

# Impfung von Katzen gegen die Infektion mit dem feline Leukämievirus (FeLV) : erster rekombinanter Impfstoff und Einfluss einer vorbestehenden Infektion mit dem feline Immunschwächevirus (FIV)

Autor(en): Hofmann-Lehmann, Regina / Aubert, A. / Wolfensberger, C.

Objekttyp: 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): 136 (1994)

Heft 10

PDF erstellt am: 28.06.2024

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592583>

## 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.

# Impfung von Katzen gegen die Infektion mit dem feline Leukämievirus (FeLV): Erster rekombinanter Impfstoff und Einfluss einer vorbestehenden Infektion mit dem feline Immunschwächevirus (FIV)

Regina Hofmann-Lehmann<sup>1</sup>, A. Aubert<sup>2</sup>, C. Wolfensberger<sup>1</sup>, J. Cronier<sup>2</sup>, H. Lutz<sup>1</sup>

## Zusammenfassung

Ein neuartiger, rekombinanter Impfstoff gegen das feline Leukämievirus (FeLV) wurde an 30 spezifiziert pathogenfreien Katzen im Alter von 10 Monaten getestet. Der Impfstoff bestand aus dem nicht glykosylierten Hüllprotein p45 des FeLV, Aluminiumhydrogel und einem Saponinadjuvans. Die Katzen (n=18) wurden 2mal im Abstand von 3 Wochen intramuskulär geimpft. Nach 18 Wochen wurden alle Tiere einer intraperitonealen Testinfektion mit FeLV Subtyp A unterzogen. 94% der geimpften Katzen zeigten entweder keine oder nur eine transitorische Virämie, während 80% der ungeimpften Tiere innerhalb von 2 bis 3 Wochen persistierend virämisch wurden. Der Impfstoff erreichte in unserer Versuchsanordnung einen Protektionsgrad ('preventable fraction') von 93%.

Um abzuklären, ob eine vorbestehende, klinisch nicht erkennbare FIV-Infektion einen negativen Effekt auf den Impfschutz hat, wurde die Hälfte der Katzen vor der FeLV-Impfung mit dem feline Immunschwächevirus infiziert. Die FIV-infizierten, aber gesunden Katzen konnten genau wie die FIV-negativen Tiere geimpft und gegen die FeLV-Infektion geschützt werden. Erst im weiteren Verlauf einer FIV-Infektion dürfte es in zunehmendem Masse zu einer Schwächung des Immunsystems kommen und als Folge davon zu klinischen Symptomen. Um eine mögliche Immunsuppression bei Katzen, die in der Praxis zum Impfen vorgestellt werden, zu erkennen ist eine sorgfältige klinische Untersuchung der Katzen vor jeder Impfung von grosser Bedeutung.

**Schlüsselwörter:** Katzen – Retroviren – FIV – FeLV – Impfung – rekombinanter Impfstoff

## Vaccination of cats against the feline leukaemia virus (FeLV): first recombinant vaccine and effect of a pre-existing infection with the feline immunodeficiency virus (FIV)

A new recombinant FeLV vaccine was evaluated in 30 specified pathogen-free cats 10 months of age cats. The vaccine consisted of the non-glycosylated FeLV envelope protein p45, aluminium hydroxide and a saponin adjuvant. The cats (n=18) were vaccinated twice intramuscularly, 3 weeks apart. All animals were challenged intraperitoneally with FeLV subgroup A, 18 weeks later. While 94% of the vaccinated cats showed no viraemia or were only transiently viraemic, 80% of the non-vaccinated animals became persistently viraemic within 2 to 3 weeks. In our hands the preventable fraction of the vaccine was 93%. In order to determine the effect of a pre-existing infection with feline immunodeficiency virus on the efficacy of vaccination, 50% of the cats were previously infected with FIV. The infected cats were protected to the same degree as the non-infected animals. With prolonged duration of FIV infection the probability increases, that the immune system of the cat will fail and clinical signs will appear. In order to observe a state of possible immunodeficiency, an accurate clinical examination of every cat prior to vaccination seems of major importance.

**Key words:** cats – retroviruses – FIV – FeLV – vaccination – recombinant vaccine

## Einleitung

Das feline Leukämievirus (FeLV; Jarrett et al., 1964) und das feline Immunschwächevirus (FIV; Pedersen et al., 1987) sind bei Katzen weltweit natürlicherweise vorkommende Retroviren, die unheilbare und tödlich verlaufende Infektionen verursachen. Will ein Katzenbesitzer seine Katze nicht vollständig ohne Auslauf und ohne Kontakt zu unbekanntem Artgenossen halten, so ist sie einem ständigen FIV- und FeLV-Infektionsrisiko ausgesetzt.

Bereits vor 20 Jahren wurden erste Versuche unternommen, einen sicheren und wirksamen Impfstoff gegen FeLV zu entwickeln (Jarrett et al., 1974). In der Folge wurden verschiedene Lebend- und Totvakzinen erprobt (Olsen et al., 1976; Yohn et al., 1976; Pedersen et al., 1978), sowie Subunitvakzinen hergestellt (Salerno et al., 1978; Hunsmann et al., 1983; Lewis et al., 1981). Alle diese Vakzinen haben Vor- und Nachteile. Die Berichte über Impferfolge und Misserfolge waren sehr kontrovers (Legendre et al., 1990; Pollock und Scarlett, 1990). In jüngerer Zeit wurden grosse Hoffnungen in neue, teilweise gentechnologische Methoden gesetzt (Osterhaus et al., 1989; Marciani et al., 1991).

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über unsere experimentellen Ergebnisse mit der ersten, rekombinant produzierten FeLV-Vakzine (Kensil et al., 1991; Marciani et al., 1991), die nun in der Praxis eingesetzt wird. Wir untersuchten ausserdem die Immunantwort von Katzen, die mit dem feline Immunschwächevirus (FIV) infiziert worden waren. Mit unseren Experimenten sollten zwei Fragen abgeklärt werden: 1) wie wirksam ist der rekombinante FeLV-Impfstoff und 2) können FIV-positive, gesunde Katzen mit Erfolg mit dieser Vakzine geimpft und gegen eine FeLV-Infektion geschützt werden?

### Felines Leukämievirus (FeLV)

In der Schweiz sind rund 10% der Katzen FeLV-positiv (Lutz et al., 1990). Das Erscheinungsbild der durch FeLV verursachten Krankheiten ist sehr vielfältig. Die Infektion kann zur Schwächung des Immunsystems führen (Cockerell et al., 1976) und sich dann in Form der FeLV-assoziierten Krankheiten (Cotter et al., 1975) äussern. Die mit einer FeLV-Infektion auftretenden Nephropathien werden mit anderen, immunpathologischen Prozessen in Zusammenhang gebracht. FeLV-induzierte Tumoren (lympho- bzw. myeloproliferative Neoplasien; Hardy, 1987) kommen im Vergleich zu den erstgenannten Infektionsfolgen weniger häufig vor.

Rund ein Drittel der Katzen, die in Kontakt mit dem FeLV kommen, werden zu persistierenden Dauerausscheidern (Lutz et al., 1983b). Bei einem weiteren Drittel tritt eine transitorische Virämie mit anschliessender Immunität auf. Diese Katzen können noch über Monate latent infiziert bleiben, und die Virusausscheidung kann wieder reaktiviert werden (Gravidität, Umgebungswechsel, iatrogene Glukokortikoidverabreichung). Das restliche

Drittel der Katzen macht gar keine Virämie durch und ist gegen eine FeLV-Infektion nicht geschützt.

FeLV ist sehr leicht von einer infizierten Katze auf eine andere übertragbar, da das Virus in hoher Konzentration über den Speichel ausgeschieden wird (Hoover und Mullins, 1991). So kann die Infektion durch gemeinsames Benutzen von Futternäpfen durch mehrere Katzen oder durch Sozialverhalten wie gegenseitiges Belecken übertragen werden. Ebenso wird FeLV in utero oder laktogen von der Kätzin auf die Nachkommen übertragen.

Die Diagnose einer FeLV-Infektion erfolgt über den Nachweis von Antigen (p27) im Blut. Dafür werden meist ELISA vom Sandwich-typ verwendet, die auf 2 monoklonalen Antikörpern beruhen (Lutz et al., 1983a). Latent infizierte Katzen können von diesem Testsystem allerdings nicht erfasst werden.

### Rekombinanter Impfstoff gegen das feline Leukämievirus

Retroviren sind aufgebaut aus dem Kapsid, das die Erbsubstanz und Innenkörperproteine enthält, und einer Hülle, die aus einer Lipiddoppelmembran besteht (Bolognesi et al., 1978). In letzterer sitzen die lipophilen Transmembranproteine, woran die Hüllproteine mit Kohlenhydratanteil verankert sind. Diese Hüllglykoproteine sind virusspezifisch und wichtig für das Ankoppeln des Virus an Rezeptoren der Zelle. Das Hüllglykoprotein des FeLV besitzt ein Molekulargewicht von 70 000 Dalton und wird kurz gp70 genannt.

Beim verwendeten Impfstoff handelt es sich um eine Subunitvakzine, welche rekombinant hergestellt wurde (Abb. 1). Die verwendete RNS-Sequenz kodiert für einen Polypeptidteil des gp70 und für die ersten 34 Aminosäuren des Transmembranproteins p15(E) (Kensil et al., 1991; Marciani et al., 1991). Das RNS-Fragment wurde durch eine reverse Transkriptase in DNS übersetzt und mit einem Vektor (Plasmid) verbunden. Zusammen bildeten sie die Rekombinations-DNS, welche in die Wirtszelle (*Escherichia coli*) eingeschleust wurde. In der Wirtszelle wurden nun diejenigen Polypeptide produziert, für welche die Rekombinations-DNS kodiert. In Fermentern können mit diesem System grosse Mengen des gewünschten Antigens produziert werden. Das Polypeptid wird allerdings von *E. coli* im Gegensatz zu eukaryontischen Zellen nicht glykosyliert. Es hat ein Molekulargewicht von rund 45 000 Dalton und wird daher p45 genannt.

### Felines Immunschwächevirus (FIV)

Das feline Immunschwächevirus wurde vor 5 Jahren in Kalifornien entdeckt (Pedersen et al., 1987). Heute sind in Europa bis zu 13% der Katzen mit FIV infiziert (Lutz et al., 1988). In der Schweiz sind 3.7% der kranken und 0.7% der gesunden Katzen FIV-Antikörper-positiv (Lutz et al., 1990). Männliche Tiere sind dreimal so häufig betroffen wie weibliche. Das mittlere Alter der infizierten

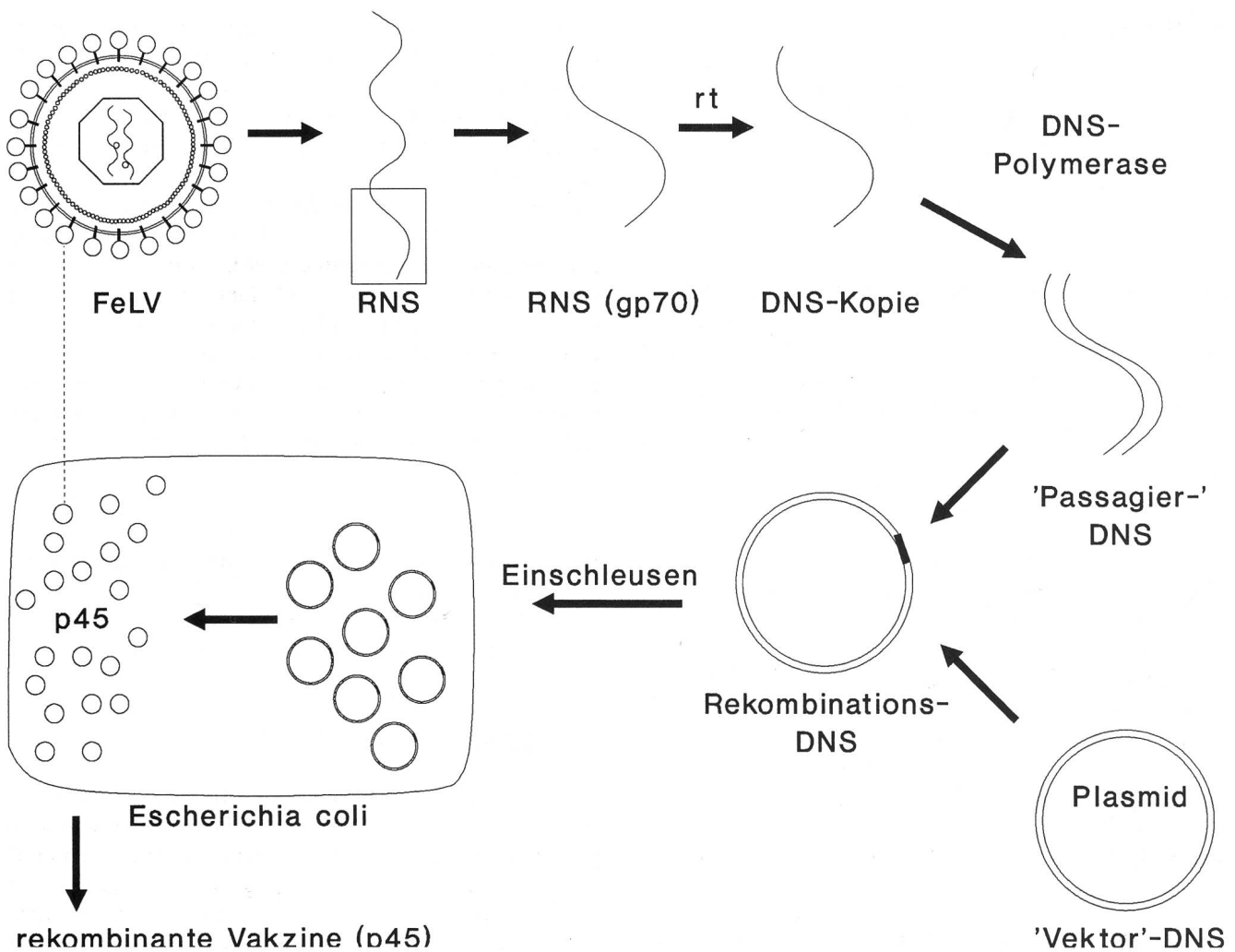


Abbildung 1: Schema der Herstellung des rekombinanten FeLV-Impfstoffes: p45-Produktion in Escherichia coli.

Katzen liegt bei rund 5.5 Jahren. Katzen ohne Freigang und Rassekatzen sind weniger häufig infiziert.

Die FIV-Infektion verursacht nach einer meist mehrjährigen, klinisch unauffälligen Phase, eine Immunschwäche. Die in der Klinik vorgestellte kranke Katze zeigt meist ein unspezifisches Krankheitsbild, das mit schlechtem Allgemeinbefinden, Fieber, Gewichtsverlust, Stomatitis, Gingivitis, persistierenden Infektionen des Respirationstraktes und/oder der Haut und häufig auch Anämie einhergeht (Sparger et al., 1989; Lutz et al., 1990).

Die Übertragung des FIV erfolgt durch Katzenbisse (Revier, Rangkämpfe, Nackenbiss des Katers) (Yamamoto et al., 1989). Venerische oder in utero Übertragung wurde bis jetzt nicht festgestellt. Die FIV-Infektion geht nicht auf den Menschen über (Lutz et al., 1988; Yamamoto et al., 1988).

Der Nachweis einer FIV-Infektion erfolgt aufgrund des Antikörpernachweises gegen FIV und kann mittels eines kommerziellen Schnelltests in der Praxis durchgeführt werden. Bei positivem Resultat sollte immer eine Bestäti-

gung durch ein Speziallabor (Western Blot, Radio-Immuno-Präzipitations-Assay) erfolgen, da im Schnelltest mit falsch positiven Resultaten zu rechnen ist (Barr et al., 1991).

## Tiere, Material und Methoden

### Versuchsordnung

Der Versuch gliederte sich in drei Phasen.

- 30 Katzen im Alter von 17 Wochen wurden nach dem Zufallsprinzip in 2 Gruppen aufgeteilt. Die 15 Katzen der einen Gruppe wurden mit einem schweizerischen Isolat des feline Immunschwächevirus (FIV Z2) zweimal im Abstand von 14 Tagen intraperitoneal infiziert. Die andere Gruppe wurde als FIV-negative Kontrolle gehalten.
- Nach 23 Wochen wurden je 9 Tiere aus den beiden Gruppen 2 mal im Abstand von 3 Wochen intramuskulär mit dem rekombinanten Impfstoff gegen FeLV geimpft. Die 6 verbleibenden Tiere der beiden 15-er Gruppen erhielten ein Placebo (physiologische NaCl-Lösung).



3. 18 Wochen nach der ersten Impfung wurden alle Katzen einer intraperitonealen Testinfektion mit dem feline Leukämievirus (FeLV Subtyp A; 1 Mio. focus forming units) unterzogen. Das Alter der Tiere betrug zu diesem Zeitpunkt rund 58 Wochen.

### Katzen und Haltung

Die 30 Katzen, spezifiziert pathogenfreie Tiere, stammten von der Tierzuchtstation der Ciba Geigy AG, Werk Stein, Sisseln und wurden im Alter von 14 bis 15 Wochen nach Zürich gebracht. Alle Tiere waren mit inaktivierten Impfstoffen gegen Herpes-, Calici- und Parvoviren grundimmunisiert. Es handelte sich dabei um 16 Kätzinnen und 14 Kater. Die Kater wurden im Alter von 6 Monaten kastriert. Bei der Gruppeneinteilung wurde das Geschlechterverhältnis berücksichtigt.

Die 2 Gruppen zu je 15 Tieren wurden in 2 gleichartigen Räumen, welche speziell für die Katzenhaltung eingerichtet worden waren, untergebracht. Die Katzen wurden bei der täglichen Pflege beobachtet und wöchentlich klinisch untersucht. Das Gewicht und die Körpertemperatur wurden bei jeder Blutentnahme gemessen. Die Katzen erhielten rationiert Büchsen- und Trockenfutter (Whiskas und Brekkies, Effems AG, Zug).

### Virusstämme

Das FIV-Isolat (FIV Z2) stammte von einem 7jährigen kastrierten Kater aus der französischen Schweiz und wurde im Herbst 1988 in unserem Labor isoliert. Aus Heparinblutproben dieses Tieres wurden Lymphozyten gereinigt (Ficoll-Isopaque-Gradient, Ficoll-paque, Pharmacia AG, Dübendorf) und unter Interleukin-2-Stimulation (rekombinantes humanes Interleukin-2, von Dr. R. Schreier, Sandoz AG, Basel, freundlicherweise zur Verfügung gestellt) kultiviert. Vom Zellkulturüberstand, der eine hohe  $Mg^{2+}$ -abhängige reverse Transkriptase-Aktivität zeigte (Hoffmann et al., 1985), wurden 50 Aliquots zu 1 ml mit rund 300 000 Zellen/ml als FIV-Virusstock bei  $-70^{\circ}C$  gefroren. Diese Aliquots wurden unmittelbar vor der Infektion der Tiere aufgetaut. Pro Inokulation wurde 1 ml verwendet.

Für die FeLV-Testinfektion wurde FeLV Subtyp A (Zellkulturüberstand) verwendet. Die Aliquots zu 2 ml wurden bei  $-70^{\circ}C$  gelagert und enthielten 200 000 FFU/ml. Der Titer wurde freundlicherweise von Prof. Os Jarrett, Glasgow, bestätigt. Bei der einmaligen Inokulation erhielt jedes Tier 5 ml dieses Virusstocks intraperitoneal appliziert.

### Impfstoff

Beim verwendeten Impfstoff handelt es sich um eine Subunitvakzine des FeLV Subtyps A welcher in *Escherichia coli* gentechnologisch hergestellt wurde (Laboratoi-

res Virbac SA, Carros, Nice, Frankreich; in der Schweiz und in Frankreich unter dem Markennamen Leucogen<sup>®</sup>, in der USA unter Genetivac<sup>®</sup> im Handel). Laut Angaben des Produzenten enthält 1 Impfstoffampulle 100 µg p45, 2 mg Aluminiumhydroxid in total 1 ml einer wässrigen Saponin-Adjuvanslösung.

Die im vorliegenden Experiment verwendete Charge Nr. A 3825 wurde uns direkt vom Hersteller zur Verfügung gestellt. Der Antigengehalt dieser Charge wurde mittels ELISA überprüft und mit demjenigen von 3 anderen sich auf dem Markt befindenden Chargen verglichen (G 251, H 073, H 129). Dazu wurden ELISA-Platten mit identischen Volumina der verschiedenen Impfstoffdosen beschichtet und anschliessend mit verschiedenen Konzentrationen eines von uns hergestellten monoklonalen Antikörpers inkubiert, der gegen das Hüllglykoprotein gp70 des FeLV gerichtet ist (46 II). An diesen Antikörper war vorgängig Peroxidase gekoppelt worden, welche nach Zugabe des Substrates eine Farbreaktion bewirkte. Aufgrund der für die 4 Chargen im ELISA identischen Absorptionswerte, wurde geschlossen, dass sie vergleichbare Mengen des Antigens p45 enthielten.

### Probenerhebung und Hämatologie

Die Blutentnahmen erfolgten an der Vena jugularis mittels eines geschlossenen Vakuum-Blutentnahmesystems (Venoject Becton-Dickinson, Aichele Medico AG, Basel) oder mittels Kanüle und Spritzen. Um unnötigen Stress für die Tiere zu vermeiden, wurden sie vor der Blutentnahme mit Tiletamin-Zolazepam (Zoletil 50, Laboratoire Virbac SA, Carros, Frankreich; 5-10 mg/kg Körpergewicht) sediert.

Im Anschluss an die FIV-Infektion wurde alle 2 Wochen eine Blutprobe bis zum Nachweis der Serokonversion bzw. bis zur positiven Virusisolierung entnommen. Es wurde an den Tagen 0, 10, 14, 17, 21, 24, 29, 42 und 56 nach der FeLV-Impfung und in den Wochen 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 und 24 nach der FeLV-Testinfektion Blutproben entnommen.

Gesamtleukozyten- und Erythrozytenzahl, Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration wurden mittels eines elektronischen Zellzählgerätes (Autolyzer 801; Contra-yes, Medical AG, Glattbrugg) bestimmt. Zusätzlich wurde der Zentrifugen-Hämatokrit und refraktometrisch die Konzentration der Plasmaproteine gemessen. Die Herstellung der Blutausrüche erfolgte sofort nach der Blutentnahme. Die Differenzierung der Leukozyten wurde später vorgenommen.

### Serologische und virologische Untersuchungen

*FIV-Serologie:* Es wurde ein kommerzieller ELISA zum Nachweis von FIV-Antikörpern verwendet. Alle positiven Resultate wurden mittels eines Western-Blotes nach den Angaben von Lutz et al. (1988) mit 1 µg gradientengereinigtem FIV pro Nitrozellulosesstreifen bestätigt.

*Virologische Untersuchungen FIV:* Aus Heparinblut wurden Lymphozyten mittels Ficoll-Hypaque-Gradient gereinigt, in Kultur gebracht und mit Concanavalin A und Interleukin-2 stimuliert. Die Lymphozyten wurden 4 bis 6 Wochen kultiviert und der Überstand wöchentlich mit ELISA auf FIV p24-Antigen oder bezüglich reverser Transkriptase-Aktivität getestet (Hoffmann et al., 1985).

*FeLV-Serologie:* Die anti-p45 Antikörper wurden mittels eines ELISA entsprechend früher publizierter Bedingungen (Lutz et al., 1980) bestimmt. Die Beschichtung der Microtiterplatten erfolgte mit 200 ng p45 pro Vertiefung. Unspezifische Proteinbindungsstellen wurden mit 1% BSA-Lösung (Bovines Serum Albumin, Fluka AG, Buchs) blockiert. Die Serumproben der Katzen wurden 1:100, das Konjugat (Peroxidase-markiertes Ziegen-anti-Katzenimmunglobulin-Konjugat, Cappel Laboratoires, Cochranville, USA) 1:4000 verdünnt. Die Antikörpermengen wurden in Prozent der Extinktion (OD = optical density) der positiven Kontrolle (Plasma einer mehrfach vakzinierten Katze) angegeben, welche zu einer OD von rund 0.400 führte.

Zusätzlich wurden in den Wochen 0, 2, 6 und 12 nach der Impfung FeLV neutralisierende Antikörper in einem «focus inhibition assay» bestimmt (Fischinger et al., 1974; Marciani et al., 1991). Feline Cl81-Zellen, welche das Genom des zur Replikation unfähigen murinen Sarkomvirus (M-MuSV) enthalten, wurden in Kultur mit einer standardisierten Menge FeLV superinfiziert. In den infizierten Zellen kam es zur Expression von FeLV und gleichzeitig zu einer Aktivierung des murinen Sarkomavirus. Dieses bewirkte eine lokale Transformation und eine verstärkte Expression von FeLV. Die FeLV-Expression liess sich auf FEA-Zellen übertragen, welche nach 3 Tagen zu den Cl81-Zellen gegeben wurden. Dadurch kam es an den Stellen mit FeLV-Expression lokal zu Bildung von Foci mit erhöhter Virusproteinsynthese, welche durch eine Immunperoxidase-Färbung sichtbar gemacht und leicht ausgezählt werden konnten. Durch Zugabe von hitzeinaktiviertem Heparinserum der vakzinierten Katzen (mit virusneutralisierenden Antikörpern) konnte die Focusbildung reduziert oder unterbunden werden. Die Zahl der Foci stellte ein indirektes Mass für die Menge der virusneutralisierenden Antikörper dar. Es wurde eine Klassierung in tiefe (0–40%), mittlere (41–80%) und hohe (81–100%) Aktivität virusneutralisierender Antikörper vorgenommen.

In allen entnommenen Blutproben wurden FeLV-p27-Antigen mittels eines auf monoklonalen Antikörpern beruhenden Sandwichtyp-ELISA (Lutz et al., 1983a) bestimmt.

*Virologische Untersuchungen FeLV:* Bei den Proben der Wochen 0, 2, 6 und 12 nach der Testinfektion wurde direkte Virusisolierung durchgeführt. Die Heparinproben wurden auf Cl81-Zellen inkubiert und die entstehenden Foci als Mass für das zirkulierende FeLV ausgezählt.

*Untersuchung bezüglich latenter FeLV-Infektion:* 24 Wochen nach der FeLV-Testinfektion wurde von allen Tieren aus der proximalen Femurmedulla Knochenmark aspiriert und in heparinisiertes Medium gebracht. Die Zellen wurden während 4 Wochen in RPMI-1640 Medium (Gibco/BRL AG, Basel) mit 20% FCS und  $10^{-6}$  mol/l Hydrocortison (Merck AG, Zürich) kultiviert. Die Überstände wurden wöchentlich im ELISA auf FeLV p27 und FIV p24 getestet.

## Statistik

Alle Ergebnisse wurden in einer Datenbank (dBase IV, Ashton Tate) oder in einem Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 4.0, Microsoft) gespeichert. Mittelwerte hämatologischer und serologischer Parameter wurden mittels Mann-Whitney U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft (Sachs, 1984). Das Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde auf 5% festgelegt. Die Nullhypothese besagte: Die Testparameter der FIV-positiven Katzen unterscheiden sich nicht signifikant von den FIV-negativen Katzen.

Relative Häufigkeiten wurden mit dem exakten Test von Fisher für kleine Stichprobenumfänge bei einem Signifikanzniveau  $\alpha$  von 5% auf Unabhängigkeit geprüft.

## Resultate

### Klinik und Hämatologie bis Woche 24 nach der Testinfektion

*FIV-Infektion:* Nach der FIV-Infektion zeigten 3 FIV-infizierte Katzen während 2 bis 3 Wochen eine Lymphadenopathie. Ab der 5. Woche nahmen die FIV-infizierten Tiere signifikant weniger ( $p=0.02$ ) an Körpergewicht zu als die FIV-negativen Katzen und blieben im Mittel bis zur Woche 40 nach der FIV-Infektion etwas leichter als diese. Es wurden keine hämatologischen Abweichungen festgestellt.

*FeLV-Vakzinierung:* Nach der Impfung gegen FeLV zeigten die FIV-infizierten Katzen häufiger Fieberepisoden (Rektaltemperatur  $\geq 39^\circ\text{C}$ ) als die FIV-negativen Tiere. Zwei Wochen nach der Impfung waren signifikant mehr FIV-positiv Katzen febril ( $p=0.04$ ). Hämatologisch traten keine Besonderheiten auf.

*FeLV-Testinfektion:* Sechs Wochen nach der Testinfektion mit FeLV hatten bei den ungeimpften Katzen mehr FIV-infizierte (3 von 6) als FIV-negative (0 von 6) Tiere Fieber. Vier Wochen nach der Testinfektion mit FeLV hatten die 12 nicht gegen FeLV geimpften Katzen signifikant tiefere Gesamtleukozytenwerte ( $p=0.0007$ ) als die 18 geimpften Tiere. Sechs Wochen später hatten sich die Leukozytenwerte dieser Katzen wieder erholt. Sonst konnten während der ersten 24 Wochen nach der Testinfektion mit FeLV keine klinischen oder hämatologischen Abweichungen festgestellt werden.

## FIV-Infektion

Die FIV-Infektion ging bei allen 15 Katzen, die infiziert worden waren, innerhalb von sechs Wochen an (Kriterien: ELISA, Western Blot, Virusisolierung). Alle anderen Katzen blieben FIV-negativ.

## FeLV-Vakzinierung

Alle Katzen, die gegen FeLV geimpft worden waren bildeten hohe Antikörpermengen gegen p45 mit einem ersten Maximum zwischen den Tagen 28 und 42 (Abb 2). Dabei zeigten die 9 FIV-positiven Katzen nach der 1. Impfung einen signifikant früheren Antikörperanstieg als die 9 FIV-negativen Tiere (Anstieg vom Tag 0 auf 24  $p=0.01$ , vom Tag 21 auf 24  $p=0.004$ ). Dadurch hatten die 9 FIV-positiven Tiere am Tag 24 signifikant mehr Antikörper gegen p45 im ELISA als die FIV-negativen. Die 2. Impfung am Tag 24 führte bei den FIV-positiven zu einem signifikant kleineren Boostereffekt als bei den FIV-negativen Katzen (Anstieg von Tag 24 auf Tag 28  $p=0.029$ ).

Von den 18 gegen FeLV geimpften Tieren erreichten 3 Katzen (17%) durch die 2. Impfung eine mittlere FeLV neutralisierende Antikörperaktivität (Abb 3a-d, Woche 0). Die übrigen 15 geimpften Tiere (83%) besaßen vor der Testinfektion wie die 12 ungeimpften Katzen eine tiefe Aktivität.

## FeLV-Testinfektion

Nach der Testinfektion mit FeLV zeigten bei der Gruppe der gegen FeLV geimpften Katzen wiederum die FIV-positiven Tiere einen kleineren Boostereffekt (Abb. 2) als die FIV-negativen, und die Antikörper (anti-p45 Antikörper im ELISA gemessen) fielen früher und signifikant schneller ab ( $p=0.019$ ). Bei den ungeimpften Tieren, für welche die Testinfektion der erste Kontakt mit dem FeLV-Antigen bedeutete, entwickelten die FIV-positiven Katzen höhere Antikörpermengen als die FIV-negativen. Von den 18 gegen FeLV geimpften Katzen (Abb 3a und

3b) wurde nur eine Katze (Nr. 263, FIV-negativ) persistierend infiziert. Bei dieser wurde während 33 Wochen durchgehend virales p27 gefunden, und die Virusisolierung gelang aus dem Plasma zweimal sowie nach 24 Wochen aus dem Knochenmark. Zwei weitere Katzen (Nr. 257 und 261, FIV-positiv) waren transitorisch FeLV-positiv. 24 Wochen nach der Testinfektion fiel die Virusisolierung aus dem Knochenmark bei beiden Tieren negativ aus. Alle anderen geimpften Katzen (83%) waren immer ELISA p27-negativ und die Virusisolierung aus dem Plasma und dem Knochenmark blieb erfolglos. Vierzehn der 18 geimpften Katzen (78%) bildeten schon zwei Wochen nach der Testinfektion hohe FeLV neutralisierende Antikörperaktivität. Zwei Tiere erreichten während der gesamten 12 Wochen keine hohe FeLV-neutralisierende Antikörperaktivität.

Von den 12 ungeimpften Tieren erwiesen sich innerhalb von 2 bis 3 Wochen nach der FeLV-Infektion alle als FeLV-infiziert (Abb 3c und 3d). 10 Tiere (83%) waren persistierend infiziert, beurteilt anhand von durchgehend positiven p27-Resultaten und/oder positiver Virusisolierung. Die 2 anderen Katzen (Nr. 259, FIV-negativ und Nr. 285, FIV-positiv) waren transitorisch FeLV-infiziert. Die Virusisolierung aus dem Knochenmark gelang bei allen 10 persistierend infizierten Katzen, dagegen nicht bei den 2 transitorisch infizierten Tieren. Von allen 12 ungeimpften Katzen gelang es nur einer Katze (Nr. 274), hohe FeLV-neutralisierende Antikörperaktivität zu entwickeln.

Bei 10 der 11 Katzen, bei denen eine Virusisolierung aus dem Plasma erfolgreich war, lag der positive Befund bereits 1 Woche vor dem ersten positiven p27-ELISA-Testergebnis vor. Die Katze Nr. 265 blieb in der Virusisolierung aus dem Plasma durchgehend negativ. Sie wurde aber aufgrund der 7 positiven p27 ELISA-Resultate während der ersten 24 Wochen nach der Testinfektion und der positiven Virusisolierung aus dem Knochenmark zur Gruppe der persistierend infizierten Katzen zugeordnet. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den FIV-positiven und den FIV-negativen Katzen bezüglich der Anzahl infizierter Katzen, der latenten Infektion und den virusneutralisierenden Antikörpern entdeckt werden.

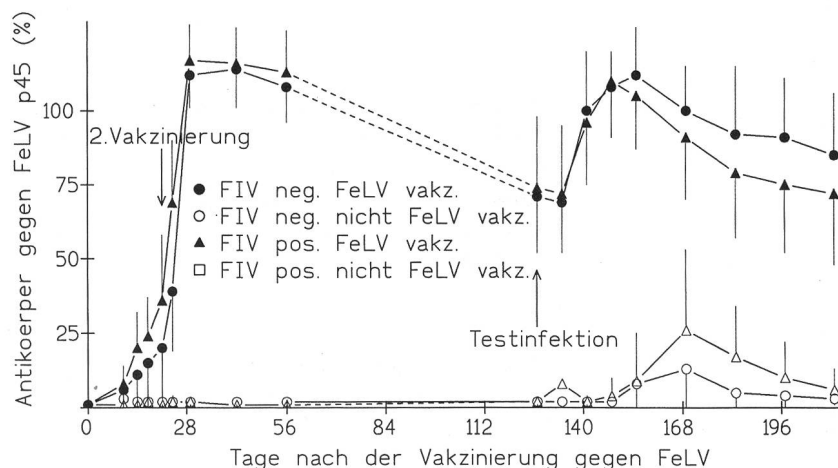


Abbildung 2: Im ELISA gemessene Antikörper gegen p45 im Verlauf der Vakzinierung und der ersten 30 Wochen nach der Testinfektion mit FeLV. Die FIV-positiven, FeLV vakzinierten Katzen zeigten einen früheren Antikörperanstieg und höhere ELISA-Werte nach der 1. Vakzinierung, einen kleineren Boostereffekt nach der 2. Vakzinierung und nach der Testinfektion.

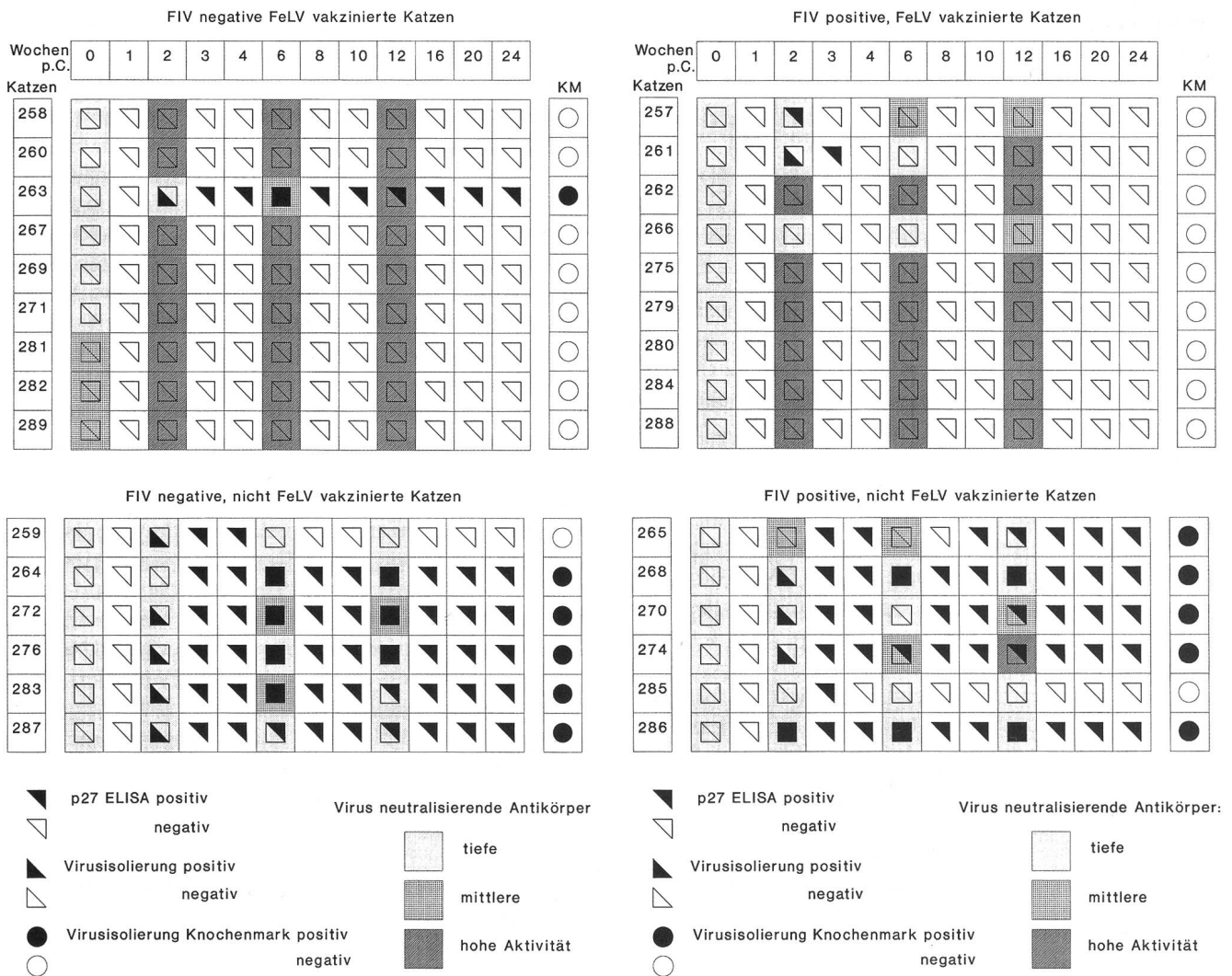


Abbildung 3a, b, c, d: Im ELISA gemessenes FeLV p27, Virusisolierung aus dem Plasma, virusneutralisierende Antikörper und Virusisolierung aus dem Knochenmark nach der Testinfektion mit FeLV;

Abb. 3a, b: FIV-negative Katzen; Abb. 3c, d: FIV-positive Katzen. KM = Knochenmark; p.C. = post challenge = nach der Testinfektion.

## Diskussion

### Rekombinanter FeLV-Impfstoff

Viele der herkömmlichen Versuche, eine Vakzine gegen FeLV zu produzieren, beruhten auf FeLV-infizierten Zellen (Jarrett et al., 1974; Olsen et al., 1976; Yohn et al., 1976), wie den feline Lymphomzellen FL74 (Theilen et al., 1969), daraus gereinigtem Virus (Pedersen et al., 1978), oder sie setzten sich aus einer Kombination von Hüllproteinen und anderen Bestandteilen des Virus zusammen (Salerno et al., 1978; Hunsmann et al., 1983; Lewis et al., 1981). Die Immunisierung von Tieren mit diesen Vakzinen scheiterte teilweise, weil der Antigengehalt zu gering war. Andererseits waren sehr stark immunogene Vakzinen nicht geeignet für eine kommerzielle Verbreitung, da es sich um Tumorzellen handelte, oder bei Lebendvakzinen die Gefahr einer Integration des Virusgenoms in die Wirtszelle nicht ausgeschlossen wer-

den konnte (Hardy, 1981). Die Hersteller neuerer Vakzinen bedienen sich oft neuartiger Technologien. So wurden Vaccinia- (Gilbert et al., 1987) oder Herpesviren (Cole et al., 1990) als «Impfviren» mit «Gastgenen», kodierend für FeLV-env und -gag, eingesetzt, oder es wurden synthetisch produzierte FeLV-Proteine als Immunogene verwendet (Elder et al., 1987). Einen ganz anderen, vielversprechenden Weg beschritten Osterhaus und Mitarbeiter (1989) mit dem sogenannten «immune-stimulating-complex» (ISCOM). Dabei handelte es sich um Saponin-Mizellen mit einem Durchmesser von 30–40 nm, in welche die Hüllproteine von FeLV inkorporiert wurden. ISCOM soll im Gegensatz zu anderen Subunitvakzinen eine zytotoxische T-Zellantwort erzeugen (Osterhaus et al., 1991).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine neuartige, rekombinant produzierte Vakzine (Kensil et al., 1991; Marciani et al., 1991) gegen das feline Leukämievirus an 30 SPF-Katzen getestet. Als Subunitvakzine hat sie den Vorteil,



dass keine onkogenen Eigenschaften des FeLV übertragen werden. Durch die rekombinante Herstellung ist das Antigen sehr genau definiert und kann in *E. coli* durch Fermenter in grossen Mengen produziert werden. Als Antigen wurde das Hüllprotein gp70 des FeLV gewählt, wegen seiner Rezeptorfunktion für die Wirtszelle und wegen seiner Bedeutung bei der Induzierung von FeLV-neutralisierenden Antikörpern (Russell und Jarrett, 1978). Der so hergestellte Impfstoff kann einfach standardisiert und kontrolliert werden.

Von den 18 im vorliegenden Versuch geimpften Katzen bildeten alle hohe Antikörpermengen gegen das Impfantigen. 94% der Tiere waren gegen eine Testinfektion geschützt. Dagegen entwickelten 83% der nicht geimpften Kontrolltiere innerhalb von 2 bis 3 Wochen eine persistierende FeLV Virämie. Dadurch ergibt sich für den Impfstoff in unserer Versuchsanordnung einen Protektionsgrad ('preventable fraction', Pollock und Scarlett, 1990) von 93%. Dieser ist höher als der Wirkungsgrad anderer bis anhin getesteter, kommerzieller FeLV-Vakzinen (Hines et al., 1991; Pedersen und Johnson, 1991; Scarlett und Pollock, 1991; York und York, 1991) und auch anderer Versuche mit demselben Impfstoff (Clark et al., 1991; Marciani et al., 1991). In diesem Zusammenhang muss aber ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass die in Labors durchgeführten Versuche hauptsächlich aus tierschützerischen Gründen immer mit relativ kleinen Tierzahlen auskommen müssen. Zudem wurden die Versuchsanordnungen (Expositionsweg und -dosis, Alter und Herkunft der Katzen, Haltungsbedingungen) nicht einheitlich gewählt. Die erzielten Wirkungsgrade der verschiedenen Impfstoffe sind somit nicht quantitativ miteinander vergleichbar.

In der vorliegenden Arbeit führte die Immunisierung mit dem rekombinanten Impfstoff nur bei einem kleinen Teil der Tiere (17%) zur Bildung von FeLV-neutralisierenden Antikörpern durch die Impfung. Die Mehrzahl der Tiere (89%) bildeten solche aber 2 bis 12 Wochen nach erfolgter Testinfektion. Im Gegensatz dazu produzierte nur eine der ungeimpften Katzen überhaupt virusneutralisierende Antikörper. Inwieweit neutralisierende Antikörper für einen Schutz notwendig sind oder ihn garantieren, kann hiermit nicht festgestellt werden. Aus früheren Experimenten ist allerdings bekannt, dass selbst FeLV-Impfstoffe, welche in anderen Spezies (Meerschweinchen, Ziege) hohe virusneutralisierende Antikörper hervorriefen, bei der Katze in dieser Beziehung versagten (Salerno et al., 1978 und 1979). Auch neuere Untersuchungen über die Korrelation von virusneutralisierenden Antikörpern nach der Impfung von Katzen und einem Schutz gegen die FeLV-Infektion blieben widersprüchliche (Hawks et al., 1991; Osterhaus et al., 1991). Sicher muss aber in diesem Zusammenhang der zellvermittelten Immunität, die hier nicht bestimmt wurde, eine zentrale Rolle beigemessen werden.

Um den Schutz der Katzen gegenüber einer latenten Infektion zu untersuchen, wurde den Katzen 24 Wochen nach der Testinfektion Knochenmark entnommen und zur Virusisolierung verwendet. Es erwiesen sich dabei

alle persistierend FeLV-infizierten Katzen (10 ungeimpfte, 1 geimpfte) als positiv. Bei den nicht oder nur transitorisch virämischen Tieren (2 ungeimpfte, 17 geimpfte) konnte keine latente Infektion nachgewiesen werden. Dabei wäre eine solche vor allem bei den 4 transitorisch infizierten Katzen zu erwarten gewesen. Ob dies eine zufällige Abweichung von früher publizierten Resultaten ist (Post und Warren, 1980) oder einer Schutzwirkung des Impfstoffes zuzuschreiben ist, kann wegen der geringen Anzahl Probanden nicht mit Sicherheit gesagt werden. Eine weitere Erklärung fände sich in einer schnelleren Elimination des Virus unter den gewählten Versuchsbedingungen. So fanden Legendre und Mitarbeiter (1991) 13 Katzen, welche in der Lage waren, das FeLV zwischen der 23. Woche und der 31. Woche nach der Infektion aus ihrem Knochenmark zu eliminieren. Bei den in der vorliegenden Arbeit geimpften FIV-negativen Katzen konnten keine durch den Impfstoff verursachten systemischen Reaktionen festgestellt werden. Diese Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit denjenigen von Clark und Mitarbeitern (1991), die bei über 2000 an Hauskatzen verabreichten Dosen nur bei einem Tier eine Überempfindlichkeitsreaktion feststellten. Teilweise auftretende lokale Reaktionen an der Impfstelle waren vorübergehend und mild.

### FeLV-Testinfektion

Bei der Besprechung des Protektionsgrades des Impfstoffes wurde bereits darauf hingewiesen, dass die Aussagekraft für die Praxis durch die kleine Tierzahl und die speziellen Bedingungen, unter denen der Versuch durchgeführt wurde, nur eingeschränkte Gültigkeit hat. Bei den Versuchstieren handelte es sich um spezifiziert pathogenfreie Katzen, die abgeschottet von der Umwelt gehalten wurden. Solche Versuche sind besser standardisierbar und interpretierbar, haben aber den grossen Nachteil, dass die gewonnenen Erkenntnisse nicht vorbehaltlos auf die Situation in der Praxis übertragbar sind.

Ein wichtiger Unterschied findet sich auch in der Expositionsart und -dosis. Die Katzen waren zwar zum Zeitpunkt der Testinfektion nicht wie in anderen Studien (Lewis et al., 1981; Pedersen und Johnson, 1991) mit Glukokortikoiden vorbehandelt. Unsere Testinfektion darf deshalb als biologisch relevanter betrachtet werden. Das Testvirus wurde intraperitoneal appliziert. Es ist ungewiss, inwiefern die Immunität gegenüber einer intraperitonealen Testinfektion mit derjenigen unter natürlichen Bedingungen korreliert, wo dem immunologischen Schutz der Schleimhäute eine wesentliche Bedeutung zukommt.

Einen Anhaltspunkt bezüglich Schutz gegenüber einer natürlichen Infektion erhielten wir im weiteren Verlauf der Versuche. Die geimpften Katzen lebten mit mehreren persistierend virämischen Katzen über 2.5 Jahre in einem Raum zusammen. Sie teilten Liegeplätze und Futternäpfe und putzten sich gegenseitig. Die Tiere waren also dauernd einem natürlichen FeLV-Infektionsrisiko

ausgesetzt. Innerhalb dieser 2.5 Jahre wurde keine der geimpften Katzen FeLV-positiv. Dies kann als Hinweis gewertet werden, dass die Tiere auch gegenüber einer natürlichen FeLV-Infektion geschützt sind. Diese Beobachtungen werden durch die Untersuchungen von Legendre und Mitarbeitern (1991) bestätigt, die bei Katzen, welche mit dem rekombinanten Impfstoff geimpft und zusammen mit FeLV-infizierten Katzen 31 Wochen in einem Raum untergebracht waren, gleichfalls einen Schutz fanden.

Die vergleichenden virologischen und serologischen Untersuchungen nach der Testinfektion mit FeLV sind auch für die FeLV-Diagnostik von allgemeinem Interesse. Einerseits war die Virusisolierung aus dem Plasma bei den meisten Katzen bereits 1 Woche vor dem Antigen-p27-ELISA positiv. Die geringen Konzentrationen an infektiösem Virus im Blut der Katzen lagen offenbar unter der Detektionsschwelle des Antigen-ELISA. Die Virusisolierung hat also den Vorteil, dass sie die Zeitspanne nach der Infektion verkürzt, während der eine Katze ungegerechtfertigt als FeLV-negativ bezeichnet wird. Andererseits gab es im Verlauf der FeLV-Infektion mehrere Katzen, die persistierend ELISA-positiv waren und bei denen kein Virus im Plasma mehr nachgewiesen werden konnte. Einige dieser Katzen zeigten hohe virusneutralisierende Aktivität. Hätte man die Diagnostik auf die Virusisolierung abgestützt, so wären diese Katzen als nicht infiziert betrachtet worden. Diese Tiere erwiesen sich aber zweifelsfrei als FeLV-Träger, da bei allen diesen Katzen Virus im Knochenmark reaktiviert und isoliert werden konnte. Ein positiver Antigennachweis im Blut kennzeichnet also zurecht eine infizierte Katze, auch wenn kein Virus aus dem Blut isolierbar ist. Wie gross die Ansteckungsgefahr für andere Katzen durch eine Antigen-positive Katze ist, lässt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Die Vorsicht gebietet jedoch, dass eine ELISA-positive Katze als potentiell gefährlich betrachtet werden muss.

Eine weitere Frage, die durch die FeLV-Testinfektion aufgeworfen wird, betrifft die Altersabhängigkeit der Empfänglichkeit für eine FeLV-Infektion. In der vorliegenden Studie waren die Katzen zum Zeitpunkt der Testinfektion 58 Wochen alt, was weit älter ist als in anhin publizierten Studien. Trotzdem wurde eine hohe Virämierate bei den Kontrolltieren (83%) erreicht, was im Widerspruch zu Ergebnissen früherer Studien steht (Hoover et al., 1976; Grant et al., 1980). Ob die hohe Empfänglichkeit der Katzen trotz des relativ hohen Alters Folge der grossen Expositionsdosis von 1 Mio. FFU oder der ungewöhnlichen Infektionsporte ist, lässt sich nicht beantworten.

### **FIV-Infektion und ihre Auswirkungen auf die Impfung gegen FeLV**

Die FIV-Infektion war bei allen 15 infizierten Katzen innerhalb von 6 Wochen angegangen. Die Tiere zeigten neben der vorübergehend schlechteren Gewichtsent-

wicklung keine Abweichungen von den FIV-negativen Kontrollen und keine ernsthaften klinischen Symptome. Die minimale Virulenz des schweizerischen Isolates FIVZ2 unter strikten SPF-Bedingungen, d.h. unter Reduzierung von krankmachenden Kofaktoren, stimmt überein mit anderen experimentellen Infektionsversuchen und anderen Isolaten (Yamamoto et al., 1988).

Die Katzen zeigten zum Zeitpunkt der Impfung gegen FeLV (Frühphase der FIV-Infektion) keine Depression der humoralen Immunantwort. Überraschenderweise zeigten sie nach der 1. Vakzinierung sogar einen schnelleren und höheren Anstieg der Antikörper (ELISA) als die FIV-negativen Katzen. Eine ähnliche Beobachtung wurde bereits für die Frühphase der HIV-Infektion des Menschen beschrieben, bei der hauptsächlich die gegen HIV gerichtete B-Zellantwort stimuliert ist (Pahwa et al., 1986; Schnittman et al., 1986; Levy, 1989; Amadori und Chieco-Bianchi, 1990).

Zwei Wochen nach der ersten Vakzinierung war bei den FIV-positiven geimpften und ungeimpften, nicht aber bei den FIV-negativen Tieren, vermehrtes Auftreten von Fieber zu beobachten. Diese Fieberschübe könnten mit der beobachteten markanten Stimulation des humoralen Immunsystems erklärt werden. In dieser Phase liessen sich bei den FIV-positiven, nicht aber bei den FIV-negativen Katzen, erhöhte Mengen an Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) nachweisen (Lehmann et al., 1992b), welcher hauptsächlich in Monozyten/Makrophagen produziert wird. In diesen Zellen vermehrt sich einerseits das FIV (Brunner und Pedersen, 1989), andererseits spielen diese Zellen eine wichtige Rolle bei der Antigenpräsentation. Es ist zu vermuten, dass als Folge der Immunisierung die Makrophagen bei den FIV-positiven Katzen in besonders hohem Masse aktiviert werden und dabei vermehrt TNF  $\alpha$  und Interleukin 1 synthetisieren, welches beides potente Pyrogene sind.

Für die ungeimpften Katzen stellte die Testinfektion den Primärkontakt mit FeLV dar. Sie zeigten ein ähnliches Immunantwortmuster wie die geimpften Tiere nach der 1. Immunisierung, indem die FIV-positiven Katzen höhere Antikörpermengen bildeten als die FIV-negativen Tiere. Selbst 58 Wochen nach der FIV-Infektion zeigten die Katzen also eine erhöhte Bereitschaft im Rahmen einer Primärantwort Antikörper gegen ein Antigen zu bilden. Das Reaktionsmuster nach dem zweiten (Boostervakzinierung) und dritten Kontakt (Testinfektion) mit dem Antigen unterschied sich von demjenigen des Primärkontaktes. Die FIV-positiven geimpften Katzen bildeten geringere Mengen an Antikörpern als die FIV-negativen geimpften Tiere. Sie waren aber in gleichem Masse gegen die FeLV-Testinfektion geschützt, wie die FIV-negativen Tiere.

Es lag also zum Zeitpunkt der Impfung (Frühphase der FIV-Infektion) noch keine Suppression des Immunsystems bei den FIV-infizierten Katzen vor. Noch ist unbekannt, wann ein Impfschutz im Verlauf der FIV-Infektion nicht mehr induzierbar ist. Die Immunisierung FIV-infizierter Katzen mit einem synthetischen, T-zellspezifischen Peptid (TGAL) führte nach 19 Monaten, aber nicht

mehr nach 25 Monaten zu einer adäquaten Bildung von Antikörpern (Lehmann et al., 1992a; Torten et al., 1991). Gegenüber Tetanustoxoid synthetisierten FIV-infizierte Katzen auch nach 27 Monaten gleich hohe Mengen von Antikörpern wie die FIV-negativen Kontrollen (Lehmann, unveröffentlichte Beobachtungen).

Mit zunehmender Dauer der FIV-Infektion nimmt die Immunkompetenz der infizierten Katzen ab, und die Tiere erkranken nach durchschnittlich 4 Jahren (Lutz et al., 1990). Während dieser relativ langen Zeitspanne werden viele dieser Katzen dem Tierarzt mehrmals zur jährlichen Revakzinierung gegen Katzenseuche, Katzenschnupfen, Leukose oder Tollwut vorgestellt. Tritt bei der klinischen Untersuchung der Tiere der Verdacht einer FIV-Infektion (Stomatitis, Gingivitis, Diarrhoe, Gewichtsverlust, Fieber etc.) auf, muss mit einer Schwächung des Immunsystems gerechnet werden, welche eine Schutzwirkung der Impfung in Frage stellen kann. Es gibt Laborparameter, die eine Immunschwäche erkennbar machen, wie das Verhältnis der CD4<sup>+</sup> zu CD8<sup>+</sup> Lymphozyten im peripheren Blut (Ackley et al., 1990; Torten et al., 1991), aber die Methoden (Holznagel et al., in Vorbereitung) sind für die tierärztliche Praxis zu aufwendig. Aus diesem Grund kommt der sorgfältigen, klinischen Untersuchung der Katzen vor jeder Impfung grösste Bedeutung zu. Bei einer klinisch vollständig gesunden Katze ist die Wahrscheinlichkeit einer Immunschwäche äusserst gering. Die Impfung der Katze dürfte in diesem Fall auch bei einer vorbestehender FIV-Infektion zu einem ausreichenden Schutz führen.

## Literatur

- Ackley C.D., Yamamoto J.K., Levy N., Pedersen N.C., Cooper M.D. (1990): Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *J Virol* 64, 5652-5655.
- Amadori A., Chieco-Bianchi L. (1990): B-cell activation and HIV-1 infection: deeds and misdeeds. *Immunol Today* 11, 374-379.
- Barr M.C., Pough M.B., Jacobson R.H., Scott F.W. (1991): Comparison and interpretation of diagnostic tests for feline immunodeficiency virus infection. *JAVMA* 199, 1377-1381.
- Bolognesi D.P., Montelaro R.C., Frank H., Schäfer W. (1978): Assembly of type C oncornaviruses: a model. *Science* 199, 183-6.
- Brunner D., Pedersen N.C. (1989): Infection of peritoneal macrophages in vitro and in vivo with feline immunodeficiency virus. *J Virol* 63, 5483-5488.
- Clark N., Kushner N.N., Barrett C.B., Kensil C.R., Salisbury D., Cotter S. (1991): Efficacy and safety trials of a recombinant DNA vaccine against feline leukemia virus infection. *JAVMA* 199, 1433-43.
- Cockerell G.L., Hoover E.A., Krakowka S., Olsen R.G., Yohn D.S. (1976): Lymphocyte mitogen reactivity and enumeration of circulating B- and T-cells during feline leukemia virus infection in the cat. *J Natl Cancer Inst* 57, 1095-99.
- Cole G.E., Stacy-Phillips S., Nunberg J.H. (1990): Recombinant feline herpesviruses expressing feline leukemia virus envelope and gag proteins. *J Virol* 64, 4930-8.
- Cotter S.M., Hardy W.D., Essex M. (1975): Association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders in the cat. *JAVMA* 166, 449-54.
- Elder J.H., McGee J.S., Munson M., Houghton R.A., Kloetzer W., Bittle J.L., Grant C.K. (1987): Localization of neutralizing regions of the envelope gene of feline leukemia virus by using anti-synthetic peptide antibodies. *J Virology* 61, 8-15.
- Fischinger P.J., Blevins C.S., Nomura S. (1974): Simple, quantitative assay for both xenotropic murine leukemia virus and ecotropic feline leukemia viruses. *J Virol* 14, 177-9.
- Gilbert J.H., Pedersen N.C., Nunberg J.H. (1987): Feline leukemia virus envelope protein expression encoded by a recombinant vaccinia virus: apparent lack of immunogenicity in vaccinated animals. *Virus Res* 7, 49-67.
- Grant C.K., Essex M., Gardner M.B., Hardy W.D. (1980): Natural feline leukemia virus infection and the immune response of cats of different ages. *Cancer Res* 40, 823-9.
- Hardy W.D. (1981): The feline leukemia virus. *J Am Anim Hosp Assoc* 17, 951-80.
- Hardy W.D. (1987): Oncogenic viruses of cats: the feline leukemia and sarcoma viruses. In: Holzworth J, ed. *Diseases of the cat: medicine and surgery*. Philadelphia: WB Saunders Co: 246-268.
- Hawks D.M., Legendre A.M., Robrbach B.W., Sebring R., Chavez L., Chu H.J., Acree W.M. (1991): Antibody response of kittens after vaccination followed by exposure to feline leukemia virus-infected cats. *J Am Vet Med Assoc* 199, 1463-9.
- Hines D.L., Cutting J.A., Dietrich D.L., Walsh J.A. (1991): Evaluation of efficacy and safety of an inactivated virus vaccine against feline leukemia virus infection. *JAVMA* 199, 1428-30.
- Hoffmann A.D., Banapour B., Levy J.A. (1985): Characterization of the AIDS-associated retrovirus reverse transcriptase and optimal conditions for its detection in virions. *Virology* 147, 326-35.
- Hoover E.A., Olsen R.G., Hardy W.D., Schaller J.P., Matbes L.E. (1976): Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection. *JNCI* 57, 365-9.
- Hoover E.A., Mullins J.I. (1991): Feline leukemia virus infection and diseases. *J Am Vet Med Assoc* 199, 1287-1297.
- Hunsmann G., Pedersen N.C., Theilen G.H., Bayer H. (1983): Active immunization with feline leukemia virus envelope glycoprotein suppresses growth of virus-induced feline sarcoma. *Med Microbiol Immunol* 171, 233-41.
- Jarrett W.F., Crawford E.M., Martin W.B., Davie F. (1964): A virus-like particle associated with leukemia (Lymphosarcoma). *Nature* 202, 567-8.
- Jarrett W.F., Mackey L., Jarrett O., Laird H., Hood C. (1974): Antibody response and survival in cats vaccinated against feline leukemia. *Nature* 248, 230-2.
- Kensil C.R., Barrett C., Kushner N., Beltz G., Storey J., Patel U., Recchia J., Aubert A., Marciari D. (1991): Development of a genetically engineered vaccine against feline leukemia virus infection. *JAVMA* 199, 1423-7.
- Legendre A.M., Mitchner K.L., Potgieter L.N. (1990): Efficacy of feline leukemia virus vaccine in a natural exposure challenge. *J Vet + Int Med* 4, 92-8.
- Legendre A.M., Hawks D.M., Sebring R., Robrbach B., Chavez L., Chu H.J., Acree W.M. (1991): Comparison of the efficacy of three commercial feline leukemia virus vaccines in natural challenge exposure. *JAVMA* 199, 1456-62.
- Lehmann R., von Beust B., Niederer E., Condrau M.A., Fierz W., Aubert A., Ackley C.D., Cooper M.D., Tompkins M.B., Lutz H. (1992a): Immunization-induced decrease of CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> ratio in cats experimentally infected with FIV. *J Immunol Immunopathol* 35, 199-214.
- Lehmann R., Joller H., Haagmans B., Auvert A., Lutz H. (1992b): Immunization-induced changes of TNF  $\alpha$  in cats experimentally infected with FIV. *J Immunol Immunopathol* 35, 61-69.



Levy J.A. (1989): Human immunodeficiency viruses and the pathogenesis of AIDS. *JAMA* 261, 2997-3006.

Lewis M.G., Mathes L.E., Olsen R.G. (1981): Protection against feline leukemia by vaccination with a subunit vaccine. *Infect Immun* 34, 888-94.

Lutz H., Pedersen N., Higgins J., Hübscher U., Troy F.A., Theilen G.H. (1980): Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigens in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Cancer Res* 40, 3642-51.

Lutz H., Pedersen N.C., Durbin R., Theilen G.H. (1983a): Monoclonal antibodies to three epitopic regions of feline leukemia virus p27 and their use in enzyme-linked immunosorbent assay of p27. *J Immunol Methods* 56, 209-220.

Lutz H., Pedersen N.C., Theilen G.H. (1983b): The course of feline leukemia virus infection in a natural exposure challenge. *J Vet Int Med* 4, 92-8.

Lutz H., Egberink H., Arnold P., Winkler G., Wolfensberger C., Jarrett O., Parodi A.L., Pedersen N.C., Horzinek M.C. (1988): Felines T-lymphotropes Lentivirus (FTLV): Experimentelle Infektion und Vorkommen in einigen Ländern Europas. *Kleintierpraxis* 33, 445-52.

Lutz H., Lehmann R., Winkler G., Kottwitz B., Dittmer A., Wolfensberger C., Arnold P. (1990): Das feline Immunschwächevirus in der Schweiz: Klinik und Epidemiologie im Vergleich mit dem Leukämie- und dem Coronavirus. *Schweiz Arch Tierheilk* 132, 217-25.

Marciani D.J., Kensil C.R., Beltz G.A., Hung C.H., Cronier J., Aubert A. (1991): Genetically-engineered subunit vaccine against feline leukaemia virus: protective immune response in cats. *Vaccine* 9 (2), 89-96.

Olsen R.G., Hoover E.A., Mathes L.E., Hedging L., Schaller J.P. (1976): Immunization against feline oncornavirus disease using a killed tumor cell vaccine. *Cancer Res* 36, 3642-6.

### **Vaccination de chats contre l'infection causée par le virus de la leucémie féline (FeLV). Premier vaccin recombinant et influence d'une infection préexistante par le virus de l'immunodéficience féline (FIV)**

Un nouveau vaccin recombinant contre le virus de la leucémie féline (FeLV) a été testé chez 30 chats âgés de 10 mois et libres de microbes pathogènes spécifiques. La vaccin était constitué de la protéine p45 de l'enveloppe non glycosylée du FeLV, d'hydroxide d'aluminium et d'un adjuvant à base de saponine. Les chats (n=18) ont été vaccinés par voie intramusculaire 2 fois en l'espace de trois semaines. Après 18 semaines, tous les animaux ont été infectés par voie intrapéritonéale avec le sous-type A du FeLV. Aucune virémie, ou une virémie transitoire seulement, n'a été observée chez 94% des chats vaccinés alors que 80% des animaux non vaccinés sont devenus virémiques de façon persistante après une période de 2 à 3 semaines. Au cours de cette expérience, le degré de protection par le vaccin («preventable fraction») était de 93%. Afin de déterminer si une immunodéficience féline préexistante et ne se manifestant pas cliniquement a un effet négatif sur la protection immunitaire, la moitié des chats a été préinfectée par le virus de l'immunodéficience féline (FIV). Les chats infectés par le FIV, quoique cliniquement sains, ont pu, tout comme les animaux négatifs, être vaccinés et protégés contre les infections par le FeLV. Un affaiblissement progressif du système immunitaire, accompagné par conséquent de symptômes cliniques, a été décelé uniquement au cours d'une infection prolongée par le FIV. Afin de reconnaître une immunosuppression chez les chats qui sont présentés en pratique pour être vaccinés, un examen clinique consciencieux est de première importance.

### **Vaccinazione di gatti contro l'infezione causata dal virus della leucemia felina (FeLV): Primo vaccino ricombinante e azione di una infezione preesistente da virus immunodeficitario felino (FIV).**

Un nuovo vaccino ricombinante contro la leucemia felina (FeLV) è stato testato su 30 gatti di età di 10 mesi, liberi da agenti patogeni specifici. Il vaccino consisteva nella proteina mantello non glicosilata p45 del FeLV, di un idrogel d'alluminio e di un coadiuvante a base di saponina. I gatti (n=18) furono vaccinati 2 volte con un' iniezione intramuscolare, nell' intervallo di 3 settimane. Dopo 18 settimane tutti gli animali furono infettati intraperitonealmente con il test-virus FeLV del sub-tipo A. Il 94% dei gatti infettati non mostrò alcuna viremia oppure solo una viremia transitoria, mentre l' 80% dei gatti non vaccinati divennero viremici nell'arco di 2-3 settimane. Il vaccino raggiunse sotto le nostre condizioni sperimentali un grado protettivo (preventable fraction) del 93%. Per accertare se un' infezione latente e preesistente col virus FIV ha un effetto negativo sulla protezione offerta dal vaccino, la metà dei gatti fu, prima della vaccinazione col FeLV, infettata col virus immuno-deficitario FIV. I gatti infettati col FIV clinicamente sani, poterono essere protetti dal FeLV come gli animali FIV-negativi. Solo ad uno stadio più avanzato dell'infezione da FIV si prevede un indebolimento del sistema immunitario e conseguentemente un' apparizione dei sintomi clinici. Per riconoscere una possibile immunosuppressione nei gatti, presentati in clinica per la vaccinazione, è molto importante un' accurata ispezione clinica dei gatti prima della vaccinazione.



- Osterbaas A., Wejer K., UytdeHaag F., Knell P., Jarrett O., Akerblom L., Morein B. (1989): Serological responses in cats vaccinated with FeLV ISCOM and an inactivated FeLV vaccine. *Vaccine* 7, 137-41.
- Osterbaas A.D.M.E., Wejer K., Siebelink K.H.J., Rimmelzwaan G.F., Bosch M.L. (1991): Toward vaccination against feline leukemia and feline immunodeficiency virus infections. *JAVMA* 199, 1443-6.
- Pabwa S., Pabwa R., Good R.A., Gallo R.C., Saxinger C. (1986): Stimulatory and inhibitory influences of human immunodeficiency virus on normal B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 9124-8.
- Pedersen N.C., Johnson L. (1991): Comparative efficacy of three commercial feline leukemia virus vaccines against methylprednisolone acetate-augmented oronasal challenge exposure with virulent virus. *JAVMA* 199, 1453-5.
- Pedersen N.C., Theilen G., Keane M.A., Fairbanks L., Mason T., Orser B., Chen Ch., Allison C. (1977): Studies of naturally transmitted feline leukemia virus infection. *JAVMA* 38, 1523-1531.
- Pedersen N.C., Theilen G.H., Werner L.L. (1978): Safety and efficacy studies of live- and killed-feline leukemia virus vaccines. *Am J Vet Res* 40, 1120-6.
- Pedersen N.C., Ho E.W., Brown M.L., Yamamoto J.K. (1987): Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science* 235, 790-3.
- Pollock R.V., Scarlett J.M. (1990): Randomized blind trial of a commercial FeLV vaccine. *JAVMA* 196, 911-6.
- Post J.E., Warren L. (1980): Reactivation of latent feline leukemia virus; In: Hardy W.D., Essex M., McClelland A.J., Feline leukemia virus, NY, Elsevier North Holland, 151-5.
- Russell P.H., Jarrett O. (1978): The occurrence of feline leukaemia virus neutralizing antibodies in cats. *Int J Cancer* 22, 351-7.
- Sachs L. (1984): *Angewandte Statistik*. Springer-Verlag, Berlin.
- Salerno R.A., Lehman E.D., Larson V.M., Hilleman M.R. (1978): Feline leukemia virus envelope glycoprotein vaccine: Preparation and evaluation of immunizing potency in guinea pig and cat. *JNCI* 61, 1487-93.
- Salerno R.A., Larson V.M., Phelps A.H., Hilleman M.R. (1979): Infection and immunization of cats with the Kawakami-Theilen strain of feline leukemia virus. *Proc Soc Exp Biol Med* 160, 18-23.
- Scarlett J.M., Pollock R.V. (1991): Year two of follow-up evaluation of randomized blind field trial of a commercial feline leukemia virus vaccine. *JAVMA* 199, 1431-2.
- Schnittman S.M., Lane D.E., Higgins S.E., Folks T., Fauci A.S. (1986): Direct polyclonal activation of human B lymphocytes by the acquired immune deficiency syndrome virus. *Science* 233, 1084-6.
- Sparger E.E., Luciw P.A., Elder J.H., Yamamoto J.K., Lowenstine L.J., Pedersen N.C. (1989): Feline immunodeficiency virus is a lentivirus associated with an AIDS-like disease in cats. *AIDS* 3, S43-9.
- Theilen G.H., Kawakami T.G., Rush J.D., Munn R.J. (1969): Replication of cats leukaemia virus in cell suspension cultures. *Nature* 222, 589-90.
- Torten M., Franchini M., Barlough J.E., George J.W., Mozes E., Lutz H., Pedersen N.C. (1991): Progressive immune dysfunction in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *J Virol* 5, 2225-30.
- Yamamoto J.K., Sparger E., Ho E.W., Andersen P.R., O'Conner T.P., Mandell C.P., Lowenstine L., Munn R., Pedersen N.C. (1988): Pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus infections in cats. *Am J Vet Res* 49, 1246-58.
- Yamamoto J.K., Hansen H., Ho E.W., Morishita T.Y., Okuda T., Sawa T.R., Nakamura R.M., Pedersen N.C. (1989): Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *JAVMA* 194, 213-20.
- Yohn D.S., Olsen R.G., Schaller J.P., Hoover E. A., Mathes L.E., Hedinn L., Davis G.W. (1976): Experimental oncornavirus vaccines in the cat. *Cancer Res* 36, 645-51.
- York S.M., York C.J. (1991): Development of a whole killed feline leukemia virus vaccine. *JAVMA* 199, 1419-22.

## Dank

Die vorliegende Arbeit wurde unterstützt durch den Katzenclub «Zürileu», die Rassekatzenvereinigung Ostschweiz und durch die Schweizerische Bankgesellschaft im Auftrage eines Kunden. Das Katzenfutter wurde freundlicherweise von der Effems Zug zur Verfügung gestellt. Unsere Katzen wurden sorgfältig betreut und gepflegt von J. Burri und P. Fidler, welcher auch sehr gewissenhaft für die tiergerechte Ausstattung der Katzenräume besorgt war. Folgenden Kolleginnen und Kollegen möchten wir danken für ihre Mithilfe: K. Bauer-Pham, I. Castelli, J. Engeli, D. Fehr, M. Franchini. Einen speziellen Dank geht an E. Holznel für die fruchtbaren Diskussionen.

**Korrespondenzadresse:** H. Lutz, Veterinärmedizinisches Labor, Departement für Innere Veterinärmedizin, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 25. März 1993