



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Diagnostisering av vingelsjuka – metoder och utmaningar

Ida Josefsson

*Uppsala
2017*

Diagnostisering av vingelsjuka – metoder och utmaningar

Diagnosing staggering disease – methods and challenges

Ida Josefsson

Handledare: Mikael Berg, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:44

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Vingelsjuka, Bornavirus, Katt, Diagnostik

Keywords: Staggering disease, Borna virus, Cat, Diagnostics

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	3
Epidemiologi	4
Sjukdomsutveckling	5
Symtombild	5
Histologisk undersökning	5
Serologi	6
Polymerase chain reaction (PCR)	7
Metagenomik	7
Proximity ligation assay (PLA)	8
Behandling	8
DISKUSSION	9
LITTERATURFÖRTECKNING	11

SAMMANFATTNING

Vingelsjuka hos katt leder till en non-suppurativ meningoencefalomyelit med symtom som vinglighet, nedsatta reflexer och beteendeförändringar. Kopplingen mellan sjukdomen och det neurotrofa bornaviruset BoDV bevisades i mitten på 90-talet, men viruset var känt sedan innan i Centraleuropa där det orsakar neurologisk sjukdom hos bland annat häst och får. Det är framför allt utekatter som drabbas vilket misstänks bero på att viruset sprids via smådjur som näbbmöss och fåglar men epidemiologin, liksom många andra områden inom sjukdomen, är inte helt utredd ännu.

Den här litteraturstudien beskriver tillgängliga metoder för att diagnostisera vingelsjuka, både nyligen framtagna och mer rutinmässigt använda, samt diskuterar dess utmaningar.

Ante-mortem finns det i dagsläget ingen säker metod för att diagnostisera vingelsjuka då viruset persisterar i centrala nervsystemet och därmed är svårt att detektera. Ägarens beskrivning av historia samt symtombild kan dock ge en stark misstanke som kan stärkas ytterligare med hjälp av serologi och RT-PCR. Problemet vid diagnostik är att seroprevalensen bland friska individer varierar och har i Mälardalen, det område i Sverige där sjukdomen är vanligast, visat sig vara ca 16%. Studier har även visat att sjuka individer kan vara seronegativa. Detta betyder att serologi med hjälp av till exempel ELISA eller IFA kan leda till både falska positiva och falska negativa resultat. Det finns flera möjliga förklaringar till det, bland annat att viruset eventuellt kan spridas vertikalt från modern till kattungarna som då blir persistent infekterade och utsöndrar virus. En annan förklaring kan vara att helt andra virus som ännu ej upptäckts har inflytande på sjukdomen. Vid obduktion kan histologi bekräfta diagnosen och det finns även tillgång till mer provmaterial såsom hjärnvävnad samt olfaktoriskt epitel.

Sedan aviära bornavirus upptäcktes år 2008 har man insett att det kan finnas mer variation inom virusfamiljen än man tidigare trodde. Det kan försvåra diagnostik med konventionell PCR där det behövs en förbestämd frågeställning. Nyare metoder som är bredare och kan detektera virus utan förkunskap om vilket som finns i provet kan i framtiden vara hjälpsamma för att ge en större inblick i sjukdomens egenskaper. Exempel på sådana metoder är pan-viral microarray och metagenomik. Dock bör man ha i åtanke att metoder som ska vara praktiska i rutindiagnostik inte kan vara för avancerade.

SUMMARY

Staggering disease in cats leads to a non-suppurative meningoencephalomyelitis with clinical signs like gait abnormalities, decreased postural reactions and behavioural alterations. The link between the disease and the neurotropic bornavirus BoDV was found in the mid-90s, but BoDV was known before that as it causes neurological disease in horses and sheep of Central Europe. Mainly cats with outdoor access are affected by staggering disease, which probably is due to the virus being spread by small animals in the wild such as rodents and birds. Although the epidemiology is one of many aspects of the disease that needs to be further investigated for us to fully understand it.

This review describes available methods for diagnosing staggering disease, both novel and more routinely used, and evaluates their challenges.

There is currently no fully reliable method for diagnosing staggering disease in the living cat since it persists in the CNS. The owner's description of history and clinical signs can be enough to suspect the disease. Serology and RT-PCR can further confirm the diagnosis. The problem is that the seroprevalence among healthy animals varies and have for example been estimated to be 16% in the area in Sweden where the disease is endemic. However, studies have also shown that sick cats can be seronegative. This means that serology using for example ELISA and IFA can result in both false negative and false positive results. There are multiple possible reasons for this, including that the virus might be able to transmit vertically from the mother to her kittens resulting in a life-long persistence and virus shedding. Another explanation could be that currently undiscovered viruses have an impact on the disease. Post-mortem histology can confirm the diagnosis, also additional tissues such as brain tissue and olfactory epithelium can be examined.

Since the avian bornaviruses were discovered in 2008 we have reasons to suspect that bornaviruses are more diverse than previously assumed. This can make diagnostics using conventional PCR difficult since it may fail to detect viral RNA. Novel methods with a wider spectrum and the ability to detect new viruses could in the future be helpful at providing knowledge of staggering disease. Pan-viral microarray and metagenomics are examples of these methods. Although, for a method to be of practical use in routine diagnostics it cannot be too advanced.

INLEDNING

Vingelsjuka hos katt orsakas av borna disease virus (BoDV) som är ett neurotropt virus och tillhör *Bornaviridae*, en familj med negativa enkelsträngade RNA-virus. Viruset sprids troligen via vektorer som smågnagare och fåglar till ett brett spektrum av värdar (Kinnunen and Wensman, 2016). Det var hos hästar i Tyskland som viruset först upptäcktes i början på 1920-talet, men redan långt innan detta visste man om att den neurologiska sjukdomen fanns. I mitten på 90-talet kunde man för första gången isolera viruset hos katt i samband med en redan känd neurologisk sjukdom. De sjuka katterna får en non-suppurativ meningoencefalomyelit med symtom som beteendeförändringar, nedsatta reflexer och vinglighet, därav namnet vingelsjuka (Lundgren *et al.*, 1995).

Det finns just nu ingen metod för att rutinmässigt säkerställa diagnosen vingelsjuka hos levande katter då det är en persistent infektion som håller sig inom CNS, vilket försvårar detektion av virus-RNA och antikroppar. Istället använder man sig av bakgrundsinformation från djurägare och sjukdomssymtom för att utesluta andra agens. Efter avlivning kan man sedan bekräfta diagnosen med hjälp av histologi, samt olika metoder för detektion av BoDV-RNA och/eller BoDV specifika proteiner. Det finns studier som utreder diverse förslag på immunosupprimerande och antivirala behandlingar mot vingelsjuka, men de brister i information vad det gäller relevansen för naturligt infekterade katter. I de flesta fall sätts ingen behandling in utan drabbade katter avlivs eftersom sjukdomen annars har dödlig utgång (Wensman *et al.*, 2012, 2014).

Den här litteraturstudien syftar till att beskriva metoder som finns för diagnostisering av vingelsjuka hos katt, både ante-mortem och post-mortem. Arbetet tar upp vilka metoder och provmaterial som finns tillgängliga, vad man kan stöta på för svårigheter vid diagnostik och vad det finns för framtida möjligheter för diagnostiken att förbättras. Bra diagnostik är viktigt för att bland annat förstå en sjukdoms epidemiologi och patogenes, men även för att kunna utveckla effektiva behandlingar och därmed förbättra levnadsstandarden för drabbade patienter.

MATERIAL OCH METODER

Databaserna PubMed och Web of Science har använts för att söka efter artiklar till den här litteraturstudien. Sökorden som användes var *Bornaviridae* OR "borna disease" OR "staggering disease" AND cat OR cats OR feline AND diagnos* OR detect*. Därefter användes referenserna i de artiklar som fanns bland sökresultaten för att hitta relevant litteratur.

LITTERATURÖVERSIKT

Neurologisk sjukdom hos katt med ataxi och en non-suppurativ meningoencefalomyelit som leder till döden har varit känd sedan 70-talet (Kronevi *et al.*, 1974). Det var dock först på mitten av 90-talet som sjukdomen kunde kopplas till ett faktiskt agens, som redan fanns beskrivet hos bland annat hästar och får i Centraleuropa med liknande symtom: Bornavirus (Lundgren *et al.*, 1995). Bornavirus är negativa enkelsträngade RNA-virus med hölje (Cubitt & de la Torre, 1994). Den variant som orsakar vingelsjuka hos katt, Borna disease virus (BoDV), tillhör

species Mammalian 1 Bornavirus som fram till nyligen ansågs vara den enda medlemmen i genus Bornavirus och familjen *Bornaviridae*. År 2015 publicerades dock ett nytt förslag på organisation inom genuset där nya species presenterades vilket ledde till att genus Bornavirus numera består av sju species. Virus med fåglar som värd vilka tidigare benämns aviära bornavirus (ABV) identifieras därmed som egna species (Kuhn *et al.*, 2015). I samma artikel förklarades att det finns två genotyper av BoDV: BoDV-1 som de flesta isolat tillhör och BoDV-2 som endast består av ett isolat från häst tidigare kallat No/98 med ett genom som skiljer sig mycket från andra BoDV.

Epidemiologi

Det är fortfarande mycket inom epidemiologin för vingelsjuka hos katt som inte är helt utrett, även om forskningen har gått framåt de senaste åren. Det är framför allt i Europa som BoDV-viruspartiklar kunnat isoleras, dock har indirekta metoder kunnat påträffa bland annat antikroppar och RNA på platser över hela världen. Även de aviära formerna verkar vara spridda över stora delar av världen (Kinnunen *et al.*, 2013). I Sverige har vingelsjuka framför allt setts hos katter runt Mälardalen, men misstänka fall inkommer även i andra delar av landet (Wensman *et al.*, 2008). Viruset verkar ej spridas från katt till katt, utan mycket tyder istället på att mindre djur såsom möss och fåglar kan vara vektorer och sprida viruset till katter som vistas i miljöer där dessa djur finns (Kinnunen *et al.*, 2013). En riskfaktor för vingelsjuka är just utevistelse, då nästan enbart utekatter med möjlighet att jaga drabbas (Berg *et al.*, 1998). I en nyligen genomförd studie av Nobach *et al.* (2015) fann man infektiösa BoDV-1 i saliv, urin, nosflöde och feces hos *Crocidura leucodon* som är en art av näbbmus. Vad det gäller fåglar har man med hjälp av RT-PCR kunnat hitta BoDV-RNA i feces från gräsand och kaja (Berg *et al.*, 2001). Eftersom det har hittats seropositiva katter yngre än 1 år har det, förutom den horisontella överföringen via vektorer, föreslagits att BoDV även kan spridas vertikalt från modern till kattungarna. De blir då persistent infekterade och utsöndrar virus (Someya *et al.*, 2014).

Förutom hos katt orsakar BoDV även sjukdom hos framför allt häst och får, men viruset har även detekterats hos bland annat hund och nöt med neurologiska symtom (Dürwald *et al.*, 2014). År 1999 sköts en lodjurshane i Sverige med neurologiska symtom. Han verkade inte vara medveten om sin omgivning och rörde inte på sig när han hittades. Efter obduktion kunde man se att lodjuret hade samma histologiska bild i hjärnan som katter drabbade av vingelsjuka, och med hjälp av immunohistokemi och RT-PCR kunde det fastställas att lodjuret var infekterat av Bornavirus (Degiorgis *et al.*, 2000). BoDV har dessutom föreslagits ha betydelse för neuropsykiatrisk sjukdom hos människa, och flera studier har med hjälp av serologi och RT-PCR kunnat visa att viruset är vanligare hos sjuka än hos kontrollgrupper (Rott *et al.*, 1985). Dock har studierna kritiserats för PCR-kontaminering och för att ha använt ospecifika serologiska metoder, så det behövs fortfarande studier för att fastställa den verkliga betydelsen av BoDV hos människa (Kinnunen & Wensman, 2016). Däremot har en variant av viruset (variegated squirrel 1 bornavirus, VSBV-1) kunnat påvisats vid tre tyska fall där uppfödare av ekorrar dött av encefalit. En av männen hade varit i kontakt med en ekorre där VSBV-1 kunde isoleras och därför misstänks det att VSBV-1 har denna art av ekorre som reservoar samt har vissa zoonotiska egenskaper (Hoffman *et al.*, 2015).

Sjukdomsutveckling

Viruset infekterar näshålans mukosa och kan därigenom replikera i det olfaktoriska epitelets cellkärnor (Sauder & Staeheli, 2003). Det har inte hittats några hölje-försedda viruspartiklar i centrala nervsystemet vilket tyder på att det är endast nukleokapsiden som sedan färdas via nervceller till hjärna och ryggmärg (Gosztanyi, 2008). Inkubationstiden är ej fastställd men det har visats att experimentellt infekterade katter kan börja visa symtom efter två veckor, dock kan det även dröja upp till ett par månader (Lundgren *et al.*, 1997). I hjärnan startas ett T-cellsmedierat immunsvaret med höga nivåer av interferon- γ som stimulerar bekämpningen av infekterade celler. Dock har BoDV-1 metoder för att undkomma detta immunsvaret. Det finns beskrivna fall med djur som har kraftiga inflammatoriska förändringar utan att visa några symtom och även fall utan något inflammatoriskt svar, vilket kan tyda på att andra faktorer spelar roll vid uppvisandet av kliniska symtom (Wensman *et al.*, 2012, 2014).

Symtombild

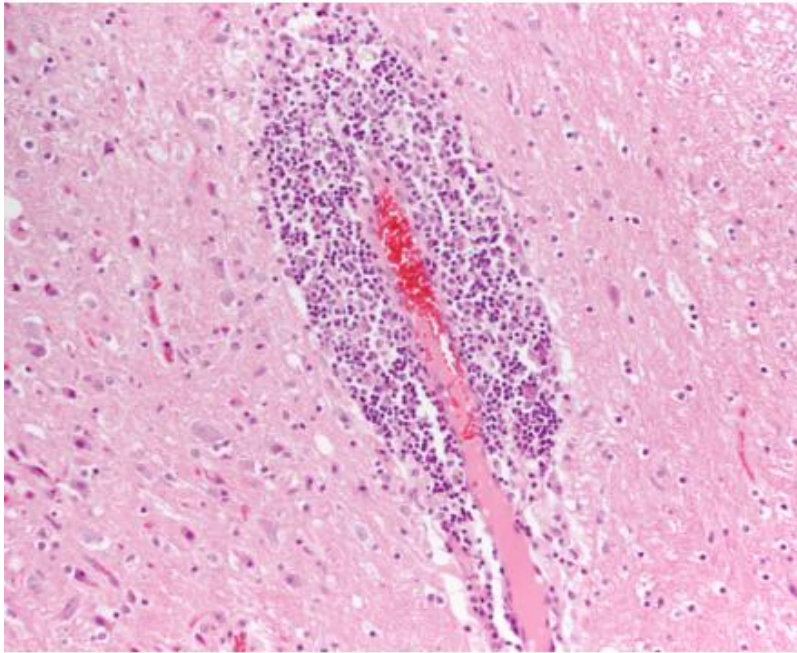
De katter som kommer in till en veterinärklinik med vingelsjuka har neurologiska symtom och visar framför allt stel, ostadig gång samt nedsatta posturala reflexer. Även hotreflexen är nedsatt trots att de fortfarande verkar känna smärta. I många fall ses även beteendeförändringar, smärta vid palpation av ländrygg, oförmåga att dra in klorna och dilaterade pupiller (Wensman *et al.*, 2014, *Appendix A, supplementary material*). Katterna är mer eller mindre dämpade och kan ha allmänna sjukdomstecken som feber, minskad aptit och förstoppning (Lundgren, 1992; Wensman *et al.*, 2012).

Om sjukdomen får fortgå leder det till bakbensparalys och död (Lutz *et al.*, 2015). Vid de flesta fall av vingelsjuka avlivas dock katten, av djurskyddsskäl, inom en månad från att symtomen startade (Wensman *et al.*, 2012).

Manifestation av dessa symtom är inte tillräckligt för att säkerhetsställa diagnosen vingelsjuka då de kan uppkomma även vid andra såsom till exempel fästingburet encefalitvirus (TBEV). Något som dock skiljer vad det gäller vingelsjuka är att katterna ej har vissa andra symptom som till exempel ansiktsförflamning och epileptiska anfall, vilket man brukar kunna se vid neurologiska sjukdomar (Penderis, 2009).

Histologisk undersökning

Vid histologisk undersökning ser man vanligtvis en non-suppurativ meningoencefalomyelit lokaliserad till gråa substansen av hjärnstammen, bulbus olfactorius, hjärnbarken, hippocampus, och/eller de basala ganglierna (Lundgren, 1992; Wensman *et al.*, 2012). I vissa fall har även inflammation av bukganglierna påträffats (Wensman *et al.*, 2012). Lymfocyter med inslag av plasmaceller och makrofager dominerar inflammationen och bildar manschetter runt blodkärl, så kallad perivascular cuffing (figur 1). Viss degeneration av nervceller kan ses. I en studie av Wensman *et al.* (2012) noterades ett samband mellan svårighetsgrad av förändringarna och tiden från att symtomen startade; de som hade haft symtom en längre tid hade även värre förändringar på nervsystemet. Dock sågs inget samband mellan hur allvarliga symtomen var och svårighetsgraden av förändringar.



Figur 1. Perivascular manchett med mononukleära celler i hjärnvävnad från katt med vingelsjuka. HE-färgning. Foto: Gete Hestvik.

Serologi

I en svensk studie från 2012 (Wensman *et al.*) studerades 19 katter som passade in på vingelsjuka både på kliniska symtom och histologiska fynd för att undersöka markörer för sjukdomen. De testade katterna för BoDV-antikroppar med hjälp av indirect immunofluorescens assay (IFA) och fick resultatet att 16 (81%) av katterna var seropositiva, vilket kan jämföras med den friska kontrollgruppen där 16% var seropositiva. Detta betyder således att alla sjuka katter ej har detekterbara nivåer av antikroppar samtidigt som det finns seropositiva katter utan symtom, något som försvårar diagnostiken.

Vad det gäller serologi kan även enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA) användas för att detektera BoDV-specifika antikroppar eller antigen i serum. Det finns bland annat en utvecklad ELISA som kan detektera immunkomplex i serum (Bode *et al.*, 2001). ELISA har använts som hjälpmedel i flera studier som undersökt vingelsjuka, bland annat i Sverige (Lundgren *et al.*, 1995). Den studien drog dock slutsatsen att det var mindre nivåer av antigen i prover tagna från katt jämfört med häst vilket kan tyda på att sjukdomen är svårare att diagnostisera hos katt med denna metod. Nivåer av antikroppar, påvisade med både ELISA och IFA, har visat sig vara högre hos experimentellt infekterade katter än naturligt infekterade katter (Johansson *et al.*, 2002).

Även cerebrospinalvätska kan undersökas med ELISA och IFA för att se huruvida ett djur är seropositivt eller ej. Hos häst är detta ett mycket specifikt men ej sensitivt test vilket betyder att risken för falska negativa svar är stor om endast den metoden används (Ludwig & Theinn, 1977). Hos katt har man i ett försök med naturligt infekterade djur fått resultatet 38% positiva för BoDV-specifika antikroppar. Eftersom misstankar finns om att denna metod inte är sensitiv även hos katt kan man ana att fler än dessa katter var infekterade (Johansson *et al.*, 2002).

Polymerase chain reaction (PCR)

PCR används för att amplifiera en viss sekvens av DNA till exempel då ett smittämne ska identifieras. Primers fäster på specifika platser på DNA och sekvensen replikeras i cykler av temperaturväxlingar som gör att miljarder av kopior kan erhållas. Dessa kan färgas in med fluorescerande färg och därmed kan smittämnet spåras. Numera kan dock resultatet med hjälp av real-tids PCR läsas av direkt i diagram på en dator. För att PCR ska kunna användas för att analysera prov med RNA virus behöver först RNA omvandlas till en kompletterande DNA-sträng (cDNA). Detta sker via omvänd transkription och därefter kan cDNA användas för att utföra real-tids PCR som då benämns som rRT-PCR (Bustin & Mueller, 2005). Konventionell PCR fungerar dock endast om just det smittämnet som söks finns i provet som testas. Bornavirus anses generellt vara konserverade, men det finns även stammen No/98 som skiljer sig mycket från de andra BoDV stammarna och det finns dessutom studier som pekar på diversitet bland aviära bornavirus (Honkavuori *et al.*, 2008; Kistler *et al.*, 2008). Denna diversitet kan betyda att det är svårare att upptäcka virus med konventionell RT-PCR.

I samma studie som beskrivits ovan (Wensman *et al.*, 2012) användes en optimerad rRT-PCR för att studera uttryck av specifika gener och därmed leta efter BoDV RNA. Denna rRT-PCR presenterades i Wensman *et al.* (2007) och beskrivs där på sidan 2 som ”a new, rapid, sensitive and specific duplex, one-step rRT-PCR for the simultaneous detection and quantification of the p24 and the L polymerase genes of BDV”. Problemen med PCR som använts i tidigare studier är svårigheter vid kvantifiering samt att processen tar längre tid och har större risk för kontaminering menar Wensman *et al.* Hos de 19 katterna som undersöktes i studien från 2012 gjordes testet på serum, blod, urin och vävnad som togs vid obduktion samt prov från konjunktiva, näshåla och anal. Hos 11/19 katter (58%) kunde man hitta BoDV RNA, framförallt i blod och olfaktoriskt epitel. Totalt hade därmed 17/19 katter i studien någon markör, antingen BoDV-specifika antikroppar eller BoDV RNA.

En metod som används bland annat för att upptäcka nya virus är pan-viral microarray där ingen kunskap om vilket virus provet innehåller behövs utan det testas för alla kända virus. Det fungerar som en variant av PCR fast med tiotusentals olika primers och kan därigenom representera alla kända virus. Metoden kan bli mer specifik om man väljer ut ett spektrum av primers, till exempel de som tillhör en viss virusfamilj. Med hjälp av komplicerade algoritmer och statistiska metoder kan då nya virus identifieras (Chen *et al.*, 2011). Pan-viral microarray användes vid identifiering av aviärt bornavirus i samband med arasjuka (proventricular dilatation disease, PDD), en dödlig sjukdom som drabbar papegoj fåglar. Prover samlades in från två separata fallserier på två kontinenter och med hjälp av pan-viral microarray kunde Bornavirus påvisas hos 62,5% av de drabbade fåglarna, jämfört med ingen i den friska kontrollgruppen. Detta bekräftades sedan med RT-PCR och numera finns det flera species av aviärt bornavirus beskrivna inom *Bornaviridae* (Kistler *et al.*, 2008; Kuhn *et al.*, 2015).

Metagenomik

Med metagenomik kan ett komplext prov med många agens analyseras, bland annat virus. Andra tester är ofta baserade på en gen (till exempel 16s rRNA), men den här metoden kollar på alla gener i provet. Efter storskalig sekvensering jämförs resultatet med en referensdatabas och sekvenserna sorteras in i grupper beroende på likheter med andra organismer. Liksom vid

pan-viral microarray används även vid metagenomik komplicerad bioinformatik med algoritmer och statistiska metoder. Detta gör att man kan finna virus eller andra agens som inte hade förutsetts, samt detektera nya. Metagenomik är en relativt ny metod som antagligen kommer fortsätta att växa i framtiden och bli mer tillgänglig samt användarvänlig som standardmetod i laboratorier (Thomas *et al.*, 2012).

Proximity ligation assay (PLA)

PLA, eller närhetsligerering, används *in situ* i vävnader för att undersöka enstaka proteiner eller proteiner som interagerar med varandra. Antikroppar tillsätts och fäster på båda proteinerna som interagerar med varandra. På antikropparna finns DNA-sekvenser som kan kopplas samman då antikropparna kommer nära varandra. Sekvenserna fungerar likt primers och kan syntetisera cirkulärt DNA som sedan amplifieras, märks ut med en fluorescerande komponent och läses av. Om det är ett ensamt protein som ska detekteras binder de två antikropparna istället till två olika epitoper på samma protein och kommer på så sätt tillräckligt nära varandra för att syntetisera DNA (Söderberg *et al.*, 2008). För bornavirus betyder det i praktiken att man kan hitta enstaka virusproteiner samt virusproteiner som interagerar med värdens proteiner i hjärnvävnad och i persistent infekterade celler i serum. Jämfört med immunohistokemi ger denna metod ökad sensitivitet och kan vara ett bra komplement i de fall då immunohistokemi ej räcker till för diagnostik (Wensman *et al.*, 2016).

Behandling

Det finns idag inget vaccin eller annan profylax för att förebygga vingelsjuka. En riskfaktor som skulle kunna undvikas är utevistelse för katter i endemiska områden, dock bör man tänka på att utevistelse är en viktig del för många katters välfärd och därför väga fördelarna mot riskerna (Lutz *et al.*, 2015).

För att behandla vingelsjuka har kortikosteroider använts för att dämpa inflammationen och därmed symtomen som kommer på grund av den. Problemet med kortikosteroider är att de kan leda till ökad virusreplikation, trots detta verkar behandlingen ge goda resultat om den sätts in i tidigt skede (Berg, 1999). Två antivirala läkemedel som har använts mot bornavirus är ribavirin och amantadin. Ribavirin har visat goda resultat i cellkulturer (Jordan *et al.*, 1999) och experimentellt infekterade djur (Solbrig *et al.*, 2002), dock är det ännu oklart hur stor effekten är hos naturligt infekterade djur. Amantadin har däremot använts för att behandla naturligt infekterade djur, trots att den faktiska effekten har ifrågasatts (Cubitt & de la Torre, 1997; Dietrich *et al.*, 2000). Mer nyligen har cannaboider visat sig ha positiv inverkan på nervsystemet hos experimentellt infekterade möss, men relevansen av detta för naturligt infekterade djur är ännu ej fastställd (Solbrig *et al.*, 2013).

Understödjande behandling bör ges till katter i akut stadie av vingelsjuka (Kinnunen & Wensman, 2016).

DISKUSSION

Bland de diagnostiseringsmetoder som beskrivits ovan finns för närvarande ingen enskild som kan ge ett säkert svar på om en sjuk katt har vingelsjuka. Djurägarens beskrivning av historia samt kliniska symtom, det vill säga att det är en utekatt som vistats i ett endemiskt område och nu uppvisar vinglig gång, beteendeförändringar och nedsatta reflexer kan för kliniker ge en stark misstanke. Serologi (ELISA eller IFA) kan sedan ge en starkare misstanke vid påvisande av BoDV specifika proteiner. Dock bör man ha i åtanke att katter kan vara seronegativa men ändå vara infekterade, samt att relativt höga seroprevalenser bland friska individer har iakttagits. ELISA eller IFA av cerebrospinalvätska kan vara en mer specifik metod för att söka efter antikroppar, men detta ökar även risken för falska negativa svar (Wensman *et al.*, 2012).

För att minska risken för kontaminering som annars associerats till PCR kan den optimerade rRT-PCR som beskrivs i Wensman *et al.* (2007) användas. Detta kan framför allt vara en bra metod att utföra post-mortem då det finns tillgång till fler provmaterial från till exempel olfaktoriskt epitel och hjärna. Ante-mortem kan man utföra rRT-PCR på blod och därmed söka efter virus-RNA, dock kan man ej detektera virus-RNA i blodet hos alla infekterade individer. Hos häst och får har man förutom i blod kunnat hitta RNA i saliv, nos- och ögonvätskor. I studien Wensman *et al.* (2012) fann man dock att inga av de deltagande katterna var positiva för RNA i dessa kroppsvätskor. En egen reflektion är att det kan bero på att proverna togs i samband med avlivning vilket kanske inte representerar rätt tidpunkt för att hitta virus i kroppsvätskorna. Det behövs fler studier för att undersöka huruvida man kan använda andra provmaterial än blod på levande katter för att leta efter RNA, gärna på katter som är i olika stadium av sjukdomen.

Det har spekulerats kring anledningen till att seroprevalensen för BoDV-specifika proteiner är relativt hög bland friska individer, samt att ej alla sjuka har testas positiva. En studie från Japan (Someya *et al.*, 2014) föreslår att bornavirus smittar vertikalt hos katt då de fann att även katter under ett år var seropositiva. Även Kinnunen & Wensman (2016) diskuterar möjligheten att djur kan bli tysta bärare och utsöndra viruset om de infekteras pre- eller neonatalt, vilket kan förklara seroprevalensen bland friska djur. Samma studie blickar framåt och menar att vi i framtiden med nya metoder troligtvis kommer kunna upptäcka nya species av viruset, eventuellt sådana som kan infektera både däggdjur och andra arter. Ett par exempel på dessa nyare metoder är metagenomik och pan-viral microarray (Kistler *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2012). Användning av sådana typer av metoder för att undersöka fall av BoDV skulle eventuellt kunna leda till upptäckt av nya virus som har en del i vingelsjukas patogenes, vilket ännu tydligare kan förklara svårigheterna vid diagnostisering av sjukdomen. Det skulle även kunna klargöra huruvida aviära bornavirus kan infektera däggdjur och orsaka sjukdom, något som ännu inte bevisats.

Vad bornavirus har för roll i neuropsykiatriska sjukdomar hos människa är fortfarande inte helt utrett, trots många studier inom området. Detta har förklarats att delvis bero på PCR-kontaminering och att ospecifika serologiska metoder har använts (Kinnunen & Wensman, 2016). Om bättre diagnostiseringsmetoder skulle kunna användas i studier så kanske resultaten skulle se annorlunda ut och vara mer användbara. Med tanke på dödsfallen i Tyskland bör även bornavirus zoonotiska potential utredas vidare (Hoffman *et al.*, 2015).

Att inte säkert kunna diagnosticera en sjukdom gör det på många sätt svårt att skaffa mer kunskap om den. Det är bland annat svårt att uppskatta hur stort problem sjukdomen faktiskt är eftersom den kliniska erfarenheten till stor del består av misstankar. Även studerande av epidemiologi är beroende av att kunna diagnostisera sjukdomen för att kartlägga vilka områden som drabbas och vilka möjliga reservoarer eller vektorer som kan testas positiva. Hur viruset sprids genom kroppen samt interagerar med värdens proteiner kan man också få mer klarhet i med hjälp av bättre fungerande metoder för att detektera virus. En nyare metod som kan vara till hjälp vid studier av interaktioner med värden för att förstå sjukdomens patogenes är PLA (Wensman *et al.*, 2016). När det gäller test av nya behandlingar behöver man först kunna diagnostisera naturligt infekterade individer för att kunna utvärdera behandlingens effektivitet. Detta har man hittills inte kunnat göra för något av de antivirala läkemedel som föreslagits som behandling mot vingelsjuka, det vill säga ribavirin och amantadin, vilket betyder att det finns många tveksamheter i deras verkliga effekt.

Sammanfattningsvis kan man säga att det fortfarande finns mycket som behövs utredas vad det gäller vingelsjuka hos katt. Mer användbara diagnostiseringsmetoder vore till hjälp för att bättre kunna förstå sjukdomen samt för att utvärdera föreslagna behandlingars effektivitet. Dock behöver metoderna vara praktiska och ej alltför avancerade för att kunna användas i rutindiagnostiken. För närvarande kan anamnes och symtombild i kombination med påvisande av BoDV-specifika antikroppar och BoDV RNA ge en bekräftande diagnos hos levande katter.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Berg, A.-L., Reid-Smith, R., Larsson, M. & Bonnett, B. (1998). Case control study of feline Borna disease in Sweden. *Veterinary Record* [online], 142(26), pp 715–717. Available from: <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/142/26/715>. [Accessed 2017-03-05].
- Berg, A.L. (1999). Borna disease in cats. In: Bonagura JD, editor. *Kirk's Current Veterinary Therapy*. Philadelphia: Saunders; p. 976-978
- Berg, M., Johansson, M., Montell, H. & Berg, A. L. (2001). Wild birds as a possible natural reservoir of Borna disease virus. *Epidemiology and Infection* [online], 127(1), pp 173–178. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2869725/>. [Accessed 2017-02-22].
- Bode, L., Reckwald, P., Severus, W. E., Stoyloff, R., Ferszt, R., Dietrich, D. E. & Ludwig, H. (2001). Borna disease virus-specific circulating immune complexes, antigenemia, and free antibodies--the key marker triplet determining infection and prevailing in severe mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 6(4), pp 481–491. DOI: 10.1038/sj.mp.4000909
- Bustin, S. A. & Mueller, R. (2005). Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 109(4), pp 365–379. DOI: 10.1042/CS20050086
- Chen, E. C., Miller, S. A., DeRisi, J. L. & Chiu, C. Y. (2011). Using a Pan-Viral Microarray Assay (Virochip) to Screen Clinical Samples for Viral Pathogens. *Journal of Visualized Experiments : JoVE* [online], (50). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3169278/>. [Accessed 2017-02-26].
- Cubitt, B. & de la Torre, J. C. (1994). Borna disease virus (BDV), a nonsegmented RNA virus, replicates in the nuclei of infected cells where infectious BDV ribonucleoproteins are present. *Journal of Virology* [online], 68(3), pp1371–1381. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC236591/>. [Accessed 2017-03-02].
- Cubitt, B. & Torre, J. J. de la (1997). Amantadine does not have antiviral activity against Borna disease virus. *Archives of Virology* [online], 142(10), pp 2035–2042. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s007050050220>. [Accessed 2017-02-26].
- Degiorgis, M.-P., Berg, A.-L., Segerstad, C. H. af, Mörner, T., Johansson, M. & Berg, M. (2000). Borna Disease in a Free-Ranging Lynx (*Lynx lynx*). *Journal of Clinical Microbiology* [online], 38(8), pp 3087–3091. Available from: <http://jcm.asm.org/content/38/8/3087>. [Accessed 2017-03-07].
- Dietrich, D. E., Bode, L., Spannhuth, C. W., Lau, T., Huber, T. J., Brodhun, B., Ludwig, H. & Emrich, H. M. (2000). Amantadine in depressive patients with Borna disease virus (BDV) infection: an open trial. *Bipolar Disorders*, 2(1), pp 65–70.
- Dürwald, R., Kolodziejek, J., Weissenböck, H. & Nowotny, N. (2014). The Bicolored White-Toothed Shrew *Crocidura leucodon* (HERMANN 1780) Is an Indigenous Host of Mammalian Borna Disease Virus. *PLOS ONE* [online], 9(4), p e93659. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0093659>. [Accessed 2017-02-22].
- Gosztonyi, G. (2008). Natural and experimental Borna Disease Virus infections – Neuropathology and pathogenetic considerations. *APMIS* [online], 116, pp 53–57. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0463.2008.000m8.x/abstract>. [Accessed 2017-02-22].

- Hoffmann, B., Tappe, D., Höper, D., Herden, C., Boldt, A., Mawrin, C., Niederstraßer, O., Müller, T., Jenckel, M., van der Grinten, E., Lutter, C., Abendroth, B., Teifke, J. P., Cadar, D., Schmidt-Chanasit, J., Ulrich, R. G. & Beer, M. (2015). A Variegated Squirrel Bornavirus Associated with Fatal Human Encephalitis. *The New England Journal of Medicine*, 373(2), pp 154–162. DOI: 10.1056/NEJMoa1415627
- Honkavuori, K. S., Shivaprasad, H. L., Williams, B. L., Quan, P.-L., Hornig, M., Street, C., Palacios, G., Hutchison, S. K., Franca, M., Egholm, M., Briese, T. & Lipkin, W. I. (2008). Novel Borna Virus in Psittacine Birds with Proventricular Dilatation Disease. *Emerging Infectious Diseases* [online], 14(12), pp1883–1886. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2634650/>. [Accessed 2017-02-26].
- Johansson, M., Berg, M. & Berg, A.-L. (2002). Humoral immune response against Borna disease virus (BDV) in experimentally and naturally infected cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology* [online], 90(1–2), pp 23–33. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016524270200226X>. [Accessed 2017-02-26].
- Jordan, I., Briese, T., Averett, D. R. & Lipkin, W. I. (1999). Inhibition of Borna Disease Virus Replication by Ribavirin. *Journal of Virology* [online], 73(9), pp 7903–7906. Available from: <http://jvi.asm.org/content/73/9/7903>. [Accessed 2017-02-26].
- Kinnunen, P. M., Palva, A., Vaheri, A. & Vapalahti, O. (2013). Epidemiology and host spectrum of Borna disease virus infections. *Journal of General Virology* [online], 94(2), pp 247–262. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.046961-0>. [Accessed 2017-02-11].
- Kinnunen, P. M. & Wensman, J. J. (2016). *Bornaviruses*. (Munir, M., Ed) Wallingford, UK: Cabi. ISBN 978-1-78064-417-2.
- Kistler, A. L., Gancz, A., Clubb, S., Skewes-Cox, P., Fischer, K., Sorber, K., Chiu, C. Y., Lublin, A., Mechani, S., Farnoushi, Y., Greninger, A., Wen, C. C., Karlene, S. B., Ganem, D. & DeRisi, J. L. (2008). Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: Identification of a candidate etiologic agent. *Virology Journal* [online], 5, p 88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2546392/>. [Accessed 2017-02-26].
- Kronevi, T., Nordström, M., Moreno, W., Nilsson, P.O., 1974. Feline ataxia due to nonsuppurative meningoencephalomyelitis of unknown aetiology. *Nordisk Veterinärmedicin* 26, 720–725.
- Kuhn, J. H., Dürrwald, R., Bào, Y., Briese, T., Carbone, K., Clawson, A. N., deRisi, J. L., Garten, W., Jahrling, P. B., Kolodziejek, J., Rubbenstroth, D., Schwemmler, M., Stenglein, M., Tomonaga, K., Weissenböck, H. & Nowotny, N. (2015). Taxonomic reorganization of the family Bornaviridae. *Archives of Virology* [online], 160(2), pp 621–632. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00705-014-2276-z>. [Accessed 2017-02-22].
- Ludwig, H. & Theinn, P. (1977). Demonstration of specific antibodies in the central nervous system of horses naturally infected with Borna disease virus. *Medical Microbiology and Immunology* [online], 163(4), pp 215–226. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02125505>. [Accessed 2017-02-26].
- Lundgren, A.-L. (1992). Feline non-suppurative meningoencephalomyelitis. A clinical and pathological study. *Journal of Comparative Pathology* [online], 107(4), pp 411–425. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002199759290015M>. [Accessed 2017-02-23].

- Lundgren, A.-L., Johannisson, A., Zimmermann, W., Bode, L., Rozell, B., Muluneh, A., Lindberg, R. & Ludwig, H. (1997). Neurological disease and encephalitis in cats experimentally infected with Borna disease virus. *Acta Neuropathologica* [online], 93(4), pp 391–401. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s004010050630>. [Accessed 2017-02-24].
- Lundgren, A.-L., Zimmermann, W., Bode, L., Czech, G., Gosztonyi, G., Lindberg, R. & Ludwig, H. (1995). Staggering disease in cats: isolation and characterization of the feline Borna disease virus. *Journal of General Virology* [online], 76(9), pp 2215–2222. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-76-9-2215>. [Accessed 2017-02-24].
- Lutz, H., Addie, D. D., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Horzinek, M. C., Hosie, M. J., Lloret, A., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Moestl, K. (2015). BORNA DISEASE VIRUS INFECTION IN CATS ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(7), pp 614–616. DOI: 10.1177/1098612X15588452
- Nobach, D., Bourg, M., Herzog, S., Lange-Herbst, H., Encarnaç o, J. A., Eickmann, M. & Herden, C. (2015). Shedding of Infectious Borna Disease Virus-1 in Living Bicolored White-Toothed Shrews. *PLoS ONE* [online], 10(8). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4552160/>. [Accessed 2017-02-22].
- Penderis, J. (2009). The wobbly cat. Diagnostic and therapeutic approach to generalised ataxia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(5), pp 349–359. DOI: 10.1016/j.jfms.2009.03.003
- Rott, R., Herzog, S., Fleischer, B., Winokur, A., Amsterdam, J., Dyson, W. and Koprowski, H. (1985) Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science* 228, 755–756.
- Sauder, C. & Staeheli, P. (2003). Rat Model of Borna Disease Virus Transmission: Epidemiological Implications. *Journal of Virology* [online], 77(23), pp 12886–12890. Available from: <http://jvi.asm.org/content/77/23/12886>. [Accessed 2017-02-22].
- Solbrig, M. V., Fan, Y. & Hazelton, P. (2013). Prospects for cannabinoid therapies in viral encephalitis. *Brain Research* [online], 1537, pp 273–282. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899313011694>. [Accessed 2017-02-26].
- Solbrig, M. V., Schlaberg, R., Briese, T., Horscroft, N. & Lipkin, W. I. (2002). Neuroprotection and Reduced Proliferation of Microglia in Ribavirin-Treated Bornavirus-Infected Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online], 46(7), pp 2287–2291. Available from: <http://aac.asm.org/content/46/7/2287>. [Accessed 2017-02-26].
- Someya, A., Fukushima, R., Yoshida, M., Tanahashi, Y., Prapeuk, T., Iizuka, R., Hiram, H., Matsuda, A., Takahashi, S., Kurita, G., Kimura, T., Seo, M., Funaba, M. & Nishino, Y. (2014). A Study on Borna Disease Virus Infection in Domestic Cats in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(8), pp 1157–1160. DOI: 10.1292/jvms.13-0349
- S oderberg, O., Leuchowius, K.-J., Gullberg, M., Jarvius, M., Weibrecht, I., Larsson, L.-G. & Landegren, U. (2008). Characterizing proteins and their interactions in cells and tissues using the in situ proximity ligation assay. *Methods (San Diego, Calif.)*, 45(3), pp 227–232. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.06.014
- Thomas, T., Gilbert, J. & Meyer, F. (2012). Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. *Microbial Informatics and Experimentation* [online], 2, p 3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3351745/>. [Accessed 2017-03-12].

- Wensman, J. J., Berg, M. & Berg, A.-L. (2008). Experiences of Borna Disease Virus infection in Sweden. *Apmis*, 116, pp 46–49. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2008.000m6.x
- Wensman, J. J., Jaderlund, K. H., Gustavsson, M. H., Hansson-Hamlin, H., Karlstam, E., Lilliehook, I., Strom, I.-L. O., Belak, S., Berg, M. & Holst, B. S. (2012). Markers of Borna disease virus infection in cats with staggering disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(8), pp 573–582. DOI: 10.1177/1098612X12446638
- Wensman, J. J., Jaderlund, K. H., Holst, B. S. & Berg, M. (2014). Borna disease virus infection in cats. *Veterinary Journal*, 201(2), pp 142–149. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.12.012
- Wensman, J. J., Thoren, P., Hakhverdyan, M., Belak, S. & Berg, M. (2007). Development of a real-time RT-PCR assay for improved detection of Borna disease virus. *Journal of Virological Methods*, 143(1), pp 1–10. DOI: 10.1016/j.jviromet.2007.01.034
- Wensman, J. J., K. Leuchowius, J. Yan, A. Berg, L. Bode, H. Ludwig, S. Belák, U. Landegren, O. Söderberg and M. Berg. (2016). Visualization of Borna disease virus protein interactions with host proteins using in situ proximity ligation assay. *British Journal of Virology*, 3(1): 11-23