

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Feline Leukämievirusinfektion bei Katzen in Süddeutschland

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Theresa Olivia Susanne Englert
aus Würzburg

München 2014

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Gerd Sutter

Tag der Promotion: 08. Februar 2014

Meinen geliebten Eltern und meiner geliebten Schwester

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT: DAS FELINE LEUKÄMIEVIRUS.....	2
1.	Entdeckung	2
2.	Ätiologie.....	2
3.	Subtypen.....	3
3.1.	FeLV-A.....	4
3.2.	FeLV-B.....	4
3.3.	FeLV-C.....	6
3.4.	Weitere Subtypen	7
3.4.1.	Felines Sarkomvirus	7
3.4.2.	FeLV- <i>myc</i>	8
4.	Prävalenz.....	8
5.	Verlaufsformen der Infektion	10
5.1.	Alte Klassifizierung.....	11
5.1.1.	Regressorkatzen	11
5.1.2.	Transiente Virämie	12
5.1.2.1.	Viruselimination.....	12
5.1.2.2.	Latente Infektion	12
5.1.3.	Persistierende Virämie	14
5.1.4.	Atypische Infektion	14
5.2.	Neue Klassifizierung.....	14
5.2.1.	Abortive Infektion	17
5.2.2.	Regressive Infektion.....	17
5.2.2.1.	Ohne Antigenämie.....	18
5.2.2.2.	Mit Antigenämie	18
5.2.3.	Progressive Infektion.....	19
5.2.4.	Atypische Infektion	19
III.	PUBLIKATION	20
IV.	DISKUSSION	29
V.	ZUSAMMENFASSUNG	36
VI.	SUMMARY.....	37

VII.	LITERATURVERZEICHNIS	38
VIII.	LEBENS LAUF	55
IX.	DANKSAGUNG	57

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BFU-E	erythroid burst-forming units (erythroische burst-forming units)
<i>c-myc</i>	zelluläres <i>myc</i>
CFU-E	erythroid colony-forming units (erythroische colony-forming units)
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EKH	Europäische Kurzhaarkatze
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (enzymgebundenes Immunadsorptionsverfahren)
enFeLV	endogene Retroviren
<i>env</i>	Gen, das für die Hüllproteine kodiert
FeLV	feline leukemia virus (felines Leukämievirus)
FeLVCR	FeLV-C surface receptor (FeLV-C- Oberflächenrezeptor)
FeLV- <i>myc</i>	FeLV, das das <i>myc</i> -Gen enthält
FeSV	feline sarcoma virus (felines Sarkomvirus)
FIP	feline infectious peritonitis (feline infektiöse Peritonitis)
FISS	feline injection site sarcoma (feline injektionsstellenassoziierte Fibrosarkome)
FIV	feline immunodeficiency virus (felines Immundefizienzvirus)
FOCMA	feline oncornavirus-associated cell membrane antigen (feline Oncornavirus-assoziierte Zellmembranantigene)
<i>gag</i>	group associated antigen
GALV	gibbon ape leukemia virus (Gibbonaffen-Leukämievirus)
gp	Glycoprotein
LTR	long terminal repeats
MuLV	murine leukemia virus (murines Leukämievirus)
<i>myc</i>	Oncogen

<i>onc</i>	Oncogen
<i>p</i>	Protein
PCR	polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
<i>pol</i>	Gen, das für die Polymerase kodiert
PRCA	pure red cell aplasia (isolierte aplastische Anämie)
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RT	reverse transcriptase (Reverse Transkriptase)
RT-PCR	reverse-transcription polymerase chain reaction (Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion)
SPF	specific pathogen free (spezifisch pathogen-frei)

I. EINLEITUNG

Die Infektion mit dem feline Leukämievirus (FeLV) kann bis heute nicht geheilt werden. Dank ausgedehnter Sanierungsprogramme, die vor allem in Zuchten, Tierheimen und Mehrkatzenhaushalten durch Testung zur Entfernung der infizierten Tiere aus den Beständen führten, sowie dank umfassender Impfprogramme konnte die Prävalenz der FeLV-Infektion in den letzten Jahrzehnten weltweit deutlich gesenkt werden (WEIJER et al., 1989; LEVY et al., 2006; HARTMANN, 2012). So wurden vor einigen Jahren in Deutschland noch FeLV-Prävalenzen von bis zu 13,4 % bei gesunden (FUCHS et al., 1994) und bis zu 30,4 % bei kranken Katzen ermittelt (ARJONA et al., 2000; HARTMANN, 2012). Inzwischen sank die Prävalenz auf ca. 2 % (GLEICH et al., 2009). Fast alle Prävalenz-Studien basierten allerdings auf dem Nachweis von FeLV-Antigenen. Aufgrund der komplexen Verlaufsformen und unterschiedlichen Manifestationen der FeLV-Infektion spiegeln auf Antigennachweis beruhende Prävalenz-Studien die Realität jedoch nur zu einem Teil wider. Bei der sogenannten regressiven Infektion kann kein Antigen im peripheren Blut nachgewiesen werden; provirale Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist jedoch in Knochenmarkszellen der Katzen integriert. In der Schweiz wurde vor einiger Zeit eine Studie durchgeführt, bei der ein unerwartet hoher Prozentsatz an regressiven Infektionen nachgewiesen werden konnte. So wurden 10 % der Katzen als latente Träger des FeLV ermittelt (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001). In Deutschland existieren bisher keine Daten zur Häufigkeit regressiver Infektionen. Daher war es das Ziel dieser Arbeit, die Prävalenz der FeLV-Infektionen im Raum Süddeutschland zu ermitteln und dabei nicht nur die progressiven, sondern auch die regressiven Infektionen zu erfassen.

II. LITERATURÜBERSICHT: DAS FELINE LEUKÄMIEVIRUS

1. Entdeckung

FeLV wurde 1964 von den Brüdern Oswald und William Jarrett entdeckt (JARRETT et al., 1964a). Es war ihnen gelungen, durch Übertragung von Zellen eines intestinalen Lymphoms einer adulten Katze die Bildung von Lymphomen bei neugeborenen Katzenwelpen zu induzieren. Auf der Zelloberfläche der Tumorzellen konnten Viruspartikel elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden (JARRETT et al., 1964a; JARRETT et al., 1964b). Nach diesen Entdeckungen wurde die FeLV-Infektion als Hauptursache für lymphatische Neoplasien angesehen (HARDY, 1981a). Später wurde gezeigt, dass FeLV verantwortlich für viele weitere sogenannte FeLV-assoziierte Erkrankungen ist (COTTER, 1976; HARDY et al., 1976; REINACHER, 1989; REINACHER et al., 1995).

2. Ätiologie

Das FeLV ist ein Gammaretrovirus aus der Familie der Retroviridae (HOOVER & MULLINS, 1991). Dort gehört es in die Gruppe der Säuger-Typ-C-Viren. Es ist mit dem murinen Leukämievirus (MuLV) verwandt. FeLV ist ein Ribonukleinsäure-Virus (RNA), das über einen Kern mit Einzelstrang-RNA und eine Hülle verfügt (GOMES-KELLER et al., 2006a). Da es als Gammaretrovirus zu den „einfachen“ Retroviren zählt, enthält das Genom neben den Long Terminal Repeats (LTR) nur die typischen Sequenzen *gag*, *env* und *pol* (DONAHUE et al., 1988). Während *gag* für gruppenspezifische Antigene, wie das Viruskapsid, kodiert (STEPHENSON et al., 1977), sind auf *pol* die Informationen für das zur Infektion der Wirtszelle notwendige Enzym Reverse Transkriptase (RT) enthalten. Dem *env*-Gen kommt eine wichtige Rolle für die Verlaufsform der Infektion zu. Das dort kodierte Hüllprotein gp70 ist unter anderem für die Induktion virusneutralisierender Antikörper verantwortlich, während p15,

ebenfalls ein Hüllprotein, die immunsuppressiven Eigenschaften bestimmt. Die Infektion mit FeLV erfolgt in der Regel oronasal. Im Oropharynx vermehrt sich das Virus vor allem in den Lymphknoten und Mandeln, bevor es zu einer zellassozierten Virämie kommt. Während dieser Virämie gelangt das Virus mit Lymphozyten und Monozyten in die Blutbahn (ROJKO et al., 1979). In diesem Stadium entwickeln die infizierten Tiere häufig Fieber und Lymphadenopathien. Aus dem Blut gelangt das FeLV in verschiedene Gewebe, wie Milz, Knochenmark, Speicheldrüsen und Thymus. In diesem Stadium fungieren die infizierten Katzen durch Virusausscheidung als Ansteckungsquelle für andere Tiere. Durch das Enzym RT, das den Retroviren ihren Namen gibt, wird die RNA in provirale DNA umgeschrieben, die daraufhin ins zelluläre Genom eingebaut wird (PEDERSEN, 1990; JARRETT, 1999). Die so befallenen Vorläuferzellen des blutbildenden Systems produzieren in der Folge ebenfalls befallene Tochterzellen. In diesem Stadium ist das Virus dann auch intrazellulär in Thrombozyten und Granulozyten nachweisbar (HARTMANN, 2012).

3. Subtypen

FeLV existiert in verschiedenen Subtypen. Die wichtigsten sind FeLV-A, FeLV-B und FeLV-C (JARRETT et al., 1973; SARMA & LOG, 1973). Aufgrund von Veränderungen in der *env*-Sequenz entstehen strukturelle Unterschiede des gp70. Das führt zu einer unterschiedlichen Oberflächenbeschaffenheit und somit zur Antigenität der einzelnen Subtypen (ESSEX et al., 1975; SARMA et al., 1975). Für die Klassifizierung in Subtypen spielen vor allem die Fähigkeit, *in vitro* Zellen Nicht-Katzenartiger zu infizieren, sowie Ergebnisse von Interferenz- und Virusneutralisationstests eine Rolle (SARMA & LOG, 1973). Mittels Interferenztests kann die Möglichkeit einer Superinfektion befallener Zellen *in vitro* untersucht werden. Da die einzelnen Subtypen unterschiedliche Rezeptoren nutzen, ist eine Superinfektion mit dem homologen Subtyp nicht möglich, wohl aber mit einem anderen.

FeLV-A ist das ursprüngliche Virus, das von Katze zu Katze übertragen wird. Daher sind alle infizierten Katzen mit FeLV-A infiziert. In der FeLV-A-infizierten Katze können dann durch Mutation und Rekombination andere Subtypen, wie FeLV-B und FeLV-C, entstehen. Sie sind pathogener als FeLV-A, können sich

aber alleine nicht vermehren. Eine reine FeLV-A-Infektion wird bei ca. 65 % der infizierten Katzen gefunden. Diese nur mit FeLV-A infizierten Katzen sind häufig klinisch gesund. FeLV-C ist der am stärksten pathogene Subtyp; alle FeLV-C-infizierten Katzen sind symptomatisch (JARRETT et al., 1978; ROJKO et al., 1988; RIGBY et al., 1992).

3.1. FeLV-A

FeLV-A ist die einzige infektiöse Form des FeLV. Es ist direkt von Katze zu Katze übertragbar und bei allen Katzen, die einer natürlichen Infektion ausgesetzt waren, nachweisbar (HARDY et al., 1976; JARRETT et al., 1978). Nur in experimentellen Studien gelang es vereinzelt, Infektionen ohne Beteiligung von FeLV-A auszulösen (SARMA et al., 1978; BECHTEL et al., 1999). Im Feld befällt FeLV-A in der Regel nur Zellen von Katzen, jedoch konnte *in vitro* auch eine Vermehrung in Zelllinien Nicht-Katzenartiger nachgewiesen werden (Tabelle 1) (NAKATA et al., 2003).

FeLV-A ist von allen FeLV-Subtypen der am wenigsten pathogene (DONAHUE et al., 1988). So treten klinische Symptome einer reinen FeLV-A-Infektion bei vielen Katzen meist erst Monate bis Jahre nach Infektion auf (OVERBAUGH et al., 1988b; RIGBY et al., 1992). In Kombination mit FeLV-B oder FeLV-C erkranken die Katzen schneller (ROJKO et al., 1988).

Tabelle 1: *In-vitro* -Vermehrung von FeLV-Subtypen

Subtyp	Zelllinien mit möglicher <i>in-vitro</i> -Vermehrung
FeLV-A	Katze, Kaninchen, Mensch, Nerz, Schwein
FeLV-B	Katze, Hamster, Hund, Kuh, Mensch, Schwein
FeLV-C	Katze, Hund, Meerschweinchen, Mensch

3.2. FeLV-B

FeLV-B entsteht unter natürlichen Bedingungen durch Rekombination von FeLV-A mit Genomsequenzen endogener Retroviren (enFeLV) (SARMA & LOG, 1973;

RUSSELL & JARRETT, 1976; ELDER & MULLINS, 1983; STEWART et al., 1986; OVERBAUGH et al., 1988a; KUMAR et al., 1989; TZAVARAS et al., 1990; NEIL et al., 1991; LEVY, 2008). EnFeLV sind Gensequenzen, die bei früheren Infektionen mit Nager-Retroviren ins Genom der Katze integriert wurden (BENVENISTE et al., 1975; TANDON et al., 2008). Endogene Retroviren sind replikationsdefekt und können als Hilfsmittel bei der Entstehung von FeLV-B fungieren, ohne selbst für die Katze infektiös zu sein (OVERBAUGH et al., 1988a; TANDON et al., 2007). Da bei Katzenartigen in Afrika, Amerika und Australien kein enFeLV nachweisbar ist, ist anzunehmen, dass die Infektion mit den Nager-Viren vor der Trennung der Kontinente und damit der dort lebenden Katzen stattgefunden haben muss (BENVENISTE & TODARO, 1974). Die Rekombination zwischen FeLV-A und enFeLV führt zu einem erweiterten Wirtsspektrum sowie einer höheren Pathogenität (STEWART et al., 1986; ROY-BURMAN, 1995).

FeLV-B ist replikationsdefekt (TZAVARAS et al., 1990). Nur experimentell konnte in spezifisch-pathogen-freien (SPF) Kätzchen eine FeLV-B-Infektion ohne Beteiligung von FeLV-A hervorgerufen werden (JARRETT & RUSSELL, 1978; BECHTEL et al., 1999). FeLV-B ist zu 80 % homolog mit FeLV-A; nur das gp70 unterscheidet sich von dem des FeLV-A in fünf Regionen (LUCIW et al., 1986). FeLV-B ist jedoch pathogener als FeLV-A. So können *in vitro* auch Zellen von Menschen, Hunden, Kühen, Schweinen und Hamstern mit FeLV-B infiziert werden. FeLV-B ist bei ca. 30 - 60 % der FeLV-infizierten Katzen nachweisbar (PHIPPS et al., 2000). Es besitzt ein sehr großes onkogenes Potential. So sind 50 % aller Katzen mit lymphatischen Neoplasien FeLV-B-infiziert (NAKATA et al., 2003). Auch bei der Entstehung einiger myeloproliferativer Neoplasien ist FeLV-B beteiligt. Bei einer Katze mit Erythroleukämie konnte aus Milz und Knochenmark FeLV-AB/GM1 isoliert werden, mit dem nach experimenteller Infektion von Welpen wieder Neoplasien ausgelöst werden konnten (TOTH et al., 1986; TESTA et al., 1988). Bei FeLV-AB/GM1 handelt es sich um zwei FeLV-Varianten. Die eine ist eine replikationskompetente, geringgradig pathogene Variante der Subgruppe A. Die andere ist eine replikationsdefekte Variante mit einem intakten *env*-Gen der Subgruppe B. Bei dieser Variante konnten ausgeprägte Deletionen und Mutationen in den *gag*- und *pol*-Genen nachgewiesen werden. FeLV-B/GM1 scheint eine indirekte, aber sehr wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren zu spielen (TZAVARAS et al., 1990).

Als Rezeptoren für FeLV-B auf der Wirtszelloberfläche dienen die Phosphattransportmoleküle Pit1 und Pit2 (ANDERSON et al., 2001). Diese werden auch von MuLV und Gibbonaffen-Leukämieviren (GALV) als Rezeptoren verwendet (TAKEUCHI et al., 1992; MILLER et al., 1993; BOOMER et al., 1997).

3.3. FeLV-C

Das Genom der beiden Subtypen FeLV-A und FeLV-C unterscheidet sich nur in 3 % der Gensequenzen (LUCIW et al., 1986). FeLV-C entsteht durch eine Mutation in der *env*-Region von FeLV-A. Diese Mutation führt jedoch dazu, dass FeLV-C replikationsdefekt ist (JARRETT et al., 1984; RIGBY et al., 1992). Deswegen ist es unter natürlichen Umständen nicht infektiös und benötigt zum Befall der Wirtszelle die Hilfe von FeLV-A. FeLV-C kann sich *in vitro* auch in Zellen anderer Spezies, wie z. B. Hunden, Meerschweinchen oder auch Menschen, vermehren (RIGBY et al., 1992). Experimentell gelingt eine Infektion mit dem Prototyp FeLV-C/Sarma bei neugeborenen Kätzchen (JARRETT et al., 1984; DORNSIFE et al., 1989). Bei älteren Katzen ist eine Infektion nur bei direkter Inokulation ins Knochenmark möglich (DORNSIFE et al., 1989).

Der Subtyp FeLV-C ist nur bei ca. 1 % aller infizierten Katzen zu finden (ROJKO & HARDY, 1994). Diese Katzen sind jedoch alle klinisch erkrankt (JARRETT et al., 1978). In der Regel sterben FeLV-C-infizierte Tiere an einer progressiv verlaufenden aplastischen Anämie, der Pure Red Cell Aplasia (PRCA) (MACKEY et al., 1975; ONIONS et al., 1982; RIEDEL et al., 1986; DORNSIFE et al., 1989; RIGBY et al., 1992). Die PRCA zeichnet sich durch eine hochgradige nichtregenerative Anämie, eine Retikulozytopenie bei gleichzeitiger Makrozytose und das Fehlen hämoglobinhaltiger Zellen aus. Durch Bindung von FeLV-C an erythroide burst-forming units (BFU-E) wird durch Störung des Signalweges deren Reifung zu erythroiden colony-forming-units (CFU-E) verhindert (SHELTON & LINENBERGER, 1995; YOUNG et al., 2000). Die Erythropoese stagniert bei der PRCA also im Stadium der Vorläuferzellen (LEVY, 2000). Der hierfür entscheidende Rezeptor nennt sich FeLV-C surface receptor (FeLVCR).

3.4. Weitere Subtypen

Neben oben genannten Subtypen gibt es noch weitere, deren Bedeutung aufgrund ihres selteneren Vorkommens geringer ist. Sie können zu fatalen, meist neoplastischen Erkrankungen der infizierten Katzen führen. Zu diesen Subtypen zählen unter anderem FeSV und FeLV-*myc*, sowie der Subtyp FeLV-T, der unter experimentellen Bedingungen Immunsuppression auslösen kann. Die Rolle dieses Subtyps unter natürlichen Bedingungen ist noch nicht geklärt (JARRETT, 1980).

3.4.1. Felines Sarkomvirus

Das feline Sarkomvirus (FeSV) wurde erstmals 1969 beschrieben. Das Virus wurde aus einem multizentrischen, subkutanen Fibrosarkom einer jungen Katze isoliert (SNYDER & THEILEN, 1969). FeSV entsteht *de novo* in einer FeLV-A-infizierten Katze durch die Integration eines zellulären Proto-Onkogens (*c-onc*) in das Genom des FeLV-A. Das Genom verliert dadurch jedoch wichtige Abschnitte seiner *gag*-, *env*- und *pol*-Regionen (BESMER, 1983). Unter anderem besitzt FeSV keine Codierung mehr für die RT, weswegen FeSV zur Replikation FeLV-A als Helfervirus benötigt (LEWIN, 1988; ROJKO et al., 1988). *In vitro* kann FeSV auch Zellen anderer Spezies, sogar humane Zellen, infizieren (HARDY, 1981b). FeSV besitzt durch den Genomabschnitt *v-onc* onkogenes Potential.

Abhängig von der im Genom enthaltenen *onc*-Sequenz kann man einige FeSV-Isolate unterscheiden, von denen elf näher beschrieben sind. Diese enthalten sieben unterschiedliche Onkogene (*fes*, *abl*, *fgr*, *kit*, *fms*, *sis* und *ras*) (ROJKO & HARDY, 1994). Da für die Entstehung von FeSV eine FeLV-A-Infektion vorausgesetzt ist, können FeSV-induzierte Fibrosarkome nur bei FeLV-A-infizierten Katzen auftreten. Die Tiere sind in der Regel sehr jung. Unter dem Einfluss von FeLV-Antikörpern können sich die Fibrosarkome wieder zurückbilden (COTTER, 1998). Die durch FeSV hervorgerufenen Fibrosarkome sind nicht identisch mit impfinduzierten Fibrosarkomen, den sogenannten feline injection site sarcomas (FISS) (ELLIS et al., 1996).

3.4.2. FeLV-*myc*

FeLV-*myc* entsteht durch Einlagerung des unveränderten feline *c-myc*-Gens in das FeLV-A-Provirus. Dieser Vorgang wird als Transduktion bezeichnet (LEVY et al., 1984; NEIL et al., 1984; MIURA et al., 1987; TSATSANIS et al., 1994). Auch FeLV-*myc* entsteht in jeder Katze neu. Es besitzt onkogenes Potential und spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung lymphoproliferativer Neoplasien, vor allem T-Zell-Lymphomen (LEVY et al., 1984; MULLINS et al., 1984; NEIL et al., 1984). So wurde in einer Studie bei 32 % der Katzen mit T-Zell-Lymphomen FeLV-*myc* nachgewiesen (TSATSANIS et al., 1994).

4. Prävalenz

Die Prävalenz von FeLV-Infektionen ist im Gegensatz zur Infektion mit dem feline Immunschwächevirus (FIV) weltweit ähnlich (Tabelle 2). Sie liegt heute bei gesunden Katzen zwischen 1,0 % und 8,0 % (BANDECCHI et al., 2006; LEVY et al., 2006; SOLANO-GALLEGO et al., 2006; GLEICH & HARTMANN, 2009; LITTLE et al., 2009). Lange Zeit basierten Studien über FeLV-Prävalenzen lediglich auf Antigen-Nachweisen. Mit dieser Methode können jedoch nur progressiv infizierte Katzen identifiziert werden. Solche mit einer regressiven Infektion bleiben unerkant. Neuere Studien weisen neben Antigenen auch provirale DNA mittels PCR nach. Somit können auch Antigen-negative, FeLV-infizierte Tiere erkannt werden (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001).

Weltweit sank die Prävalenz FeLV-Antigen-positiver Katzen in den letzten Jahren deutlich. Während in Studien am Labor für veterinärmedizinische Diagnostik von Tufts, USA, im Jahr 1989 noch bei 8,0 % der getesteten Katzen Antigen nachgewiesen werden konnte, waren 1995 nur noch 4,0 % der getesteten Tiere Antigen-positiv (COTTER, 1998). In einer 2009 veröffentlichten Studie von Gleich et al. sank die Prävalenz in Deutschland innerhalb der neunjährigen Studienzeit zwischen 1993 und 2002 von 6,0 % auf 1,0 % (GLEICH et al., 2009). Auch in anderen Studien wurde eine Abnahme der Infektionsrate bemerkt. So wurde in Bayern ein deutliches Absinken der FeLV-Infektionen von 5,6 % im Jahr 1992 (HARTMANN K, 1992) auf 2,6 % aller Katzen im Jahr 1996

verzeichnet (HARTMANN et al., 1998).

In den Niederlanden betrug die FeLV-Prävalenz 1974 noch 9,0 %. Sie sank bereits 1985 auf ca. 3,0 %. In Katzensuchten konnte die Infektionsrate von 11,5 % im Jahr 1974 auf 2,1 % im Jahr 1978 reduziert werden (WEIJER et al., 1989).

Der deutliche Abfall der Prävalenz lässt sich auf verschiedene Faktoren zurückführen. Die größte Bedeutung kommt dabei weltweit durchgeführten Testprogrammen zu (ROMATOWSKI & LUBKIN, 1997). Wird ein Tier positiv auf FeLV-Antigen getestet, wird es häufig nachfolgend von anderen Katzen isoliert (z. B. nur noch im Haus gehalten) und dient somit nicht mehr als Ansteckungsquelle. So kann die Durchseuchung von Katzenpopulationen verhindert werden. Desweiteren spielt die Impfung gegen FeLV eine Rolle. Jedoch begann der Abfall der FeLV-Prävalenz schon vor Etablierung des ersten Impfstoffes im Jahr 1985. Daher sind Testung und Elimination von infizierten Katzen die bedeutendere Maßnahme zur Bekämpfung von FeLV-Infektionen (LEVY, 2000).

FeLV wird vor allem über den Speichel ausgeschieden. Früher wurde postuliert, dass vor allem Katzen mit ausgeprägtem Sozialverhalten Gefahr laufen, sich mit FeLV zu infizieren. Aufgrund des Infektionsweges über den Speichel dienen Futter- und Wasserschüsseln oder auch gegenseitiges Putzen als Übertragungsweg. Heute geht man davon aus, dass sich die Risikogruppen für Infektionen mit FeLV und FIV weitgehend decken. So spielt neben sozialem Verhalten auch die Übertragung über Kämpfe und Bisse eine Rolle. So wurde gezeigt, dass ein hoher Prozentsatz der Katzen, die Tierärzten wegen Kampfverletzungen vorgestellt wurden, FeLV-positiv waren (GOLDKAMP et al., 2008). Dadurch sind vor allem unkastrierte, freilaufende Kater prädisponiert (YILMAZ et al., 2000; LEVY et al., 2006; GLEICH & HARTMANN, 2009).

Die Empfänglichkeit für eine FeLV-Infektion ist altersabhängig. Da mit zunehmendem Alter die Anzahl der Rezeptoren der Wirtszellen für FeLV abnehmen, galten bisher junge Katzen im Vergleich zu älteren als gefährdeter (HOOVER et al., 1976). Jedoch wurde kürzlich in einer Studie ermittelt, dass ausgewachsene Katzen zu einem höheren Prozentsatz infiziert waren als junge (LEVY et al., 2006). Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass Katzen mit einer FeLV-Infektion oft viele Jahre überleben können und damit ein hohes Alter erreichen (GLEICH et al., 2009; HARTMANN, 2012).

Tabelle 2: FeLV-Prävalenzen in verschiedenen Ländern zwischen 1987 und 2012 basierend auf Antigennachweisen

Jahr	Land	Population	Prozent (%)	Referenz
1987	Deutschland	Sektionskatzen	16,2	Reinacher & Theilen
1990	Schweiz	gesund	3,0	Lutz et al.
1990	Schweiz	krank	13,0	Lutz et al.
1992	USA	gesund	1,3	O'Connor et al.
1992	Finnland	freilaufend	1,0	Sukura et al.
1992	Italien	krank	18,0	Bandecchi et al.
1992	Norwegen	gesund	1,2	Ueland et al.
1992	Norwegen	krank	2,2	Ueland et al.
1994	Deutschland	krank und gesund	15,5	Fuchs et al.
1994	Italien	gesund	6,1	Pennisi et al.
1994	Italien	krank	21,0	Pennisi et al.
1995	Taiwan	krank und gesund	1,3	Lin et al.
1996	Deutschland	krank und gesund	2,6	Ferk et al.
1997	Australien	gesund	7,5	Malik et al.
1997	Australien	krank	1,4	Malik et al.
1999	Tschechien	streunend	14,0	Knotek et al.
2000	Spanien	gesund	16,7	Arjona et al.
2000	Spanien	krank	33,0	Arjona et al.
2000	Türkei	gesund	2,7	Yilmaz et al.
2000	Türkei	krank	7,6	Yilmaz et al.
2001	Schweiz	gesund	7,1	Hofmann-Lehmann et al.
2002	Belgien	streunend	3,8	Dorny et al.
2002	England	streunend	3,5	Muirden
2002	Italien	gesund	10,6	Magi et al.
2002	USA	streunend	4,3	Lee et al.
2003	Japan	gesund	2,9	Maruyama et al.
2005	USA	gesund	2,6	Levy et al.
2006	Italien	gesund	8,4	Bandecchi et al.
2006	USA/Kanada	krank und gesund	2,3	Levy et al.
2006	Schweiz	krank und gesund	5,4	Gomes-Keller et al.
2007	USA/Kanada	krank und gesund	2,6	Levy et al.
2008	Brasilien	krank	47,0	Macieira et al.
2009	Deutschland	krank und gesund	3,6	Gleich et al.
2009	Kanada	krank und gesund	3,9	Little et al.
2009	Costa Rica	krank und gesund	16,7	Blanco et al.
2012	Deutschland	krank und gesund	1,8	Englert et al.

5. Verlaufsformen der Infektion

Der Verlauf einer FeLV-Infektion ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Eine Rolle spielen sowohl Alter und Immunstatus des Wirtes, als auch Infektionsdosis und Subtyp des Virus (HOOVER & MULLINS, 1991). Studien vor Etablierung der real-time Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Nachweis von viraler RNA

und proviraler DNA bezogen sich vor allem auf Antigennachweise oder Virusisolationen. Auf diesen Informationen basierten die bisher gültigen Verlaufsformen der FeLV-Infektionen. Vor einigen Jahren wurde von Hofmann-Lehmann et al. ein neues Klassifikationsschema vorgeschlagen. Dieses beruhte auf neuen Erkenntnissen, die durch sensitivere Untersuchungsmethoden, wie z. B. der real-time PCR, gewonnen wurden (HOFMANN-LEHMANN et al., 2007).

5.1. Alte Klassifizierung

Nach der alten Einteilung der Verlaufsformen kommt es nach der Infektion einer Katze entweder zu einer ausreichend starken Immunantwort mit Elimination des Virus oder aber zu einer persistierenden Virämie. Diese resultiert wiederum entweder in einer latenten Infektion oder aber einer klinisch manifesten Erkrankung (GRANT et al., 1980; LAFRADO et al., 1989; HOOVER & MULLINS, 1991). Die Infektion mit FeLV erfolgt meist oronasal über Kontakt mit kontaminiertem Speichel (HOOVER et al., 1972; HOFMANN-LEHMANN et al., 2006; CATTORI et al., 2009; HARTMANN, 2012). Ebenso können Kampfverletzungen, wie Kratzer oder Bisse, zu einer Infektion führen (FRANCIS et al., 1977; GOMES-KELLER et al., 2006a; LUTZ et al., 2009). FeLV-infizierte Kätzinnen können das Virus sowohl transplazentar als auch über die Milch auf ihre Welpen übertragen (HARDY et al., 1976; PEDERSEN et al., 1984; PACITTI et al., 1986; HARTMANN, 2012). In letzter Zeit werden verschiedene weitere Infektionswege diskutiert, wie zum Beispiel die Infektion über Kot oder Urin (CATTORI et al., 2009; GOMES-KELLER et al., 2009).

5.1.1. Regressorkatzen

Regressorkatzen sind Katzen, denen es nach der Infektion möglich ist, das Virus vollständig ohne Ausbildung einer Virämie zu eliminieren (WELLMAN et al., 1988; TORRES et al., 2005). Diese Katzen bilden virusneutralisierende Antikörper und eine sehr gute Immunität gegen eine neue FeLV-Infektion aus (HARDY et al., 1976; ROJKO et al., 1979; CHARREYRE & PEDERSEN, 1991; HOOVER & MULLINS, 1991; LANGHAMMER et al., 2006). Da es nicht zur

Virämie kommt, sind alle der früher verfügbaren Virusnachweisverfahren (Antigennachweis, Virusisolation) bei diesen Katzen negativ (MADEWELL & JARRETT, 1983).

5.1.2. Transiente Virämie

Bei Katzen, die das Virus nicht eliminieren können, vermehrt es sich in den Mandeln und örtlichen Lymphgeweben. Bereits nach wenigen Tagen gelangt es über Lympho- und Monozyten in die Blutbahn und breitet sich systemisch aus (ROJKO et al., 1979). Bei diesen Katzen ist daher eine Virämie nachweisbar und sie reagieren positiv im Antigennachweis. Dennoch schafft es die Mehrzahl der Katzen auch hier noch, das Virus mittels einer effektiven Immunantwort aus der Blutbahn zu eliminieren (PEDERSEN et al., 1977; LUTZ et al., 1983a; FLYNN et al., 2000; FLYNN et al., 2002; HOFMANN-LEHMANN et al., 2006). Nach einer bis zu maximal sechzehn Wochen anhaltenden Virämie werden virusneutralisierende Antikörper gebildet, die in der Regel zu einer lebenslang andauernden Immunität führen. Spätere Untersuchungen auf FeLV-Antigen fallen nach überwundener Virämie wieder negativ aus (LUTZ et al., 1983a).

5.1.2.1. Viruselimination

Ist die Immunantwort des Körpers stark genug, so erfolgt sie innerhalb von drei Wochen nach der Infektion, bevor provirale DNA in die Zellen des Knochenmarks integriert wurde. Nur so kann die Infektion vollständig aus dem Körper eliminiert werden (GRANT et al., 1980; LUTZ et al., 1983a; CHARREYRE & PEDERSEN, 1991).

5.1.2.2. Latente Infektion

Eine latente Infektion entsteht bei Katzen, bei denen die Virämie länger als drei Wochen andauert. Etwa 30 - 60 % der Katzen, die eine Virämie überwinden können, bleiben latent infiziert. Provirale DNA wurde bei diesen Katzen schon in Knochenmarks-Vorläuferzellen eingebaut. Sie wird dadurch bei der Teilung

hämatopoetischer Stammzellen an die Tochterzellen weitergegeben (ROJKO et al., 1982; PEDERSEN et al., 1984; CATTORI et al., 2006; GOMES-KELLER et al., 2006a). Bei latent infizierten Katzen kommt es zu einer Elimination des Virus aus dem Blut; im Knochenmark und in anderen Geweben befindet sich jedoch weiterhin provirale DNA (POST & WARREN, 1980; MADEWELL & JARRETT, 1983; PACITTI & JARRETT, 1985). Latent infizierte Katzen sind in der Regel symptomlos, da sich kein Virus aktiv vermehrt. Daher sind diese Katzen im Antigentest negativ. Jedoch kann das FeLV reaktiviert werden, sei es durch Kortikosteroide oder Immunsuppression anderer Art, z. B. Stress und andere Erkrankungen (POST & WARREN, 1980; ROJKO et al., 1982; MADEWELL & JARRETT, 1983; KRAUT et al., 1985). Dies geschieht meist in den ersten Wochen nach der virämischen Phase. Je länger die Virämie jedoch zurückliegt, umso unwahrscheinlicher ist eine Reaktivierung (PEDERSEN et al., 1984; PACITTI & JARRETT, 1985). Dies hängt mit Transkriptionsfehlern zusammen, die dazu führen, dass die genetische Information des Virus unvollständig wird. So kann drei Jahre nach einer Virämie bei nur noch 8 % Prozent der Katzen funktionsfähiges Provirus nachgewiesen werden (PACITTI & JARRETT, 1985). Dennoch gab es einzelne Katzen, bei denen nach acht Jahren eine Reaktivierung erfolgte. Diese Katzen waren dann wieder FeLV-Antigen-positiv (BORETTI et al., 2001).

Auch latent infizierte Katzen können Krankheitssymptome entwickeln. Diese sind im Gegensatz zur aktiven Infektion nicht durch Vermehrung des Virus bedingt, sondern entstehen durch den Einbau von proviraler DNA in Zellen des Knochenmarks. Latente Infektionen werden für Knochenmarkssuppression und die Entstehung von Tumoren verantwortlich gemacht. In einer kürzlich veröffentlichten Studie waren 5 % der Katzen mit aregenerativen Zytopenien latent FeLV-infiziert (STUTZER et al., 2009). Frühere Studien maßen der latenten FeLV-Infektion in diesem Zusammenhang noch größere Bedeutung bei. (SHELTON & LINENBERGER, 1995). Desweiteren zählt die Bildung von Lymphomen zu den Risiken latent infizierter Katzen. Dies wurde in verschiedenen Studien jedoch mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet (HARDY & MACEWEN, 1989; JACKSON et al., 1993; GABOR et al., 2001; STUTZER et al., 2011).

5.1.3. Persistierende Virämie

Circa ein Drittel der FeLV-infizierten Katzen schafft es nicht, eine ausreichend starke Immunantwort auszubilden und so die Virämie zu beenden. Es kommt zu einer persistierenden Virämie (LAFRADO et al., 1989; HOOVER & MULLINS, 1991; FLYNN et al., 2000; FLYNN et al., 2002). Diese Tiere sterben in der Regel innerhalb weniger Jahre an sogenannten FeLV-assoziierten Erkrankungen (MCCLELLAND et al., 1980; OGILVIE et al., 1988; REINACHER, 1989; LAPPIN, 1995; HOFMANN-LEHMANN et al., 1997). Abhängig davon mit welchem Subtyp eine Katze infiziert ist (FeLV-A alleine, oder zusätzlich FeLV-B oder FeLV-C), beobachtet man einen mehr oder weniger aggressiven Krankheitsverlauf. Je nach Infektionsdruck haben Katzen ein unterschiedlich hohes Risiko einer persistierenden Infektion. So entwickeln nur ca. 3 % der einzeln gehaltenen Katzen nach Erstkontakt mit FeLV eine persistierende FeLV-Infektion; bei Katzen die mit einer FeLV-infizierten Katze zusammenwohnen, liegt das Risiko jedoch bei ca. 30 - 40 % (BACHMAN et al., 1982; LUTZ et al., 2009).

5.1.4. Atypische Infektion

Vereinzelt werden Katzen beobachtet, bei denen der Antigennachweis schwach positiv oder alternierend positiv und negativ ausfällt. Bei diesen Tieren kann eine lokalisierte Infektion in verschiedenen Geweben vorhanden sein (PACITTI et al., 1986; HAYES et al., 1989). Organe mit nachgewiesener FeLV-Replikation sind unter anderem Auge, Harnblase und Milchdrüse (PACITTI et al., 1986; HOOVER & MULLINS, 1991; HAYES et al., 1992; MAJOR et al., 2009). Diese Verlaufsform nennt man auch sequestrierte Infektion (MAJOR et al., 2009).

5.2. Neue Klassifizierung

Vor einigen Jahren wurde in der Schweiz eine neue, besonders sensitive PCR entwickelt. Diese PCR kann zum Nachweis des freien Virus (RNA-PCR) oder des integrierten Provirus (DNA-PCR) verwendet werden (HOFMANN-LEHMANN

et al., 2001). Mit Hilfe dieser PCR konnte man zeigen, dass die meisten Katzen, die irgendwann einmal mit dem Virus in Kontakt kommen, infiziert bleiben, obwohl sie das Virus aus dem Blut eliminieren können. Diese Tiere beherbergen provirale DNA in verschiedenen Geweben.

Mit Hilfe dieser neuen PCR-Methoden können deutlich mehr Katzen erfasst werden als mit Antigen-Nachweismethoden (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001; TORRES et al., 2005; PEPIN et al., 2007). Auf diesen Untersuchungen beruht das neue Klassifikationsschema der Verlaufsformen (Tabelle 3). Die Höhe der Proviruslast gibt darüberhinaus Hinweise über die Verlaufsform der Infektion (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). So wurden bei Katzen mit einer progressiven Infektion sehr hohe Proviruslasten ermittelt, während Tiere mit einer regressiven oder abortiven Infektion nur sehr niedrige Proviruslasten haben (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001; TANDON et al., 2005; CATTORI et al., 2008; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008; TANDON et al., 2008).

Tabelle 3: Verlaufsformen der FeLV-Infektion nach neuer Klassifizierung (modifiziert nach Hofmann-Lehmann et al., 2007) mit zu erwartenden Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen (ELISA: enzymgebundenes Immunsorptionsverfahren, DNA: Desoxyribonucleinsäure, RNA: Ribonucleinsäure, PCR: Polymerasekettenreaktion, RT-PCR: Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion)

Verlaufsform	Antigenämie	Provirus-Load	Virus-Load (RNA)	RNA-Ausscheidung im Speichel	Virus im Blut	Antikörper
Untersuchungsmethode	ELISA	DNA-PCR	RT-PCR	RT-PCR	Virusisolation	ELISA
abortiv	nicht nachweisbar	negativ	negativ	negativ	negativ	hohe Konzentration
regressiv ohne Antigenämie	nicht nachweisbar	niedrig bis mittelhoch (persistierend)	niedrig bis mittelhoch (transient/persistierend)	negativ/positiv (transient)	negativ	hohe Konzentration
regressiv mit Antigenämie	transient	niedrig bis mittelhoch (persistierend)	niedrig bis mittelhoch (transient/persistierend)	negativ/positiv (transient)	negativ/positiv (transient)	hohe Konzentration
progressiv	persistierend	hoch (persistierend)	hoch (persistierend)	positiv (persistierend)	positiv (persistierend)	nicht nachweisbar/ niedrige Konzentration
atypisch	wechselweise negativ/positiv	negativ	negativ	negativ		nicht nachweisbar/ nachweisbar

5.2.1. Abortive Infektion

Diese Verlaufsform der Infektion ist gleichzusetzen mit der der Regressorkatzen des alten Klassifizierungsschemas. Sie bleibt meistens unentdeckt. Tiere, die eine abortive FeLV-Infektion durchlaufen, können nach Genesung von gesunden, d. h. nie infizierten Katzen nur mittels Antikörpernachweis unterschieden werden. Diese Form der Infektion zeichnet sich durch eine kompetente zelluläre und humorale Immunantwort aus. Hierdurch wird eine Virusvermehrung verhindert. Die betroffenen Katzen sind zu keinem Zeitpunkt virämisch (TORRES et al., 2008). Nach einer abortiven Infektion haben die Katzen hohe Konzentrationen neutralisierender Antikörper, die sie in der Regel lebenslang behalten (HARTMANN, 2012).

Wahrscheinlich entsteht die abortive Form nach Infektion mit einer nur geringen Menge an Virus, die als einziges erkennbares Infektionszeichen eine Antikörperbildung nach sich zieht, ohne dass jemals Antigen, DNA oder ganzes Virus im Blut nachgewiesen werden kann (MAJOR et al., 2009). Ob diese Katzen nun tatsächlich nicht mehr infiziert sind oder ob das Virus noch in kleinen Mengen irgendwo im Körper vorhanden ist, ist nicht bekannt. Diese Katzen können ihre Infektion jedoch nie reaktivieren. Sie sind lebenslang vor einer Neuinfektion geschützt. Verschiedenen Studien zufolge konnte diese Verlaufsform nach oronasaler, nicht aber nach intraperitonealer experimenteller Infektion beobachtet werden (TORRES et al., 2005; TORRES, 2006; TORRES et al., 2008; MAJOR et al., 2009). Auch durch Kot übertragenes Virusmaterial kann eine abortive Verlaufsform hervorrufen, die eine alleinige Antikörperbildung zur Folge hat (GOMES-KELLER et al., 2009).

5.2.2. Regressive Infektion

Eine regressive Infektion kann mit der früheren latenten Verlaufsform gleichgesetzt werden. Sie ist definiert als Vorhandensein von Provirus im Knochenmark bei nicht nachweisbarer Antigenämie (TORRES et al., 2005; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). Man geht davon aus, dass abhängig vom

Infektionsdruck bis zu 60 % aller infizierten Katzen eine regressive Infektion durchlaufen (TORRES et al., 2005).

In der Anfangsphase der Infektion reagiert ein Teil der Tiere, die eine regressive Infektion entwickeln, im Antigennachweis positiv. Nach ca. drei bis sechs (in Einzelfällen bis zu sechzehn) Wochen kann jedoch kein Antigen mehr im Blut nachgewiesen werden (LUTZ et al., 1983a; FLYNN et al., 2002). Bei der latenten Infektion ist Provirus in die hämatopoetischen Stammzellen eingebaut.

Ein Teil der Tiere scheidet im Anfangsstadium der regressiven Infektion das Virus mit dem Speichel aus. Diese Katzen dienen als Ansteckungsquelle für andere Tiere (GOMES-KELLER et al., 2006a). Nach Beendigung der Virämie werden keine infektiösen Partikel mehr produziert, und die Katzen sind nicht mehr ansteckend für andere Tiere (FLYNN et al., 2000; FLYNN et al., 2002).

Bei regressiv infizierten Katzen können virusneutralisierende Antikörper nachgewiesen werden (HOOVER & MULLINS, 1991; TORRES et al., 2005). Diese Antikörpertiter bestehen lebenslänglich (HARTMANN, 2012).

5.2.2.1. Ohne Antigenämie

Bei einer regressiven Infektion ohne nachweisbare Antigenämie erfolgt die Immunantwort der Katze so prompt, dass zu keiner Zeit im Antigen-ELISA ein positives Ergebnis erzielt wird. Im Blut dieser Katzen findet man, verglichen mit persistierend infizierten Katzen, viel geringere Mengen an Provirus (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001; CATTORI et al., 2006; HOFMANN-LEHMANN et al., 2007; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008).

5.2.2.2. Mit Antigenämie

Bei manchen regressiv infizierten Katzen kann vorübergehend für eine Zeit von bis zu sechzehn Wochen Antigen im Blut nachgewiesen werden. Nachfolgende Antigentests fallen negativ aus. Doch auch in diesem Fall ist der Provirus-Load niedriger als bei einer persistierenden Infektion. Daher kann durch den Provirus-Load die sich wahrscheinlich entwickelnde Verlaufsform der Infektion

vorhergesehen werden (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001; TORRES et al., 2005; CATTORI et al., 2008; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008).

5.2.3. Progressive Infektion

Die progressive Infektion ist mit der früheren persistierenden Infektion gleichzusetzen. Auch nach neuer Klassifizierung zählen zu dieser Gruppe diejenigen Katzen, denen es nicht möglich ist, mittels einer ausreichenden Immunantwort eine FeLV-Infektion zu überwinden oder zu kontrollieren (TORRES et al., 2005; HOFMANN-LEHMANN et al., 2007). Virus vermehrt sich im Lymphgewebe sowie im Knochenmark (ROJKO et al., 1979). Ob eine Infektion einen progressiven Verlauf nimmt, hängt meist vom Immunstatus und dem Alter der Katze sowie vom Infektionsdruck ab. Progressiv infizierte Tiere sind lebenslang Antigen-positiv und haben keine oder nur wenige virusneutralisierende Antikörper (HOOVER & MULLINS, 1991) Sie haben einen konstantbleibend hohen Provirus-Load (FLYNN et al., 2000; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). Sie scheiden das Virus aus und dienen somit als Ansteckungsquelle für andere Katzen (GOMES-KELLER et al., 2006b). Die Tiere sterben innerhalb von ca. drei Jahren an FeLV-assoziierten Erkrankungen (HARTMANN, 2012).

5.2.4. Atypische Infektion

Bezüglich der atypischen Infektionen hat sich nach neuer Klassifikation nichts geändert. Die Einteilung dieser Verlaufsform entspricht noch der alten Klassifikation (HOFMANN-LEHMANN et al., 2006).

III. PUBLIKATION

SURVEY OF FELINE LEUKEMIA VIRUS INFECTION STATUS OF CATS IN SOUTHERN GERMANY

1

Theresa Englert¹

Hans Lutz, Prof. Dr., med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA²

Carola Sauter-Louis, Dr. med. vet.¹

Katrin Hartmann, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA¹

¹ Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany

² Clinical Laboratory, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Switzerland

veröffentlicht im Journal of Feline Medicine and Surgery

J Feline Med Surg Juni 2012; 14: 392-398

Journal of Feline Medicine and Surgery

<http://jfm.sagepub.com/>

Survey of the feline leukemia virus infection status of cats in Southern Germany

Theresa Englert, Hans Lutz, Carola Sauter-Louis and Katrin Hartmann

Journal of Feline Medicine and Surgery 2012 14: 392 originally published online 8 March 2012

DOI: 10.1177/1098612X12440531

The online version of this article can be found at:
<http://jfm.sagepub.com/content/14/6/392>

Disclaimer

The Journal of Feline Medicine and Surgery is an international journal and authors may discuss products and formulations that are not available or licensed in the individual reader's own country. Furthermore, drugs may be mentioned that are licensed for human use, and not for veterinary use. Readers need to bear this in mind and be aware of the prescribing laws pertaining to their own country. Likewise, in relation to advertising material, it is the responsibility of the reader to check that the product is authorised for use in their own country. The authors, editors, owners and publishers do not accept any responsibility for any loss or damage arising from actions or decisions based on information contained in this publication; ultimate responsibility for the treatment of animals and interpretation of published materials lies with the veterinary practitioner. The opinions expressed are those of the authors and the inclusion in this publication of material relating to a particular product, method or technique does not amount to an endorsement of its value or quality, or the claims made by its manufacturer.

Published by:
International Society of Feline Medicine



American Association of Feline Practitioners



and

<http://www.sagepublications.com>

Additional services and information for *Journal of Feline Medicine and Surgery* can be found at:

Email Alerts: <http://jfm.sagepub.com/cgi/alerts>

Subscriptions: <http://jfm.sagepub.com/subscriptions>

Reprints: <http://www.sagepub.com/journalsReprints.nav>

Permissions: <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>

>> Version of Record - May 10, 2012

OnlineFirst Version of Record - Mar 8, 2012

What is This?

Downloaded from jfm.sagepub.com by SAGE PUBLICATIONS on 10/10/13. See the Terms and Conditions (http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav) on October 7, 2013.

Original Article



Survey of the feline leukemia virus infection status of cats in Southern Germany

Journal of Feline Medicine and Surgery
14(6) 392–398
© ISFM and AAEP 2012
Reprints and permission:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1098612X12440531
jfms.com



Theresa Englert¹, Hans Lutz², Carola Sauter-Louis¹
and Katrin Hartmann¹

Abstract

Most studies that investigate the prevalence of infections with feline leukemia virus (FeLV) are based on the detection of p27 antigen in blood, but they do not detect proviral DNA to identify the prevalence of regressive FeLV infections. The aim of the present study was to assess the prevalence and status of FeLV infection in cats in Southern Germany. P27 antigen enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), anti-p45 antibody ELISA, DNA polymerase chain reaction (PCR) of blood and RNA PCR of saliva were performed. Nine out of 495 cats were progressively (persistently) infected (1.8%) and six were regressively (latently) infected (1.2%). Cats with regressive infections are defined as cats that have been able to overcome antigenemia but provirus can be detected by PCR. Twenty-two unvaccinated cats likely had abortive infections (regressor cats), testing FeLV antigen- and provirus-negative but anti-p45 antibody-positive. Most of the FeLV-vaccinated cats did not have anti-FeLV antibodies. Both progressive, as well as regressive infections seem to be rare in Germany today.

Accepted: 7 February 2012

Introduction

Feline leukemia virus (FeLV) infection is still a very important viral infection in Europe, with infection rates between 2.7% and 15.6% in healthy cats and between 7.6% and 30.4% in sick cats,^{1,2} and cannot be treated effectively.³ Usually, veterinary practices use tests that measure FeLV p27 antigen in blood, but these tests do not identify cats that have recovered from transient viremia, as routine antigen tests are negative after the stage of transient viremia.⁴ New, more sensitive diagnostic methods [including real-time polymerase chain reaction (PCR)] now make detection of infected, but antigen-negative cats possible. These methods have recently changed the understanding of the pathogenesis and outcome of FeLV infections. Hofmann-Lehmann et al developed a new classification scheme for the different outcomes of FeLV infection (Table 1).⁵

A significant decrease in the prevalence of infection among cats in many countries has been noticed in recent years. This decrease is caused by testing and elimination, as well as vaccination programs.^{6,7} A decrease has also been observed in Germany.⁸ However, with only few exceptions, FeLV prevalence studies are uniquely based on the detection of FeLV p27 antigen in blood using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) or

similar immunochromatography techniques. However, the pathogenesis of FeLV infection is complex; free antigen can only be detected in some infected animals, usually the ones in a viremic state. Regressively infected cats test negative for antigen and only harbor provirus in their bone marrow cells after overcoming antigenemia.^{9,10} Thus, antigen testing underestimates the true prevalence of infection. Hofmann-Lehmann et al found that in addition to 6.9% of cats being antigen-positive, provirus-positive (sick and healthy) in Switzerland, 10.0% of the cat population that tested negative for p27 antigen were positive for proviral DNA in their blood.¹¹ This result is surprisingly high and raises the question of whether the same situation occurs in other countries. The aim of this study was to survey different FeLV

¹Ludwig Maximilian University Munich, Munich, Germany
²Clinical Laboratory, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zurich, Switzerland

Corresponding author:

Theresa Englert DVM, Clinic of Small Animal Medicine,
Ludwig Maximilian University Munich, Veterinaerstrasse 13,
80539 Munich, Germany
Email: th.englert@gmx.de

Table 1 Different outcomes of FeLV infection and the number of cats in each

	Outcome		p27 antigen ELISA	Provirus (DNA) PCR	p45 antibodies	Cats of this study
	New classification	Old classification				
1	Not exposed to FeLV	Not exposed to FeLV	Negative	Negative	Negative	458
2	Abortive infection	Regressor cats	Negative	Negative	Positive	22
3	Regressive infection	Recovered from transient viremia (including latently infected cats)	Transiently positive Negative	Positive	Negative/ positive	6
4	Progressive infection	Persistent viremia	Positive	Positive	Negative	9
5	Atypical infection	Atypical infection	Negative/weakly positive	Negative/ positive	Positive	nk

nk = not known as PCR of organ samples was not performed

infection outcomes of cats in Southern Germany by using various testing systems (including antigen and antibody tests, as well as PCR) to detect different stages of FeLV infection.

Materials and methods

Animals

Blood samples of 495 randomly selected cats were tested for free FeLV p27 antigen, anti-p45 antibodies and FeLV DNA (provirus) in blood, as well as FeLV RNA (virus) in saliva. From August 2007 to May 2008, all cats that were presented to the Clinic of Small Animal Medicine of the Ludwig Maximilian University of Munich, Germany, were included in the study (366, 73.9%). Only cats whose owners did not permit blood sampling were excluded. Additionally, healthy cats (129, 26.1%) from different animal shelters in Southern Germany were sampled during the same time period. All cats available at the shelters were sampled. The health status of all cats was confirmed by a detailed physical examination performed by the first author (TE). In addition, these cats had no history of clinical signs during the 6 months prior to presentation. Data regarding vaccination status and other information were collected from the owners via a questionnaire. Missing data were obtained by telephone. However, some data could not be obtained, for example, those of most shelter cats.

All animals were classified as 'indoor' and 'outdoor' cats. Indoor cats were never allowed to go outside, not even in the garden or on a balcony. Outdoor cats were allowed to go outside and were able to roam freely.

ELISA for the detection of free p27 antigen in serum

Free FeLV p27 antigen was detected using a commercial ELISA (SNAP Kombi PlusFeLV/FIV antibody test; Idexx GmbH). The tests were performed according to manufacturer's instructions.

Indirect ELISA for the detection of FeLV anti-p45 antibodies

FeLV anti-p45 antibodies were detected in serum using an indirect ELISA described previously.¹² Antibody concentrations $\leq 25\%$ of the positive control were defined as negative. Antibody concentrations $> 25\%$ of the positive control were defined as positive. This cut-off was chosen because specific pathogen-free (SPF) cats can have antibody concentrations of up to 25% (upper limit defined by mean + 3 standard deviations) (H Lutz, unpublished data) of the positive control in this ELISA. These results are most likely caused by unspecific reactions or antibodies against endogenous FeLV (enFeLV). EnFeLV is assumed to derive from ancient retrovirus infections with originally rodent retroviruses.^{13,14}

DNA PCR in whole blood

DNA was extracted from whole blood using the MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics AG). Phosphate buffered saline (PBS; Sigma) (100 μ l) was added to the 1.5 ml microcentrifuge tubes containing 100 μ l whole blood. Lysis buffer (300 μ l) was added. The tubes were vortexed briefly and centrifuged. The whole volume was used for extraction of total nucleic acids by MagNA Pure LC Instrument (Roche Diagnostics AG) according to the manufacturer's recommendations. DNA was detected in a TaqMan[®] fluorogenic real-time PCR detecting a U3 region of the long terminal repeats (LTR) using an ABI Prism 7700 sequence detection system (Applied Biosystems). PCR reactions were performed using primers (Table 2) as described.¹⁵

RNA PCR in saliva

Saliva samples were collected using sterile cotton wool swabs (Copan Innovation). Swabs were rubbed gently

Table 2 Primers and probe used for TaqMan real-time PCR¹⁵

	Sequences	Length (bp)
Forward primer FeLV U3-exo f	AAC AGC AGA AGT TTC AAG GCC	21
Reverse primer FeLV U3-exo r	TTA TAG CAG AAA GCG CGC G	19
Probe FeLV U3 probe	CCA GCA GTC TCC AGG CTC CCC A	22

Sequences of primers and probe are given in 5–3 orientation
bp = base pairs

Table 3 p27 antigen ELISA results in 495 cats tested

		p27 antigen-positive	p27 antigen-negative	<i>P</i>
Total	n = 495	1.8%	98.2%	
Median age (years) (range)		2.8 (1.4–11.2)	7.8 (0.0–19.8)	
Breed (n = 484)	Domestic shorthair n = 373 (75.4%)	1.9%	98.1%	0.659
	Pure-/mixed-breed n = 111 (22.4%)	1.8%	98.2%	
Housing (n = 451)	Indoor n = 215 (43.4%)	0.5%	99.5%	0.078
	Outdoor n = 236 (47.6%)	2.1%	97.9%	
Cat contact (n = 457)	Contact n = 383 (77.4%)	2.1%	97.9%	0.240
	No contact n = 74 (14.9%)	0%	100%	
FeLV vaccination (n = 288)	Vaccinated n = 42 (8.9%)	2.4%	97.6%	0.548
	Not vaccinated n = 246 (49.7%)	1.6%	98.4%	

n = numbers of cats in every group, *P* = *P*-value

under the tongue and on the cheek and stored at -80°C . Total nucleic acids were extracted from saliva swabs according to Gomes-Keller et al¹⁶ using the MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit. PBS (200 μl) was added to the 1.5 ml microcentrifuge tubes containing the swabs, and samples were vortexed briefly. Samples were incubated at 42°C for 10 min. After incubation, microcentrifuge tubes were centrifuged at $8000 \times g$ for 1 min; swabs were inverted and re-centrifuged at $8000 \times g$ for 1 min. Swabs were then discarded and 140 μl of the eluate was added to 300 μl lysis buffer. The entire volume of 440 μl was used for extraction of total nucleic acids by MagNA Pure LC Instrument according to the manufacturer's recommendations.

For the RNA PCR, samples of 10 cats were pooled.¹⁷ If the pooled samples were positive, all 10 cats were retested separately. In addition, all provirus-positive cats were tested separately. FeLV RNA was detected by TaqMan fluorogenic real-time RT-PCR assay with an ABI Prism 7700 sequence detection system using primers (Table 2) as described.¹⁵

Statistical methods

The χ^2 test was used to calculate a statistical significance between antigen-negative and antigen-positive cats, as well as between PCR-negative and PCR-positive cats. As this was a no case-control study, but animals were randomly selected and examined for the presence of antibodies, relative risks (RR) were calculated. Continuous variables were tested for normal distribution. Neither age nor concentration of antibodies were distributed normally. Therefore, in order to evaluate a difference concerning these variables, a Kruskal Wallis test was used. All significant factors were included in a logistic regression model with backwards selection. *P* values of <0.05 were considered significant.

Results

Nine out of 495 cats tested positive for free FeLV p27 antigen (1.8%) (Table 3). The presence of proviral DNA in whole blood was tested by PCR in all samples, of which 15 (3.0%) had positive results. All FeLV p27

Table 4 RNA PCR and anti-p45 antibody ELISA results of antigen-negative/provirus-negative, antigen-negative/provirus-positive, antigen-positive/provirus-negative and antigen-positive/provirus-positive cats, and positive results in total

	n	RNA PCR-positive	Antibody positive	Median antibody concentration in % of the positive control (range)
Antigen-negative/provirus-negative	480	0% (0/375)	16.2% (76/470)	9.2% (-3.1-109.8%)
Antigen-negative/provirus-positive	6	0% (0/5)	60.0% (3/5)	51.3% (3.4-102.8%)
Antigen-positive/provirus-negative	0	/	/	/
Antigen-positive/ provirus-positive	9	80.0% (4/5)	0% (0/9)	6.7% (2.4-15.2%)
Total	495	1.0% (4/385)	16.3% (79/484)	9.2% (-3.1-109.8%)

n = number of cats

antigen-positive cats tested positive for FeLV provirus. Six out of 486 antigen-negative cats were provirus-positive (1.2%). The saliva of 385 cats was tested by RNA PCR (Table 4). Four cats had positive results (1.0%); each of these cats was also p27 antigen-positive.

Of the 476 cats tested for anti-p45 antibodies, 78 had antibodies (16.4%) (Table 4). Fifteen cats were known to have been vaccinated (3.2%) and 23 were not vaccinated (4.8%). The other 398 cats had no antibodies (83.6%) (Table 4). Of the 462 antigen-negative, provirus-negative cats tested for anti-p45 antibodies, 75 cats showed positive results (16.2%). The difference in antibody presence between p27 antigen-negative, provirus-negative cats and p27 antigen-negative, provirus-positive cats was significant [$P = 0.035$; RR = 3.70; 95% confidence interval (CI): 1.75-7.79]. Median antibody concentrations in p27 antigen-positive, provirus-positive cats were lower than in p27 antigen-negative, provirus-negative cats (Table 4), and concentrations of the antigen-negative, provirus-negative ones were lower than those of cats that were p27 antigen-negative, provirus-positive. This difference was not statistically significant ($P = 0.181$).

There was no difference in the age distribution between the p27 antigen-negative, provirus-negative cats, the p27 antigen-negative, provirus-positive cats, and the p27 antigen-positive, provirus-positive cats ($P = 0.089$).

Outdoor access was allowed for 236 out of 495 cats (47.7%). Of these 236 cats, six cats were p27 antigen-positive, provirus-positive (2.5%) and four cats were p27 antigen-negative, provirus-positive (1.7%). Of the 215 strictly indoor cats (43.4%), one was p27 antigen-positive, provirus-positive only (0.5%); another one was p27 antigen-negative, provirus-positive (0.5%). The difference in antigen and provirus status between cats living indoors and those living outdoors was significant ($P = 0.029$; RR = 4.56; 95% CI: 1.01-20.56). Of the 495 cats, 383 had contact with other cats (77.4%). Eight of these were p27 antigen-positive, provirus-positive (2.1%). Six cats were p27 antigen-negative, provirus-positive (1.6%). Only 74 cats lived with no known contact with other cats

(14.9%). None of them was p27 antigen-positive or provirus-positive. The difference in antigen and provirus status between cats that had contact with other cats and those that did not was not significant ($P = 0.081$).

The vaccination status of 288 cats was known. Of these, 42 cats were vaccinated against FeLV (14.6%). Four of the 246 cats without FeLV vaccination history were antigen-positive, provirus-positive (1.6%); another four cats were antigen-negative, provirus-positive (1.6%). Only one FeLV-vaccinated cat was antigen-positive, provirus-positive (2.4%). This difference between FeLV vaccinated and unvaccinated cats was not significant ($P = 0.613$). Only 15 (35.7%) of the vaccinated cats had antibodies, but this percentage was significantly higher than the percentage in the unvaccinated group (9.8%; $P < 0.001$; RR = 3.63; 95% CI: 2.07-6.37).

In the logistic regression with the factors access to outdoors, presence of antibodies and originating from the clinic patient population versus from shelter, only the latter factor remained significant ($P = 0.023$). Animals presented to the clinic had a lower risk of being provirus positive [odds ratio (OR) = 0.245; 95% CI: 0.073-0.822].

Discussion

The standard diagnostic method for FeLV infection consists of tests that detect free p27 antigen in blood by ELISA or immunochromatography.¹⁸ These tests can easily be performed in veterinary practice and are highly reliable to detect antigenemia.¹⁹ The prevalence of FeLV antigenemia in this study was 1.8%. These cats were also provirus-positive and likely have what is now called 'progressive infection.' The prevalence of FeLV antigenemia is lower than reported in previous studies in Germany,^{6,8,20,21} but this is expected owing to the decrease of FeLV antigen-positive cats worldwide. Widespread testing and elimination programs, especially in shelters and breeding facilities, as well as vaccination programs, contribute to this decline.^{6,22,23}

There is a significantly higher risk of FeLV antigenemia in this study for 'outdoor' cats than for those who live only indoors. Nevertheless, there were two cats in

this study that were FeLV-infected and, according to the owners' information, never had access to outdoors. One of these cats was a young pure-bred cat from a breeder who had at least one other FeLV-infected cat, which explains that particular positive result. The source of FeLV infection in the other cat is unknown. It could not be ascertained whether this cat had been with the owners from birth, so infection could have perhaps taken place before the cat became an 'indoor' cat.

In addition to the antigen-positive cats, FeLV provirus was detected in six antigen-negative cats by DNA PCR. Therefore, the percentage of 'regressively-infected' cats was 1.2%. This percentage is much lower than in a similar study in Switzerland where the prevalence of FeLV antigen-negative, provirus-positive cats was up to 10%.¹¹ The difference may be explained by the time span between the Swiss study and the present one. The Swiss study was performed in 1999 and 2000; in the meantime, FeLV prevalence may have further decreased. Alternatively, the FeLV infection rate in Switzerland may, indeed, be much higher than in Germany. Every antigen-positive cat was also provirus-positive, so there were no evidently false-positive antigen ELISA results.

As expected, the excretion of RNA in saliva was neither discovered in cats that were p27 antigen-negative, provirus-negative, nor in those that were p27 antigen-negative, provirus-positive. The latter ones harbor the provirus in their bone marrow and in blood cells released from the bone marrow; however, they do not carry the replicating virus and are therefore not a source of infection for other cats.⁶ One cat was antigen-positive and provirus-positive, but tested negatively for RNA in saliva. It is very likely that this cat also sheds RNA in saliva but potentially only intermittently, which could explain the negative result. The negative result could also be potentially caused by inappropriate sample collecting or handling. However, this is very unlikely because all samples were taken and processed by the same person (TE). Theoretically, it could be possible that all samples were processed incorrectly. However, this is unlikely because all of the other antigen-positive cats tested for RNA in saliva were correctly found to be shedding the virus. Measuring RNA in saliva would be an easy, non-invasive method with very easy sampling technique compared with blood sampling and could be performed by owners and breeders themselves.¹⁶ However, the fact that one cat remained undetected questions the sensitivity of the method. Although Gomes-Keller et al reported that they were able to detect FeLV RNA in saliva in 100% of experimentally- and naturally-infected antigenemic cats,^{16,17} using the same PCR method, these results cannot be confirmed completely in the present study. One possibility for the different results may be the different infection time. Gomes-Keller et al sampled experimentally-infected cats in a very early

stage of infection. It is likely that the amount of virus shedding is higher (and, thus, more easily detectable) than the amount shed by a chronically infected cat.

Pooling the eluates of the buccal swabs certainly causes a dilution effect. Consequently, one would expect a lower sensitivity of this method compared with a separate analysis of any eluate. However, it could be shown that even after pooling the eluates of up to 30 cats, RNA in the saliva of one RNA-shedding cat could be detected by PCR.¹⁷

Antibodies were detected in 78 cats (16.4%). All antigen-positive, provirus-positive cats had no antibodies. This is expected in persistently antigenemic cats because of the missing immune response.²⁴⁻²⁶ Antigen-negative, provirus-positive cats had, on average, significantly higher antibody concentrations (49.0%) than antigen-negative, provirus-negative or antigen-positive, provirus-positive cats. However, unexpectedly, two of these antigen-negative, provirus-positive cats had no antibodies. This could be potentially explained by a strong cellular and missing humoral immune response in these cats that also is able to keep the FeLV infection controlled.²⁷

There was a significant difference between vaccinated and unvaccinated cats concerning the number of cats with antibodies. More vaccinated cats had antibodies (35.7%); however, 64.3% of vaccinated cats had undetectable antibodies. Compared with other studies, detecting positive antibody titers in the majority of vaccinated cats,^{5,28} this result is surprising. The vaccines used today do not generally induce neutralizing antibodies,²⁹ and it is known that the antibody titer does not correlate with protection against FeLV and that a cat with a low antibody titer can be protected as well as a cat with a high titer.³⁰ Other studies have shown that some cats vaccinated against FeLV do not develop antibody titers before coming into contact with FeLV.³¹ Another explanation for FeLV-vaccinated cats without antibodies could be the time of measuring antibodies. In many studies, antibodies are determined a few weeks after vaccination^{5,28} but, potentially, cats in this study may have been vaccinated a longer time ago. Additionally, the information of the owner or the vaccination record could have been incorrect in some cases.

The difference in number of FeLV-antigenemic animals between vaccinated ($n = 42, 14.6\%$) and not vaccinated ($n = 246, 85.4\%$) cats was not statistically significant. This is unexpected but could be explained by the low number of FeLV-infected cats in both groups. One of the vaccinated cats was progressively infected (antigen-positive, provirus-positive) which could be caused by an infection that had existed before the vaccine was applied or by the fact that the vaccination does not protect 100% of cats even if the vaccination is administered in accordance with the recommended vaccination schedule.³²

According to the owner it is unknown if the cat was tested before vaccination. Furthermore, it was shown that vaccination does not prevent provirus integration and viral replication;²⁵ therefore, a 'reactivated' latent infection could be another explanation for the positive result in this cat.

In 22 (9.2%) p27 antigen-negative, provirus-negative cats that had definitively not been vaccinated against FeLV, antibodies were detected. It is likely that these cats had contact with FeLV but could overcome the infection before the bone marrow became infected. According to a recent study by Hofmann-Lehmann et al, in every cat that has contact with FeLV, the provirus can be detected by PCR.²⁵ As the proviral load may be near the detection limit of the provirus PCR, these cats can be PCR-negative intermittently but may turn positive again later on.⁵ The 22 antibody-positive but antigen- and provirus-negative cats of this study were not retested. Thus, it cannot be excluded that they will turn PCR-positive in the future. However, it is more likely that these cats, indeed, had an abortive infection.

A limitation of this study is the large number of cats in one of the three groups (antigen-negative, provirus-negative cats) and the very small number of cats in the other groups (antigen-negative, provirus-positive cats; antigen-positive, provirus-positive cats). As a result of this, a lot of testing revealed no statistical significance. Another limitation is that evaluations of anamnestic data are based on what the owners completed in the questionnaire. In addition, the data of the questionnaire only allows a statement about the housing conditions at the time of presentation and does not take into account if a cat had previous outdoor access.

Funding We thank Idexx for sponsoring the FeLV/FIV Snap Tests used in this study.

Acknowledgements We thank all owners who gave their support for sample collection. We are very thankful that the first author (TE) could perform all the tests by using the facilities at the Center for Clinical Studies at the Vetsuisse Faculty of the University of Zurich. We thank Dr Marina Meli for helping with every issue that arised.

Conflict of interest The authors do not have any potential conflicts of interest to declare.

References

- 1 Yilmaz H, Ilgaz A and Harbour DA. Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. *J Feline Med Surg* 2000; 2: 69–70.
- 2 Arjona A, Escolar E, Soto I, Barquero N, Martin D and Gomez-Lucia E. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3448–3449.
- 3 Hartmann K, Block A, Ferk G, Beer B, Vollmar A and Lutz H. Treatment of feline leukemia virus (FeLV) infection. *Vet Microbiol* 1999; 69: 111–113.
- 4 Flynn JN, Dunham SP, Watson V and Jarrett O. Longitudinal analysis of feline leukemia virus-specific cytotoxic T lymphocytes: correlation with recovery from infection. *J Virol* 2002; 76: 2306–2315.
- 5 Hofmann-Lehmann R, Cattori V, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Riond B, et al. Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine* 2007; 25: 5531–5539.
- 6 Hartmann K. Feline leukemia virus infection. In: Greene C (ed) Infectious diseases of the dog and the cat. 3rd ed. Athens: Saunders Elsevier, 2005, pp 105–130.
- 7 Louwerens M, London CA, Pedersen NC and Lyons LA. Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 329–335.
- 8 Gleich SE, Krieger S and Hartmann K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 985–992.
- 9 Rojko JL, Hoover EA, Quackenbush SL and Olsen RG. Reactivation of latent feline leukaemia virus infection. *Nature* 1982; 298: 385–388.
- 10 Torres AN, Mathiason CK and Hoover EA. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology* 2005; 332: 272–283.
- 11 Hofmann-Lehmann R, Huder JB, Gruber S, Boretti F, Sigrist B and Lutz H. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *J Gen Virol* 2001; 82: 1589–1596.
- 12 Major A, Cattori V, Boenzli E, Riond B, Ossent P, Meli ML, et al. Exposure of cats to low doses of FeLV: seroconversion as the sole parameter of infection. *Vet Res* 2009; 41: 17.
- 13 Benveniste RE, Sherr CJ and Todaro GJ. Evolution of type C viral genes: origin of feline leukemia virus. *Science* 1975; 190: 886–888.
- 14 Tandon R, Cattori V, Pepin AC, Riond B, Meli ML, McDonald M, et al. Association between endogenous feline leukemia virus loads and exogenous feline leukemia virus infection in domestic cats. *Virus Res* 2008; 135: 136–143.
- 15 Tandon R, Cattori V, Gomes-Keller MA, Meli ML, Golder MC, Lutz H, et al. Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2005; 130: 124–132.
- 16 Gomes-Keller MA, Tandon R, Gonczi E, Meli ML, Hofmann-Lehmann R and Lutz H. Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. *Vet Microbiol* 2006; 112: 11–21.
- 17 Gomes-Keller MA, Gonczi E, Tandon R, Riondato F, Hofmann-Lehmann R, Meli ML, et al. Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 916–922.
- 18 Lutz H, Pedersen NC, Durbin R and Theilen GH. Monoclonal antibodies to three epitopic regions of feline leukemia virus p27 and their use in enzyme-linked immunosorbent assay of p27. *J Immunol Methods* 1983; 56: 209–220.
- 19 Hartmann K, Werner RM, Egberink H and Jarrett O. Comparison of six in-house tests for the rapid diagnosis of feline

- immunodeficiency and feline leukaemia virus infections.** *Veterinary Record* 2001; 149: 317–320.
- 20 Adler K, Radeloff I, Stephan B, Greife H and Hellmann K. **Bacteriological and virological status in upper respiratory tract infections of cats (cat common cold complex).** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007; 120: 120–125 [in German].
- 21 Bauer N, Balzer HJ, Thure S and Moritz A. **Prevalence of feline haemotropic mycoplasmas in convenience samples of cats in Germany.** *J Feline Med Surg* 2008; 10: 252–258.
- 22 Lubkin SR, Romatowski J, Zhu M, Kulesa PM and White KA. **Evaluation of feline leukemia virus control measures.** *J Theor Biol* 1996; 178: 53–60.
- 23 Hardy WD, Jr. **Feline oncoretroviruses.** In: Levy JK (ed) *The Retroviridae*. New York: Plenum Press, 1993, pp 109–180.
- 24 Lutz H, Pedersen N, Higgins J, Hubscher U, Troy FA and Theilen GH. **Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigens in cats naturally infected with feline leukemia virus.** *Cancer Res* 1980; 40: 3642–3651.
- 25 Hofmann-Lehmann R, Cattori V, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Riond B, et al. **How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination.** *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 119–123.
- 26 Hanlon L, Argyle D, Bain D, Nicolson L, Dunham S, Golder MC, et al. **Feline leukemia virus DNA vaccine efficacy is enhanced by coadministration with interleukin-12 (IL-12) and IL-18 expression vectors.** *J Virol* 2001; 75: 8424–8433.
- 27 Flynn JN, Hanlon L and Jarrett O. **Feline leukaemia virus: protective immunity is mediated by virus-specific cytotoxic T lymphocytes.** *Immunology* 2000; 101: 120–125.
- 28 Brunner C, Kanellos T, Meli ML, Sutton DJ, Gisler R, Gomes-Keller MA, et al. **Antibody induction after combined application of an adjuvanted recombinant FeLV vaccine and a multivalent modified live virus vaccine with a chlamydial component.** *Vaccine* 2006; 24: 1838–1846.
- 29 Langhammer S, Hubner J, Kurth R and Denner J. **Antibodies neutralizing feline leukaemia virus (FeLV) in cats immunized with the transmembrane envelope protein p15E.** *Immunology* 2006; 117: 229–237.
- 30 Sparkes AH. **Feline leukaemia virus and vaccination.** *J Feline Med Surg* 2003; 5: 97–100.
- 31 Hofmann-Lehmann R, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Willi B, Cattori V, et al. **Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays.** *Vaccine* 2006; 24: 1087–1094.
- 32 Jarrett O and Ganieri JP. **Comparative studies of the efficacy of a recombinant feline leukaemia virus vaccine.** *Vet Rec* 1996; 138: 7–11.

IV. DISKUSSION

Die FeLV-Infektion ist nach wie vor eine sehr häufige Todesursache bei Katzen. Die Infektion wird meist horizontal von Katze zu Katze übertragen. Jedoch kommen auch vertikale Infektionen von der Mutter auf ihre Welpen über die Plazenta oder die Milch vor (HOOVER & MULLINS, 1991). Mittels herkömmlicher diagnostischer Methoden konnten FeLV-infizierte Katzen bisher nur zu einem Teil identifiziert werden. Routine-Untersuchungen basieren hauptsächlich auf dem Nachweis von FeLV-Antigen. Damit werden ausschließlich progressive Infektionen nachgewiesen. Nicht erkannt werden jedoch regressiv infizierte Katzen, bei denen weder freies Virus, noch Antigen im Blut zirkulieren. Diese Katzen können nur durch Nachweis von Provirus identifiziert werden. Ziel dieser Studie war es, die Prävalenz regressiver und progressiver FeLV-Infektionen bei Katzen in Süddeutschland zu ermitteln und somit die wahre Prävalenz festzustellen.

In diese Studie wurden 495 Katzen unselektiert eingeschlossen. 75 davon lebten in Einzelhaltung, d. h. sie hatten keinen direkten Kontakt zu anderen Katzen. Bei keiner dieser Katzen konnte FeLV-Antigen oder Provirus im Blut nachgewiesen werden. Das bedeutet, sie hatten entweder nie Kontakt mit FeLV oder eine abortive Infektion. FeLV ist ein labiles Virus, das in der Regel nur durch direkten Kontakt und nicht durch Dritte, wie z. B. Menschen, übertragen werden kann (FRANCIS et al., 1979; GOMES-KELLER et al., 2006a). Deswegen ist davon auszugehen, dass einzeln gehaltene Katzen sich nicht mit FeLV infizieren. Der Unterschied der FeLV-Prävalenz zwischen Katzen in Einzelhaltung und solchen mit Kontakt zu anderen Katzen war in dieser Studie nicht signifikant. Dies ist vermutlich durch die vergleichsweise geringe Anzahl der Katzen in Einzelhaltung (75) zu erklären, die einer deutlich größeren Zahl an Katzen mit Kontakt zu anderen (383) gegenüber stand.

Von diesen 383 Katzen, die Kontakt zu anderen Katzen hatten, waren 124 Tiere reine Wohnungskatzen, lebten jedoch in Mehrkatzenhaushalten. Bei acht der 383 Katzen wurde FeLV-Antigen nachgewiesen. Alle Antigen-positiven Tiere waren auch Provirus-positiv, d.h. sie waren progressiv FeLV-infiziert. Zudem waren

sechs Antigen-negative Tiere Provirus-positiv. Diese Tiere galten somit als regressiv infiziert.

Eine der progressiv infizierten Katzen lebte als reine Wohnungskatze im Haus einer Züchterin. In dieser Zucht konnten, auf Nachfrage, schon bei früheren Untersuchungen mehrere FeLV-Antigen-positive Tiere identifiziert werden. Die progressiv infizierte Katze war nicht geimpft. Bei hohem Infektionsdruck, wie in diesem Fall, wären jedoch selbst geimpfte Tiere vor einer Infektion nicht geschützt (HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). Auch eine der regressiv infizierten Katzen lebte als reine Wohnungskatze in einem Mehrkatzenhaushalt. Wahrscheinlich wurde diese Katze schon intrauterin infiziert oder das Virus wurde von der Mutter über die Milch übertragen (PACITTI et al., 1986; HOOVER & MULLINS, 1991; HARTMANN, 2012). Da die Informationen über die Haltungs- und Lebensweise der Katzen in dieser Studie auf Besitzerangaben beruhen, ist nicht sicher auszuschließen, dass teils fehlerhafte Informationen vorlagen. Es könnte aber auch sein, dass die regressiv infizierte Katze eventuell nicht von Geburt an bei den Besitzern lebte, sondern früher Kontakt zu anderen Katzen hatte und sich so infizieren konnte. Desweiteren denkbar wäre eine Infektion durch eine der anderen Katzen im Haushalt, über deren FeLV-Status und Vorgeschichte ebenfalls keine Informationen vorlagen.

Bei 476 Katzen dieser Studie wurde zusätzlich ein Antikörpernachweis durchgeführt. Dieser beruhte auf dem Nachweis von p45-Antikörpern. Bei 398 Katzen konnten keine Antikörper nachgewiesen werden. Von diesen Katzen waren neun Tiere progressiv infiziert. Progressiv infizierte Katzen können mangels kompetenter Immunantwort keine virusneutralisierenden Antikörper ausbilden und somit die Virämie nicht eliminieren (HOFMANN-LEHMANN et al., 2007).

Bei 78 Katzen wurden Antikörper gegen p45 gefunden. Erwartungsgemäß war keine dieser Katzen Antigen-positiv. Drei Tiere waren jedoch Provirus-positiv und somit regressiv infiziert. Diese Tiere konnten offensichtlich durch eine gute humorale Immunantwort die Virämie beenden. Provirale DNA blieb jedoch im Genom der Katze integriert.

75 Katzen waren Antikörper-positiv, jedoch Antigen- und Provirus-negativ. Diese Tiere hatten Antikörper durch abortive Infektionen oder nach FeLV-Impfungen.

Laut Besitzer waren 22 Tiere nie gegen FeLV geimpft worden. Sie hatten demnach eine abortive Infektion. 15 der 78 Antikörper-positiven Katzen waren nachweislich geimpft worden.

Zwei Katzen mit nur sehr niedrigen Konzentrationen an anti-p45-Antikörpern waren Antigen-negativ, jedoch Provirus-positiv und somit regressiv infiziert. Diese Tiere konnten die Antigenämie wahrscheinlich mittels einer effektiven zellulären Immunantwort eliminieren. Dies kommt in ca. 2,0 % der Fälle vor (HARTMANN, 2012). Ebenso könnte die Viruselimination aus dem Blut mittels Antikörper stattgefunden haben, die nicht gegen das p45-Antigen des Virus gerichtet waren, sondern z. B. gegen das p27-Antigen oder auch gegen das feline oncornavirus-associated cell-membrane antigen (FOCMA) (COTTER et al., 1975; LUTZ et al., 1983b; SWENSON et al., 1990; BEATTY et al., 2011).

Von 246 ungeimpften Tieren hatten 211 Katzen keine Antikörper. Sie waren sowohl Antigen- als auch Provirus negativ. Es ist anzunehmen, dass diese Tiere nie mit FeLV in Kontakt gekommen waren.

Bei 42 Tieren gaben die Besitzer an, die Katzen seien gegen FeLV geimpft. Von diesen Tieren hatten nur 15 nachweisbare Antikörper, 27 jedoch keine. Ein Impfschutz ist nicht immer zwingend an die Ausbildung virusneutralisierender Antikörper gebunden. Es gibt oft Tiere, bei denen eine Impfung oder auch eine Feldvirusinfektion zu einer kompetenten zellulären Immunantwort führt. Diese Tiere können eine Infektion eliminieren ohne hohe Antikörperkonzentrationen auszubilden. Einige dieser Katzen produzieren nach Impfung erst später beim Zweitkontakt mit dem Feldvirus oder nach einer erneuten Impfung Antikörper (HAWKS et al., 1991; SPARKES, 2003; HOFMANN-LEHMANN et al., 2007). Von den 42 geimpften Katzen war ein Tier sowohl Antigen- als auch Provirus-positiv. Auf Nachfrage gab die Besitzerin an, dass sie ihre Katzen vor der Impfung nicht auf FeLV-Antigen hatte testen lassen. Es ist wahrscheinlich, dass die Infektion schon vor der Impfung vorhanden war. Es ist jedoch ebenso möglich, dass sich diese Katze trotz Impfung mit FeLV infizieren konnte, da der Impfstoff zwar viele Tiere schützt, jedoch, v. a. bei hohem Infektionsdruck, keinen hundertprozentigen Schutz bietet (SPARKES, 2003; LANGHAMMER et al., 2005; GOMES-KELLER et al., 2006a; HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). Befindet sich ein FeLV-infiziertes Tier in einem Bestand, so ist durch den ständigen Kontakt die Gefahr einer Infektion für die anderen Tiere sehr groß. Um

eine Infektion der anderen Tiere zu vermeiden, sollten FeLV-positive Katzen von anderen isoliert werden. Diese Maßnahme hat in den letzten Jahrzehnten dazu beigetragen, die FeLV-Prävalenz zu senken (ROMATOWSKI & LUBKIN, 1997). Die oben genannte Katze lebte mit zwei Partnertieren. Beide waren sowohl Antigen- als auch Provirus-negativ. Ob dies durch den Impfschutz bedingt war, ist unklar. Antikörper konnten bei keiner der beiden anderen Katzen nachgewiesen werden.

Bei 378 Katzen konnte eine Speichelprobe gewonnen werden, die mittels einer real-time RT-PCR auf RNA untersucht wurde. Bei 374 Tieren wurde hier keine RNA nachgewiesen. Sie schieden kein Virus aus und waren somit für andere Tiere nicht infektiös. Fünf dieser Tiere waren regressiv infiziert, d. h. Antigen-negativ und Provirus-positiv. Bei einer regressiven FeLV-Infektion ist keine RNA im Speichel zu erwarten (GOMES-KELLER et al., 2006a). Somit entspricht das negative PCR-Ergebnis bei diesen fünf Katzen den Erwartungen. Alle vier Katzen, bei denen bei der RT-PCR im Speichel RNA gefunden werden konnte, waren progressiv infiziert. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien (GOMES-KELLER et al., 2006a).

Bei einer progressiv infizierten Katze fiel jedoch der RNA-Nachweis im Speichel negativ aus. Der Goldstandard zum Nachweis FeLV-ausscheidender Katzen ist der Nachweis von p27-Antigen im Blut. Während einer Antigenämie scheiden Katzen normalerweise Virus mit dem Speichel aus. Als Möglichkeit für dieses einzelne diskrepante Ergebnis käme ein Fehler bei der Probengewinnung oder bei der Aufbewahrung der Speicheltupfer in Betracht. Alle Speichelproben wurden jedoch von ein und derselben Person gewonnen. Die Aufbewahrung fand bei -80 °C statt. Untersuchungen zeigten, dass selbst eine zweimonatige Lagerung bei Zimmertemperatur keinen negativen Einfluss auf die Stabilität der RNA in den Tupferproben hat (GOMES-KELLER et al., 2006a; GOMES-KELLER et al., 2006b). Ein Fehler im Probenhandling kann somit weitgehend ausgeschlossen werden. Eventuell konnte bei oben genannter Katze nicht genügend Material gewonnen werden. Dies könnte durch zu wenig Speichel in der Maulhöhle der Katze zu erklären sein. Die wahrscheinlichste Erklärung ist jedoch, dass die RNA-PCR aus Speichel nicht sensitiv genug ist. Im Vergleich des p27-Antigen-Nachweises mit der real-time RT-PCR lag die Sensitivität der PCR in einer Studie aus der Schweiz bei 98,1 %, die Spezifität bei 99,2 % (GOMES-KELLER et al.,

2006a). Von den Autoren dieser Studie wurde empfohlen, den RNA-Nachweis im Speichel als künftiges, wenig invasives diagnostisches Mittel zur Identifizierung progressiv infizierter Katzen in Betracht zu ziehen (GOMES-KELLER et al., 2006a; GOMES-KELLER et al., 2006b). Aufgrund der Ergebnisse der hier vorliegenden Studie kann die Speichel-RT-RNA-PCR jedoch nicht als Alternative zum Antigen-ELISA im Blut empfohlen werden.

Von allen getesteten Tieren waren 116 Katzen klinisch gesund, während 379 wegen verschiedener Krankheiten vorgestellt wurden. Diese Krankheiten waren nicht zwingend FeLV-assoziiert. Sie reichten von endokrinologischen, onkologischen, internistischen bis hin zu gynäkologischen und chirurgischen Problemen. Von den 116 gesunden Tieren konnte bei dreien eine progressive Infektion nachgewiesen werden. Fünf Tiere waren Antigen-negativ, jedoch Provirus-positiv, also regressiv infiziert. Unter den 379 klinisch kranken Katzen waren sechs Tiere progressiv infiziert, eine Katze regressiv. Gesunde Tiere waren damit signifikant häufiger FeLV-infiziert als kranke Katzen ($p = 0,010$). Das ist erstaunlich und steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Studien, bei denen es genau umgekehrt war (UELAND & LUTZ, 1992; ARJONA et al., 2000; YILMAZ et al., 2000; GOMES-KELLER et al., 2006a). Dies lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass in der vorliegenden Studie auch regressiv Infektionen nachgewiesen wurden. In den anderen Studien wurden nur progressiv infizierte Tiere untersucht. Regressiv infizierte Katzen sind jedoch in aller Regel klinisch gesund. So war in der Gruppe der klinisch gesunden Katzen der Großteil der FeLV-infizierten Katzen regressiv infiziert, in der Gruppe der kranken Tiere hingegen sechs von sieben progressiv infiziert. Progressiv infizierte Tiere werden häufig mit FeLV-assoziierten Symptomen oder Folgeerkrankungen wie Tumoren oder Anämien vorgestellt. Um die wahre Prävalenz zu ermitteln, darf unter den Katzen nicht selektiert werden.

In der Gruppe der gesunden Katzen waren 62,5 % regressiv infiziert, hingegen wurde nur bei 14,3 % der klinisch kranken Tiere eine regressiv Infektion nachgewiesen. Der Unterschied zwischen den Gruppen war jedoch nicht signifikant. Dies kann den unterschiedlichen Gruppengrößen zugeschrieben werden.

In der Studie waren von 495 Tieren 309 Katzen männlich, 46 davon intakt. Mit 4,6 % schienen die unkastrierten Kater im Vergleich zu den kastrierten (3,8 %)

häufiger FeLV-infiziert zu sein. Der Unterschied war allerdings nicht statistisch signifikant. Mit 1,6 % waren weniger Kätzinnen infiziert als Kater (3,9 %). Auch hier war der Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant. Zu gleichen Ergebnissen kommen Studien aus den USA und Australien, bei denen zwischen infizierten weiblichen und männlichen Katzen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten (MALIK et al., 1997; LEE et al., 2002). Anderen Studien zufolge sind Kater jedoch einem signifikant höheren Risiko ausgesetzt, sich mit FeLV zu infizieren (FUCHS et al., 1994; GLEICH et al., 2009).

Unter 495 Katzen fanden sich in dieser Studie 111 reinrassige Tiere. 1,8 % der reinrassigen Katzen waren mit FeLV infiziert. Unter Europäisch Kurzhaarkatzen (EKH) konnte dagegen bei 3,5 % eine Infektion nachgewiesen werden. Andere Studien belegen, dass Rassekatzen signifikant seltener FeLV-infiziert sind als EKH (FUCHS et al., 1994). Ein Grund hierfür wäre, dass reinrassige Katzen sehr häufig beim Züchter teuer erworben und meist als reine Wohnungskatzen gehalten werden. Außerdem werden Zuchtkatzen häufiger auf FeLV getestet. Auch bezüglich der Rasse war der Unterschied in dieser Studie nicht signifikant.

Eine Limitation dieser Studie waren die Gruppengrößen. Die Katzen wurden unselektiert in die Studie aufgenommen. Wegen der niedrigen Prävalenz der FeLV-Infektionen waren somit in der Gruppe der nicht mit FeLV infizierten oder abortiv infizierten Katzen 480 Tiere. Dahingegen waren die Gruppen der regressiv und progressiv infizierten Katzen mit nur sechs bzw. neun Tieren sehr klein. Dadurch war es in vielen Fällen nicht möglich, statistisch signifikante Unterschiede zu ermitteln. Eine weitere Limitation der Studie war die Erhebung der Anamnesedaten. Häufig waren nicht alle Informationen zu erhalten; Besitzerangaben waren teilweise lückenhaft, außerdem konnte das Leben einiger Katzen nicht bis zu ihrer Geburt zurückverfolgt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Prävalenz der FeLV-Infektion in Süddeutschland sehr niedrig ist. Das bestätigt die Ergebnisse anderer Studien, in denen in den letzten Jahren ebenfalls niedrige FeLV-Prävalenzen ermittelt wurden (GLEICH et al., 2009). In keiner bisherigen Studie aus Deutschland wurde jedoch auch nach regressiven FeLV-Infektionen gesucht. Eine Studie aus der Schweiz, die bei sehr vielen Katzen eine regressive Infektion nachgewiesen hatte, ließ erwarten (HOFMANN-LEHMANN et al., 2001), dass die wahre FeLV-Prävalenz

auch in Süddeutschland deutlich höher liegt als bisher angenommen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigten diese Befürchtung jedoch glücklicherweise nicht, da nur sehr wenige Katzen regressiv FeLV-infiziert waren.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Alle Studien, die die Prävalenz der feline Leukämievirusinfektion (FeLV) in Deutschland untersuchten, basierten bislang auf dem Nachweis von p27-Antigen in Blut und wiesen damit ausschließlich progressive Infektionen nach. Das Vorhandensein proviraler Desoxyribonukleinsäure (DNA) wurde bisher jedoch nicht berücksichtigt, weswegen regressive FeLV-Infektionen nicht erfasst wurden. In der Schweiz zeigte eine Studie, dass die „wahre“ Prävalenz der FeLV-Infektionen (progressive und regressive Infektionen) deutlich höher liegt als bisher angenommen. Ziel dieser Studie war es, den FeLV-Status bei Katzen in Süddeutschland und dabei die Prävalenz progressiver, regressiver und abortiver FeLV-Infektionen zu untersuchen. In die Studie wurden 495 unselektierte Katzen eingeschlossen. Es wurden p27-Antigen und anti-p45-Antikörper im Blut mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) sowie DNA im Blut und Ribonukleinsäure (RNA) im Speichel mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) nachgewiesen. Neun der 495 Katzen waren progressiv infiziert (1,8 %), sechs Tiere zeigten eine regressive (1,2 %) und 22 (4,4 %) eine abortive Infektionsform. Die RNA-RT-PCR konnte bei keiner der regressiv, jedoch bei vier von fünf progressiv infizierten Katzen eine RNA-Ausscheidung im Speichel nachweisen. 27 (64,3 %) der FeLV-geimpften Katzen hatten keine Antikörper. Dies bedeutet jedoch nicht zwangsweise, dass sie keinen Impfschutz gegen eine FeLV-Infektion hatten. Wie erwartet hatten Freigängerkatzen ein signifikant höheres Risiko, FeLV-infiziert zu sein als reine Hauskatzen. Überraschenderweise waren klinisch gesunde Katzen häufiger von einer FeLV-Infektion betroffen als kranke Tiere. Aufgrund der niedrigen Prävalenz waren die Gruppengrößen der Tiere mit unterschiedlichen FeLV-Verlaufsformen sehr inhomogen. Deswegen konnten bezüglich vieler untersuchter Merkmale keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Sowohl progressive als auch regressive FeLV-Infektionen scheinen heutzutage in Süddeutschland selten geworden zu sein.

VI. SUMMARY

So far, all studies investigating the prevalence of feline leukemia virus (FeLV) infection in Germany are based on the detection of p27 antigen in blood, and therefore, only detected progressive FeLV infection. Up to now, no study looked for proviral deoxyribonucleic acid (DNA); thus, the prevalence of regressive FeLV infection has never been identified. In Switzerland, studies showed that the true prevalence of FeLV infection (progressive and regressive infection) is much higher than assumed. The aim of the present study was to assess the status of FeLV infection in cats in Southern Germany by detecting progressive as well as regressive and abortive infections. In this study, 495 unselected cats were included. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect p27 antigen and anti-p45 antibody in blood, polymerase chain reaction (PCR) to detect provirus (DNA) in blood, and real-time RT-PCR to detect ribonucleic acid (RNA) in saliva were performed. Nine out of 495 cats were progressively infected (1.8%), while six animals showed a regressive (1.2 %) and 22 (4.4 %) an abortive form of FeLV infection. RT-PCR showed that none of the regressively infected cats, but four of five progressively infected animals were shedding RNA in saliva. Of the cats vaccinated against FeLV, 27 (64.3 %) did not have anti-p45 antibodies. This does not necessarily mean that they were not protected against infection. As expected, cats with access to outdoors had a significantly higher risk to be FeLV-infected than cats that lived indoors only. Surprisingly, healthy cats were more commonly infected than sick animals. Due to the inhomogeneous number of cats in the different groups, many investigated parameters were not statistically significant between groups. Both, progressive and regressive infections seem to be rare in Southern Germany today.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Anderson MM, Lauring AS, Robertson S, Dirks C, Overbaugh J. Feline Pit2 functions as a receptor for subgroup B feline leukemia viruses. *J Virol* 2001; 75: 10563-72.

Arjona A, Escolar E, Soto I, Barquero N, Martin D, Gomez-Lucia E. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3448-9.

Bachman D, Cockerell GL, de Noronha F, Rapp HJ. Effect of bacille Calmette-Guerin immunotherapy on feline sarcoma virus-induced neoplasms in the cat. *Am J Vet Res* 1982; 43: 475-80.

Bandecchi P, Dell'Omodarme M, Magi M, Palamidessi A, Prati MC. Feline leukaemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus infections in cats in the Pisa district of Tuscany, and attempts to control FeLV infection in a colony of domestic cats by vaccination. *Vet Rec* 2006; 158: 555-7.

Beatty JA, Tasker S, Jarrett O, Lam A, Gibson S, Noe-Nordberg A, Phillips A, Fawcett A, Barrs VR. Markers of feline leukaemia virus infection or exposure in cats from a region of low seroprevalence. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 927-33.

Bechtel MK, Hayes KA, Mathes LE, Pandey R, Stromberg PC, Roy-Burman P. Recombinant feline leukemia virus (FeLV) variants establish a limited infection with altered cell tropism in specific-pathogen-free cats in the absence of FeLV subgroup A helper virus. *Vet Pathol* 1999; 36: 91-9.

Benveniste RE, Todaro GJ. Evolution of C-type viral genes: inheritance of exogenously acquired viral genes. *Nature* 1974; 252: 456-9.

Benveniste RE, Sherr CJ, Todaro GJ. Evolution of type C viral genes: origin of

feline leukemia virus. *Science* 1975; 190: 886-8.

Besmer P. Acute transforming feline retroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1983; 107: 1-27.

Boomer S, Eiden M, Burns CC, Overbaugh J. Three distinct envelope domains, variably present in subgroup B feline leukemia virus recombinants, mediate Pit1 and Pit2 receptor recognition. *J Virol* 1997; 71: 8116-23.

Boretti FS, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. [FeLV infection in the cat: clinically relevant aspects]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2001; 153: 501-5.

Cattori V, Tandon R, Pepin A, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA. *Mol Cell Probes* 2006; 20: 172-81.

Cattori V, Pepin AC, Tandon R, Riond B, Meli ML, Willi B, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Real-time PCR investigation of feline leukemia virus proviral and viral RNA loads in leukocyte subsets. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 124-8.

Cattori V, Tandon R, Riond B, Pepin AC, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. The kinetics of feline leukaemia virus shedding in experimentally infected cats are associated with infection outcome. *Vet Microbiol* 2009; 133: 292-6.

Charreyre C, Pedersen NC. Study of feline leukemia virus immunity. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199: 1316-24.

Cotter S. Feline viral neoplasia. In: *Infectious diseases of the dog and cat*. Greene C, ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1998: 71-84.

Cotter SM, Hardy WD, Jr., Essex M. Association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders in the cat. *J Am Vet Med Assoc* 1975; 166:

449-54.

Cotter SM. Feline leukemia virus induced disorders in the cat. *Vet Clin North Am* 1976; 6: 367-78.

Donahue PR, Hoover EA, Beltz GA, Riedel N, Hirsch VM, Overbaugh J, Mullins JI. Strong sequence conservation among horizontally transmissible, minimally pathogenic feline leukemia viruses. *J Virol* 1988; 62: 722-31.

Dornsife RE, Gasper PW, Mullins JI, Hoover EA. Induction of aplastic anemia by intra-bone marrow inoculation of a molecularly cloned feline retrovirus. *Leuk Res* 1989; 13: 745-55.

Elder JH, Mullins JI. Nucleotide sequence of the envelope gene of Gardner-Arnstein feline leukemia virus B reveals unique sequence homologies with a murine mink cell focus-forming virus. *J Virol* 1983; 46: 871-80.

Ellis JA, Jackson ML, Bartsch RC, McGill LG, Martin KM, Trask BR, Haines DM. Use of immunohistochemistry and polymerase chain reaction for detection of oncornaviruses in formalin-fixed, paraffin-embedded fibrosarcomas from cats. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 767-71.

Essex M, Cotter SM, Hardy WD, Jr., Hess P, Jarrett W, Jarrett O, Mackey L, Laird H, Perryman L, Olsen RG, Yohn DS. Feline oncornavirus-associated cell membrane antigen. IV. Antibody titers in cats with naturally occurring leukemia, lymphoma, and other diseases. *J Natl Cancer Inst* 1975; 55: 463-7.

Flynn JN, Hanlon L, Jarrett O. Feline leukaemia virus: protective immunity is mediated by virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology* 2000; 101: 120-5.

Flynn JN, Dunham SP, Watson V, Jarrett O. Longitudinal analysis of feline leukemia virus-specific cytotoxic T lymphocytes: correlation with recovery from

infection. *J Virol* 2002; 76: 2306-15.

Francis DP, Essex M, Hardy WD, Jr. Excretion of feline leukaemia virus by naturally infected pet cats. *Nature* 1977; 269: 252-4.

Francis DP, Essex M, Gayzagian D. Feline leukemia virus: survival under home and laboratory conditions. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 154-6.

Fuchs A, Binzel L, Lonsdorfer M. [Epidemiology of FeLV and FIV infection in the Federal Republic of Germany]. *Tierarztl Prax* 1994; 22: 273-7.

Gabor LJ, Jackson ML, Trask B, Malik R, Canfield PJ. Feline leukaemia virus status of Australian cats with lymphosarcoma. *Aust Vet J* 2001; 79: 476-81.

Gleich S, Hartmann K. Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 552-8.

Gleich SE, Krieger S, Hartmann K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 985-92.

Goldkamp CE, Levy JK, Edinboro CH, Lachtara JL. Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats with abscesses or bite wounds and rate of veterinarian compliance with current guidelines for retrovirus testing. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1152-8.

Gomes-Keller MA, Gonczi E, Tandon R, Riionato F, Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Lutz H. Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 2006a; 44: 916-22.

Gomes-Keller MA, Tandon R, Gonczi E, Meli ML, Hofmann-Lehmann R, Lutz

H. Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. *Vet Microbiol* 2006b; 112: 11-21.

Gomes-Keller MA, Gonczi E, Grenacher B, Tandon R, Hofman-Lehmann R, Lutz H. Fecal shedding of infectious feline leukemia virus and its nucleic acids: a transmission potential. *Vet Microbiol* 2009; 134: 208-17.

Grant CK, Essex M, Gardner MB, Hardy WD. Natural feline leukemia virus infection and the immune response of cats of different ages. *Cancer Res* 1980; 40: 823-9.

Hardy WD, Hess PW, MacEwen EG, McClelland AJ, Zuckerman EE, Essex M, Cotter SM, Jarrett O. Biology of feline leukemia virus in the natural environment. *Cancer Res* 1976; 36: 582-8.

Hardy WD, MacEwen EG. Hematopoietic tumors. In: *Clinical Veterinary Oncology*. Withrow SJ, MacEwen EG, eds. Philadelphia, USA: JB Lippincott Company 1989: 362-411.

Hardy WJ. Hematopoietic tumors of cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981a: 921-40.

Hardy WJ. The feline sarcoma viruses. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981b; 17: 981-97.

Hartmann K, Block A, Ferk G, Vollmar A, Goldberg M, Lutz H. Treatment of feline leukemia virus-infected cats with paramunity inducer. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 65: 267-75.

Hartmann K. Feline Leukemia Virus Infection. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Greene C, ed. Athens: Elsevier 2012: 108-36.

Hartmann K KW, Walters H, Hinze K, Beer B (1992) FeLV-Infektion - Epidemiologie und Klinik. Proceedings zur Vortragsreihe: "Die FeLV-Infektion".

11-9

Hawks DM, Legendre AM, Rohrbach BW, Sebring R, Chavez L, Chu HJ, Acree WM. Antibody response of kittens after vaccination followed by exposure to feline leukemia virus-infected cats. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199: 1463-9.

Hayes KA, Rojko JL, Tarr MJ, Polas PJ, Olsen RG, Mathes LE. Atypical localised viral expression in a cat with feline leukaemia. *Vet Rec* 1989; 124: 344-6.

Hayes KA, Rojko JL, Mathes LE. Incidence of localized feline leukemia virus infection in cats. *Am J Vet Res* 1992; 53: 604-7.

Hofmann-Lehmann R, Holznagel E, Ossent P, Lutz H. Parameters of disease progression in long-term experimental feline retrovirus (feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus) infections: hematology, clinical chemistry, and lymphocyte subsets. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4: 33-42.

Hofmann-Lehmann R, Huder JB, Gruber S, Boretti F, Sigrist B, Lutz H. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *J Gen Virol* 2001; 82: 1589-96.

Hofmann-Lehmann R, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Willi B, Cattori V, Gomes-Keller MA, Ossent P, Golder MC, Flynn JN, Lutz H. Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. *Vaccine* 2006; 24: 1087-94.

Hofmann-Lehmann R, Cattori V, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Riond B, Pepin AC, Willi B, Ossent P, Lutz H. Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine* 2007; 25: 5531-9.

Hofmann-Lehmann R, Cattori V, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Riond B, Lutz

H. How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 119-23.

Hoover EA, McCullough CB, Griesemer RA. Intranasal transmission of feline leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1972; 48: 973-83.

Hoover EA, Olsen RG, Hardy WD, Jr., Schaller JP, Mathes LE. Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection. *J Natl Cancer Inst* 1976; 57: 365-9.

Hoover EA, Mullins JI. Feline leukemia virus infection and diseases. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199: 1287-97.

Jackson ML, Haines DM, Meric SM, Misra V. Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. *Can J Vet Res* 1993; 57: 269-76.

Jarrett O, Laird HM, Hay D. Determinants of the host range of feline leukaemia viruses. *J Gen Virol* 1973; 20: 169-75.

Jarrett O, Russell PH. Differential growth and transmission in cats of feline leukaemia viruses of subgroups A and B. *Int J Cancer* 1978; 21: 466-72.

Jarrett O, Hardy WD, Jr., Golder MC, Hay D. The frequency of occurrence of feline leukaemia virus subgroups in cats. *Int J Cancer* 1978; 21: 334-7.

Jarrett O. Feline leukemia virus subgroups. In: *Feline Leukemia Virus*. Hardy WD, Essex M, McClelland AJ, eds. New York: Elsevier/North-Holland 1980: 473-9.

Jarrett O, Golder MC, Toth S, Onions DE, Stewart MF. Interaction between feline leukaemia virus subgroups in the pathogenesis of erythroid hypoplasia. *Int J*

Cancer 1984; 34: 283-8.

Jarrett O. Strategies of retrovirus survival in the cat. *Vet Microbiol* 1999; 69: 99-107.

Jarrett WF, Crawford EM, Martin WB, Davie F. A Virus-Like Particle Associated with Leukemia (Lymphosarcoma). *Nature* 1964a; 202: 567-9.

Jarrett WF, Martin WB, Crichton GW, Dalton RG, Stewart MF. Transmission Experiments with Leukemia (Lymphosarcoma). *Nature* 1964b; 202: 566-7.

Kraut EH, Rojko JL, Olsen RG, Tuomari DL. Effects of cobra venom factor treatment on latent feline leukemia virus infection. *J Virol* 1985; 54: 873-5.

Kumar DV, Berry BT, Roy-Burman P. Nucleotide sequence and distinctive characteristics of the env gene of endogenous feline leukemia provirus. *J Virol* 1989; 63: 2379-84.

Lafrado LJ, Dezzutti CS, Lewis MG, Olsen RG. Immunodeficiency in latent feline leukemia virus infections. *Vet Immunol Immunopathol* 1989; 21: 39-46.

Langhammer S, Fiebig U, Kurth R, Denner J. Neutralising antibodies against the transmembrane protein of feline leukaemia virus (FeLV). *Vaccine* 2005; 23: 3341-8.

Langhammer S, Hubner J, Kurth R, Denner J. Antibodies neutralizing feline leukaemia virus (FeLV) in cats immunized with the transmembrane envelope protein p15E. *Immunology* 2006; 117: 229-37.

Lappin MR. Opportunistic infections associated with retroviral infections in cats. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1995; 10: 244-50.

Lee IT, Levy JK, Gorman SP, Crawford PC, Slater MR. Prevalence of feline

leukemia virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in unowned free-roaming cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 620-2.

Levy JK. FeLV and non-neoplastic FeLV-related disease. In: *Textbook of veterinary internal medicine*. Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Philadelphia: WB Saunders 2000: 424-32.

Levy JK, Scott HM, Lachtara JL, Crawford PC. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 371-6.

Levy LS, Gardner MB, Casey JW. Isolation of a feline leukaemia provirus containing the oncogene myc from a feline lymphosarcoma. *Nature* 1984; 308: 853-6.

Levy LS. Advances in understanding molecular determinants in FeLV pathology. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 14-22.

Lewin B. Gene und Entwicklung. In: *Gene - Lehrbuch der molekularen Genetik*. Lewin B, ed. Weinheim, Germany: VCH 1988: 603-80.

Little S, Sears W, Lachtara J, Bienzle D. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in Canada. *Can Vet J* 2009; 50: 644-8.

Luciw P, Parkes D, Van Nest G, Dina D, Hendrix K, Gardner MB. Recombinant DNA approaches to feline leukemia virus immunization. *Basic Life Sci* 1986; 37: 207-15.

Lutz H, Pedersen NC, Theilen GH. Course of feline leukemia virus infection and its detection by enzyme-linked immunosorbent assay and monoclonal antibodies. *Am J Vet Res* 1983a; 44: 2054-9.

Lutz H, Pedersen NC, Durbin R, Theilen GH. Monoclonal antibodies to three epitopic regions of feline leukemia virus p27 and their use in enzyme-linked immunosorbent assay of p27. *J Immunol Methods* 1983b; 56: 209-20.

Lutz H, Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. Feline leukaemia. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 565-74.

Mackey L, Jarrett W, Jarrett O, Laird H. Anemia associated with feline leukemia virus infection in cats. *J Natl Cancer Inst* 1975; 54: 209-17.

Madewell BR, Jarrett O. Recovery of feline leukaemia virus from non-viraemic cats. *Vet Rec* 1983; 112: 339-42.

Major A, Cattori V, Boenzli E, Riond B, Ossent P, Meli ML, Hofmann-Lehmann R, Lutz H. Exposure of cats to low doses of FeLV: seroconversion as the sole parameter of infection. *Vet Res* 2009; 41: 17.

Malik R, Kendall K, Cridland J, Coulston S, Stuart AJ, Snow D, Love DN. Prevalences of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus infections in cats in Sydney. *Aust Vet J* 1997; 75: 323-7.

McClelland AJ, Hardy WD, Jr., Zuckerman EE. Prognosis of healthy feline leukemia virus infected cats. *Cancer Res* 1980; 4: 121-6.

Miller AD, Miller DG, Garcia JV, Lynch CM. Use of retroviral vectors for gene transfer and expression. *Methods Enzymol* 1993; 217: 581-99.

Miura T, Tsujimoto H, Fukasawa M, Kodama T, Shibuya M, Hasegawa A, Hayami M. Structural abnormality and over-expression of the myc gene in feline leukemias. *Int J Cancer* 1987; 40: 564-9.

Mullins JI, Brody DS, Binari RC, Jr., Cotter SM. Viral transduction of c-myc gene in naturally occurring feline leukaemias. *Nature* 1984; 308: 856-8.

Nakata R, Miyazawa T, Shin YS, Watanabe R, Mikami T, Matsuura Y. Reevaluation of host ranges of feline leukemia virus subgroups. *Microbes Infect* 2003; 5: 947-50.

Neil JC, Hughes D, McFarlane R, Wilkie NM, Onions DE, Lees G, Jarrett O. Transduction and rearrangement of the myc gene by feline leukaemia virus in naturally occurring T-cell leukaemias. *Nature* 1984; 308: 814-20.

Neil JC, Fulton R, Rigby M, Stewart M. Feline leukaemia virus: generation of pathogenic and oncogenic variants. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991; 171: 67-93.

Ogilvie GK, Tompkins MB, Tompkins WA. Clinical and immunologic aspects of FeLV-induced immunosuppression. *Vet Microbiol* 1988; 17: 287-96.

Onions D, Jarrett O, Testa N, Frassoni F, Toth S. Selective effect of feline leukaemia virus on early erythroid precursors. *Nature* 1982; 296: 156-8.

Overbaugh J, Riedel N, Hoover EA, Mullins JI. Transduction of endogenous envelope genes by feline leukaemia virus in vitro. *Nature* 1988a; 332: 731-4.

Overbaugh J, Donahue PR, Quackenbush SL, Hoover EA, Mullins JI. Molecular cloning of a feline leukemia virus that induces fatal immunodeficiency disease in cats. *Science* 1988b; 239: 906-10.

Pacitti AM, Jarrett O. Duration of the latent state in feline leukaemia virus infections. *Vet Rec* 1985; 117: 472-4.

Pacitti AM, Jarrett O, Hay D. Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. *Vet Rec* 1986; 118: 381-4.

Pedersen N, Meric SM, Ho E. The clinical significance of latent feline leukemia virus infection in cats. *Feline Pract* 1984; 14: 32-48.

Pedersen NC, Theilen G, Keane MA, Fairbanks L, Mason T, Orser B, Che CH, Allison C. Studies of naturally transmitted feline leukemia virus infection. *Am J Vet Res* 1977; 38: 1523-31.

Pedersen NC. Feline retrovirus infections. *Dev Biol Stand* 1990; 72: 149-55.

Pepin AC, Tandon R, Cattori V, Niederer E, Riond B, Willi B, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Cellular segregation of feline leukemia provirus and viral RNA in leukocyte subsets of long-term experimentally infected cats. *Virus Res* 2007; 127: 9-16.

Phipps AJ, Hayes KA, Al-dubaib M, Roy-Burman P, Mathes LE. Inhibition of feline leukemia virus subgroup A infection by coinoculation with subgroup B. *Virology* 2000; 277: 40-7.

Post JE, Warren L. Reactivation of latent feline leukemia virus. In: *Feline Leukemia Virus*. Hardy WD, Jr., Essex M, McClelland AJ, eds. New York: Elsevier North Holland Inc. 1980: 151-5.

Reinacher M. Diseases associated with spontaneous feline leukemia virus (FeLV) infection in cats. *Vet Immunol Immunopathol* 1989; 21: 85-95.

Reinacher M, Wittmer G, Koberstein H, Failing K. [The significance of FeLV infection for diseases in necropsied cats]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1995; 108: 58-60.

Riedel N, Hoover EA, Gasper PW, Nicolson MO, Mullins JI. Molecular analysis and pathogenesis of the feline aplastic anemia retrovirus, feline leukemia virus C-Sarma. *J Virol* 1986; 60: 242-50.

Rigby MA, Rojko JL, Stewart MA, Kociba GJ, Cheney CM, Rezanka LJ, Mathes LE, Hartke JR, Jarrett O, Neil JC. Partial dissociation of subgroup C phenotype and in vivo behaviour in feline leukaemia viruses with chimeric envelope genes. *J Gen Virol* 1992; 73: 2839-47.

Rojko J, Essex M, Trainin Z. Feline leukemia/sarcoma viruses and immunodeficiency. *Adv Vet Sci Comp Med* 1988; 32: 57-96.

Rojko J, Hardy WD. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: *The Cat: Diseases and Clinical Management* Sherding G, ed. New York: Churchill Livingstone 1994: 263-432.

Rojko JL, Hoover EA, Mathes LE, Olsen RG, Schaller JP. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. *J Natl Cancer Inst* 1979; 63: 759-68.

Rojko JL, Hoover EA, Quackenbush SL, Olsen RG. Reactivation of latent feline leukaemia virus infection. *Nature* 1982; 298: 385-8.

Romatowski J, Lubkin SR. Use of an epidemiologic model to evaluate feline leukemia virus control measures. *Feline Pract* 1997; 25: 6-11.

Roy-Burman P. Endogenous env elements: partners in generation of pathogenic feline leukemia viruses. *Virus Genes* 1995; 11: 147-61.

Russell PH, Jarrett O. An improved assay for feline leukaemia virus pseudotypes of murine sarcoma virus. *J Gen Virol* 1976; 31: 139-43.

Sarma PS, Log T. Subgroup classification of feline leukemia and sarcoma viruses by viral interference and neutralization tests. *Virology* 1973; 54: 160-9.

Sarma PS, Log T, Jain D, Hill PR, Huebner RJ. Differential host range of viruses of feline leukemia-sarcoma complex. *Virology* 1975; 64: 438-46.

Sarma PS, Log T, Skuntz S, Krishnan S, Burkley K. Experimental horizontal transmission of feline leukemia viruses of subgroups A, B, and C. *J Natl Cancer Inst* 1978; 60: 871-4.

Shelton GH, Linenberger ML. Hematologic abnormalities associated with retroviral infections in the cat. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1995; 10: 220-33.

Snyder SP, Theilen GH. Transmissible feline fibrosarcoma. *Nature* 1969; 221: 1074-5.

Solano-Gallego L, Hegarty B, Espada Y, Llull J, Breitschwerdt E. Serological and molecular evidence of exposure to arthropod-borne organisms in cats from northeastern Spain. *Vet Microbiol* 2006; 118: 274-7.

Sparkes AH. Feline leukaemia virus and vaccination. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 97-100.

Stephenson JR, Khan AS, Sliski AH, Essex M. Feline oncornavirus-associated cell membrane antigen: evidence for an immunologically crossreactive feline sarcoma virus-coded protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74: 5608-12.

Stewart MA, Warnock M, Wheeler A, Wilkie N, Mullins JI, Onions DE, Neil JC. Nucleotide sequences of a feline leukemia virus subgroup A envelope gene and long terminal repeat and evidence for the recombinational origin of subgroup B viruses. *J Virol* 1986; 58: 825-34.

Stutzer B, Muller F, Majzoub M, Lutz H, Greene CE, Hermanns W, Hartmann K. Role of latent feline leukemia virus infection in nonregenerative cytopenias of cats. *J Vet Intern Med* 2009; 24: 192-7.

Stutzer B, Simon K, Lutz H, Majzoub M, Hermanns W, Hirschberger J, Sauter-Louis C, Hartmann K. Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia

virus infection in cats with lymphoma. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 81-7.

Swenson CL, Kociba GJ, Mathes LE, Hand PJ, Neer CA, Hayes KA, Olsen RG. Prevalence of disease in nonviremic cats previously exposed to feline leukemia virus. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 1049-52.

Takeuchi Y, Vile RG, Simpson G, O'Hara B, Collins MK, Weiss RA. Feline leukemia virus subgroup B uses the same cell surface receptor as gibbon ape leukemia virus. *J Virol* 1992; 66: 1219-22.

Tandon R, Cattori V, Gomes-Keller MA, Meli ML, Golder MC, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2005; 130: 124-32.

Tandon R, Cattori V, Willi B, Meli ML, Gomes-Keller MA, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Copy number polymorphism of endogenous feline leukemia virus-like sequences. *Mol Cell Probes* 2007; 21: 257-66.

Tandon R, Cattori V, Pepin AC, Riond B, Meli ML, McDonald M, Doherr MG, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Association between endogenous feline leukemia virus loads and exogenous feline leukemia virus infection in domestic cats. *Virus Res* 2008; 135: 136-43.

Testa NG, Orions DE, Lord BI. A feline model for the myelodysplastic syndrome: pre-leukaemic abnormalities caused in cats by infection with a new isolate of feline leukaemia virus (FeLV), AB/GM1. *Haematologica* 1988; 73: 317-20.

Torres AN, Mathiason CK, Hoover EA. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology* 2005; 332: 272-83.

Torres AN, O'Halloran KP, Larson LJ, Schultz RD, Hoover EA. Development and application of a quantitative real-time PCR assay to detect feline leukemia virus

RNA. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 81-9.

Torres AN, O'Hallorant, K. P., Larson, L., Schultz, R. D., Hoover, E. A. (2006) Insight into FeLV: host relationship using real-time DNA and RNA qPCR. In: 8th International Feline Retrovirus Research Symposium, Washington DC. 50

Toth SR, Onions DE, Jarrett O. Histopathological and hematological findings in myeloid leukemia induced by a new feline leukemia virus isolate. *Vet Pathol* 1986; 23: 462-70.

Tsatsanis C, Fulton R, Nishigaki K, Tsujimoto H, Levy L, Terry A, Spandidos D, Onions D, Neil JC. Genetic determinants of feline leukemia virus-induced lymphoid tumors: patterns of proviral insertion and gene rearrangement. *J Virol* 1994; 68: 8296-303.

Tzavaras T, Stewart M, McDougall A, Fulton R, Testa N, Onions DE, Neil JC. Molecular cloning and characterization of a defective recombinant feline leukaemia virus associated with myeloid leukaemia. *J Gen Virol* 1990; 71: 343-54.

Ueland K, Lutz H. Prevalence of feline leukemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in Norway. *Zentralbl Veterinarmed B* 1992; 39: 53-8.

Weijer K, Uytdehaag FG, Osterhaus AD. Control of feline leukaemia virus. *Vet Immunol Immunopathol* 1989; 21: 69-83.

Wellman ML, Kociba GJ, Mathes LE, Olsen RG. Suppression of feline bone marrow fibroblast colony-forming units by feline leukemia virus. *Am J Vet Res* 1988; 49: 227-30.

Yilmaz H, Ilgaz A, Harbour DA. Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. *J Feline Med Surg* 2000; 2: 69-70.

Young NS, Abkowitz JL, Luzzatto L. New Insights into the Pathophysiology of Acquired Cytopenias. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2000: 18-38.

VIII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich herzlich bei meiner Doktormutter **Frau Univ.-Prof. Dr. med. vet Katrin Hartmann** für die Bereitstellung dieses interessanten Themas sowie die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit bedanken.

Desweiteren gilt mein Dank **Herrn Prof. Dr. med. vet. Hans Lutz**, der es mir ermöglichte, die umfangreichen Laborarbeiten in seinem Hause durchzuführen, sowie **seinen Mitarbeitern**, die mich bei der Einarbeitung in die Methode der PCR unterstützten.

Ich möchte mich bei **allen meinen Freunden und Kollegen** aus der Zeit meiner Arbeit an der Medizinischen Kleintierklinik für die Unterstützung beim Probensammeln bedanken. Die Arbeit in der MTK hat mir großen Spaß gemacht, was neben den interessanten Tätigkeiten vor allem auch dem großartigen Team zu verdanken ist.

Besonders möchte ich **Frau Dr. med. vet. Carola Sauter-Louis** für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten danken.

Mein größter Dank gilt **meiner Familie**, die ich über alles liebe. Mein gesamtes Leben schon steht sie mir in guten wie in schlechten, in glücklichen wie in traurigen Tagen mit Rat und Tat zur Seite. Ich weiß, dass ich mich immer auf sie verlassen kann und bin froh und glücklich, dass ich in dieser Familie aufwachsen durfte. Ihre bedingungslose Liebe ist für mich immer ein großer Halt.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei **meiner lieben Bianca**. Vor nun schon über zehn Jahren ist sie mir zu meiner besten Freundin geworden. Wir haben zusammen alle Hürden des Studiums genommen und uns gegenseitig bei der Doktorarbeit sowie im übrigen Leben seelisch und moralisch unterstützt.

Als letztes gilt mein Dank **Mama, Papa, Julia und Bianca** dafür, dass sie diese Arbeit Korrektur gelesen haben sowie **Jürgen** für die zahlreichen Formatierungsarbeiten.