entweder einzeln gehalten oder lebten in Gruppen von höchstens drei Tieren. Weitere 222 Proben stammten von 144 klinisch gesunden Feldkatzen aus «Grossfamilien» und 30 von spezifisch-pathogenfreien (SPF) Tieren (Tabelle 4).

Tabelle 4: Übereinstimmung zwischen den Resultaten des Leukassay-F-Tests und des IF-Tests

		<i>Leukassay-F-Test*</i>				
		++	+	±	–	
IF	+	20,3%	7,8%	0,3%	0,5%	374 Proben von 374 «Feldkatzen»
	–	1,3%	1,9%	5,3%	62,5%	
IF	+	7,7%	6,8%	0 %	2,7%	222 Proben von 144 Katzen, die in Gross- familien lebten
	–	0,9%	4,5%	12,5%	64,9%	
IF	+	0 %	0 %	0 %	0 %	30 Proben von 30 spezifisch-patho- genfreien Tieren
	–	0 %	0 %	0 %	100 %	
IF	+	14,9%	7,0%	0,2%	1,3%	Total von a), b) und c) (N = 626)
	–	1,1%	2,7%	7,7%	65,2%	

\* beurteilt gemäss der in Tabelle 3 angeführten Kriterien

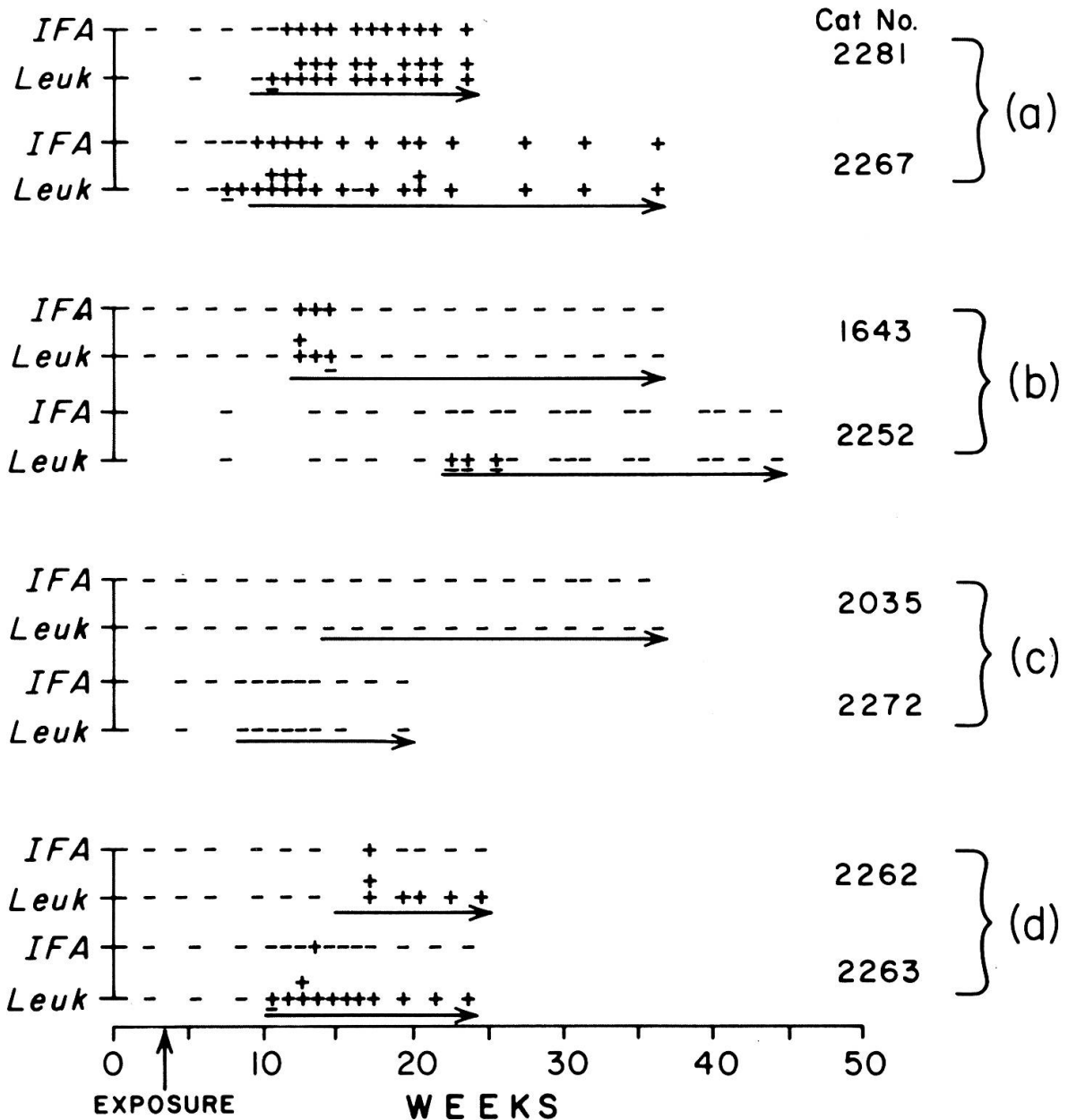


Abb. 7 Verlauf der FeLV-Infektion und deren Diagnose mittels Immunfluoreszenztest und Leuk-assay-F-Test

Die experimentellen Bedingungen sind in der Legende zu Abb. 5 angegeben. IFA = Immunfluoreszenz-Test; - = kein Antigen in Leukozyten und Thrombozyten des peripheren Blutes feststellbar; + = FeLV-Antigen feststellbar; Leuk = Leukassay F, wobei der Test gemäss den Kriterien der Tabelle 2 beurteilt wurde. Der Pfeil zeigt an, wann im Serum dieser Tiere gegen FeLV gerichtete Antikörper festgestellt werden konnten, wobei die Titerhöhe unberücksichtigt bleibt.

Jeweils 2 repräsentative Katzen wurden von jenen Tieren ausgewählt, die nach der Exposition a) persistierend virämisch, b) transitorisch virämisch, c) nie diagnostizierbar virämisch und d) persistierend antigenämisch wurden.

Nach Ref. 125, Nachdruck mit Bewilligung des Verlages.

Kein einziges Serum der SPF-Katzen erbrachte ein positives Resultat. Wenn neben den +- und ++-Resultaten auch die +/- -Proben als FeLV-positiv gewertet wurden, gehörten rund 12% der verbleibenden 596 Proben zum Reaktionsmuster der Gruppe 4. Wurden +/- -Resultate jedoch als FeLV-negativ gewertet, so verminderte sich der Prozentsatz der zur Gruppe 4 gehörenden Proben auf rund 4%. Daraus kann geschlossen werden, dass etwa  $\frac{2}{3}$  der zur Gruppe 4 gehörenden Tiere nur wenig p27-Antigen exprimieren. Nur 1,3% der 626 untersuchten Proben war negativ im Leukassay-F-Test, aber positiv im IF-Test.

Möglicherweise handelt es sich hier um falsch positive IF-Resultate. Durch die im IF-Test verwendeten fluoreszierenden Antikörper werden nämlich die Granula der eosinophilen Granulozyten direkt angefärbt, auch wenn der Blutausschlag vorgängig nicht mit für gsa spezifischem Antiserum inkubiert worden war [39]. Neben dieser – unseres Wissens noch nicht veröffentlichten – Eosinophilen-Fluoreszenz ist die Immunfluoreszenz zudem oft schwierig zu beurteilen, woraus sich zusätzliche Fehler der Interpretation ergeben können.

Manuskripteingang: 5. Juli 1983

## BUCHBESPRECHUNG

**Pest Slugs and Snails. Biology and Control.** Von *Dora Godan*. Aus dem Deutschen übersetzt von Sheila Gruber. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1983. X + 445 Seiten, 47 Farbbilder auf 7 Tafeln, 125 Schwarzweissphotographien und Zeichnungen. Gebunden, DM 196.—.

Es handelt sich um die Übersetzung des 1979 im Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, erschienenen Werkes «Schadschnecken und ihre Bekämpfung». – Schnecken haben im Haushalt der Natur bestimmte Aufgaben, wie Humusbildung, Beseitigung von Abfallstoffen, Niederhaltung von Algen, Flechten und Pilzen sowie als Räuber und Parasiten; aber auch sie werden von Räufern erbeutet und gefressen. Eine Schadwirkung entsteht in der Land- und Forstwirtschaft sowie im Gartenbau, wenn es in Feuchtgebieten oder regenreichen Zeiten zur Massenvermehrung kommt. Medizin und Tierheilkunde kennen Schnecken als Zwischenwirte von Würmern der Haus- und Wildtiere sowie des Menschen; auch Pflanzenkrankheiten können übertragen werden. Einige Arten werden als Nahrungsmittel genutzt und als Delikatesse geschätzt; in der Vergangenheit dienten Schnecken auch als Fastenspeise. Der Tierarzt hat also Grund, auf die Kenntnis der Schnecken nicht völlig zu verzichten, da er in der Land- und Kleintierpraxis oft mit Fragen der Schneckenbekämpfung oder mit Vergiftungen durch Molluskizide konfrontiert wird.

Der Text besteht aus drei Hauptteilen: Biologie (Anatomie, Physiologie, Ökologie, Zuchtmethoden, Krankheitsübertragung, Schnecken als Indikatoren für Umweltverschmutzung, wichtigste Arten von Schadschnecken und ihre Verbreitung, Taxonomie und Nomenklatur, Systematik und Bestimmungsschlüssel), Schadwirkung bei Kulturpflanzen und Erntegut im Acker-, Garten-, Obst- und Waldbau, sowie Bekämpfung. Ein ausführliches Literaturverzeichnis, ein Bildteil mit den farbigen Abbildungen, ein Register der wissenschaftlichen Namen der Schnecken, ihrer Krankheitserreger, Parasiten und Räuber sowie ein Sachregister beschliessen den Band. – Wenn auch der grösste Teil des Buches die Mollusken als Pflanzenschädlinge berücksichtigt und damit die äusserst komplexen Probleme des Pflanzenschutzes behandelt, so kann doch sein Studium interessierten Tierärzten in Praxis und Laboratorium bestens empfohlen werden.

B. Hörning, Bern