



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vad finns det för vaccin mot felint immunosuppressivt virus (FIV) och hur effektiva är de?

Elaine Sandell



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 42

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vad finns det för vaccin mot felint immunosuppressivt virus (FIV) och effektiva är de?

What vaccines are available against feline immunodeficiency virus (FIV) and how effective are they?

Elaine Sandell

Handledare:

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: Mbhurri, Selati Game Reserve, RSA. Fotograf: Elaine Sandell

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 42
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Felint immunosuppressivt virus, vaccin, effektivitet, riskfaktorer, subtyper

Key words: Feline immunodeficiency virus, vaccine, efficiency, risk factors, subtypes

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING.....	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	3
Virus egenskaper	3
Patogenes och kliniska symptom.....	4
Smittvägar	5
Prevalens och riskfaktorer	5
Vaccin	6
Förstärkt infektion efter vaccinering	8
Diagnostik och serologisk differentiering.....	8
Alternativa vaccinmetoder	9
DISKUSSION	10
LITTERATURFÖRTECKNING.....	13

SAMMANFATTNING

Felint immunosuppressivt virus (FIV) är ett retrovirus som infekterar kattdjur och ger ett kraftigt försvagat immunförsvar. Virus infekterar CD4⁺T-lymfocyter och ger symptom som letargi och feber i en initial fas. I senare skede av sjukdomen ses kroniska inflammationer och sekundära infektioner. Virus är spritt bland kattpopulationer över hela världen och flera subtyper har definierats. I Sverige rapporteras ett fåtal fall varje år men ett stort mörkertal kan finnas. FIV överförs framförallt via bett. Riskfaktorer är hanligt kön, utomhusvistelse och aggressivt beteende. FIV har stora likheter med human immunodeficiency virus (HIV).

Kommersiellt tillgängligt vaccin som består av hela inaktiverade viruspartiklar finns tillgängligt i bl.a. USA, men inte i Sverige. Effektiviteten hos detta vaccin är omdiskuterad. Ett gott skydd har visats mot subtyp B av FIV, men vaccinet har inte visats ge ett effektivt skydd mot europeiska subtyper. Flera studier har tvärtom rapporterat om att vaccinering kan leda till en förstärkt infektion av FIV. Vid serologisk diagnostik genom ELISA erhåller även vaccinerade individer ett positivt resultat, vilket leder till att man inte kan skilja mellan infekterade och vaccinerade individer. Nya diagnostikmetoder håller dock på att utvecklas. I framtiden tros alternativa vaccinmetoder som ex. DNA-vaccin spela en avgörande roll men i nuläget finns inget sådant vaccin som är effektivt. Rutinmässig vaccinering rekommenderas inte i Sverige.

SUMMARY

Feline immunodeficiency virus (FIV) is a retrovirus that infects felines and induces a severe immunodeficiency. The virus infects CD4⁺T-lymphocytes. Typical manifestations of infection are chronic inflammations and secondary infections due to immunodeficiency. The virus is widespread in domestic cat populations around the world and several subtypes have been defined. A small number of cases are reported in Sweden each year. Feline immunodeficiency virus is transmitted via bites. Risk factors include male gender, outdoor stay and aggressive behavior. FIV is closely related to human immunodeficiency virus (HIV).

The commercially available vaccine that consists of whole inactivated virus particles is available in the United States and other countries, but not in Sweden. The efficacy of this vaccine has been debated. The vaccine has been proven to protect cats against subtype B, but a lack of protection against European field isolates has been reported. Vaccine-associated enhancement of infection has been reported in several studies. The antibody response of vaccinated individuals is indistinguishable from that induced by natural infection in currently available serological tests (e.g. ELISA). Future vaccine approaches may include DNA vaccine and vaccine enriched with cytokines. Vaccination against FIV is not recommended in Sweden.

INLEDNING

Felint immunosuppressivt virus (FIV) beskrevs och isolerades för första gången 1986 hos en grupp katter i Kalifornien, USA (Pedersen et al., 1987). Det klassificeras som ett lentivirus och tillhör familjen *Retroviridae*. Viruset kan ge stor påverkan på immunsystemet och orsakar stort lidande hos katter över hela världen. Ända sedan viruset upptäcktes har man försökt utveckla effektiva vaccin. Att viruset är mycket mutagent och finns i flera subtyper (Sodora et al., 1994) försvårar arbetet med vaccinflamställning. För närvarande finns inget vaccin tillgängligt i Sverige men kommersiella vaccin mot FIV är framställda och används i bl.a. USA och Kanada. Ett vaccin mot FIV kan potentiellt även fungera som en modell för vaccin mot HIV och skulle således vara särskilt värdefullt att utveckla.

Syftet med detta arbete är att utreda vilka vaccin som har tagits fram och effektiviteten hos dessa. Finns det fördelar och nackdelar med vaccinering? Tyngdpunkten kommer ligga på det vaccin som finns kommersiellt tillgängligt. Arbetet kommer även undersöka hur vaccinering mot FIV kan se ut i Sverige; vilka vaccin skulle kunna vara effektiva i Sverige och finns det vissa riskgrupper som behöver vaccineras?

MATERIAL OCH METODER

Artiklarna i denna litteraturstudie har hittats genom databaserna Web of Knowledge och PubMed med sökorden "(feline immunodeficiency virus) AND vaccine" och "(feline immunodeficiency virus) AND subtype*". Sökningen gav ett mycket stort antal artiklar. För att hitta de mest relevanta artiklarna har referenslistor använts från de artiklar som hittades vid sökandet i databaser. I inledningen av skrivandet lästes även review-artiklar för att få en bättre överblick av ämnet.

LITTERATURÖVERSIKT

Virus egenskaper

Felint immunosuppressivt virus är ett lentivirus som tillhör familjen *Retroviridae* och är morfologiskt mycket likt det lentivirus, human immunodeficiency virus (HIV) som orsakar förvärvat immunbristsyndrom (AIDS) hos människa (Pedersen et al. 1987). FIV är endemiskt i tamkattpopulationer över hela världen. FIV drabbar kattdjur av familjen *Felidae* och har även rapporterats hos hyena, men kan inte överföras till människa (Hosie et al., 2009). Replikationen av FIV liknar replikationen hos andra retrovirus och enzymet omvänt transkriptas används för att omvandla och kopiera viralt RNA till DNA som sedan

inkorporeras i värdens genom (provirus). Omvänt transkriptas saknar korrekturläsningsfunktion och det leder till att viruset muterar i hög grad. Den genetiska variabiliteten spelar stor roll för möjligheten till korrekt diagnostik och effektiv vaccination.

Strukturen av FIV-genomet består framförallt av gensekvenserna *env*, *gag* och *pol* (se Fig.1). Utöver dessa tre sekvenser finns kortare sekvenser som kodar för regulatoriska proteiner ex. *Vif*. Virusets *gag*-sekvens kodar för kapsidproteinet p24 som förutom att det bygger upp viruskapsiden är viktig vid diagnos då denna gen är relativt stabil. Proteiner som integras, proteas och omvänt transkriptas kodas av sekvensen *pol*. Gensekvensen *env* kodar för glykoprotein gp120 och transmembrana proteinet gp41. Sodora et al. (1994) visade genom gensekvensering att *env*-genen är mest variabel. De visade även att man kan dela in FIV i olika subtyper beroende på *env*-genens utseende. Variabiliteten inom samma subtyp var enligt deras studie mellan 2,5 till 15 % medan en variabilitet på upp till 26 % beskrevs mellan olika subtyper. I sin studie identifierade de tre olika subtyper av FIV (A, B och C), men senare har ytterligare subtyper beskrivits.

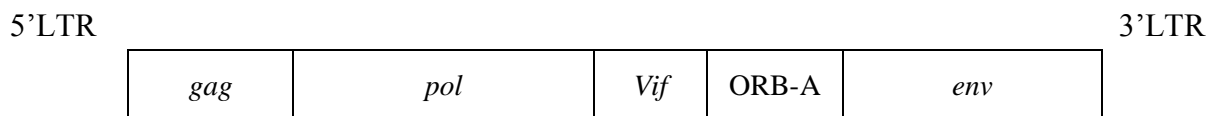


Fig.1 Skiss över genomet hos FIV.

En studie som undersökte vilka subtyper av FIV som finns i centrala Europa genomfördes 2002 (Steinrigl & Klein, 2003). Virus i blodprover från 30 FIV-positiva katter hemmahörande i Tyskland, Österrike, Schweiz och Italien undersöktes med ELISA och PCR. Genregionerna *env* och *gag* sekvenserades och jämfördes med referensstammar av FIV från GenBank. Man fann att alla sekvenser kunde grupperas in under antingen subtyp A eller subtyp B. I Österrike var subtyp A dominerande medan subtyp B var mer vanligt förekommande i Tyskland.

Ett virus som är närbesläktat med FIV är felint leukemivirus (FeLV). De är båda retrovirus men FeLV tillhör gruppen γ -retrovirus medan FIV är ett lentivirus. FeLV är mer patogent än FIV och kan ge upphov till tumörer (främst lymfom) och benmärgsdepression (anemi). Infektion med FeLV ger en ökad risk för sekundära infektioner på grund av att immunsystemet försvagas. Enligt en studie utförd i Tyskland ligger prevalensen kring 3,6 % (Gleich et al. 2009). Prevalensen har minskat under de senaste 25 åren, tack vare vaccinering mot viruset. Det finns effektiva vaccin som är kommersiellt tillgängliga (även i Sverige) och rekommenderas av ABCD – European Advisory Board on Cat Diseases (Lutz et al. 2009).

Patogenes och kliniska symptom

FIV har en tropism för aktiva CD4⁺ T-lymfocyter (Pedersen et al., 1987). Dessa celler fungerar som T-hjälparceller och har en central roll i utvecklingen av cellulär och humoral immunitet. Viruset infekterar cellen genom att ett viralt glykoprotein (gp120) binder till

receptorn CD134 på T-lymfocytens yta (Shimajima et al., 2004). Ackley et al. (1990) visade att mängden CD4⁺ T-lymfocyter minskade kraftigt hos experimentellt infekterade katter, däremot förändrades inte det totala antalet T-lymfocyter eftersom mängden T-celler som uttrycker CD8⁺ samtidigt ökade. Sjukdomsförloppet speglar till stor del nedgången i CD4⁺ T-lymfocyter och ett förändrat förhållande mellan CD4⁺ och CD8⁺.

Experimentell infektion med FIV fortskrider genom tre sjukdomsfaser. Faktorer som influerar hur infektionen utvecklar sig tros vara ålder och hälsostatus hos katten. Även mängd och subtyp av viruset tros spela roll (Hosie & Beatty, 2007). Infekterade katter återhämtar sig aldrig. Den initiala fasen, ibland kallad akut fas, utmärks av milda symptom som feber, letargi och anorexi. FIV replikeras kraftigt i CD4⁺ T-celler, dendritiska celler och makrofager under denna period och når en topp ca 8-12 veckor efter infektion. En generell förstoring av lymfknutor ses också, på grund av ökande antal och storlek på aktiva groddcentra i lymfknutorna. Därefter följer en lång latent subklinisk fas som kan vara upp till flera år. Under denna period integreras viralt genom i cellens eget DNA men cellerna producerar inga viruspartiklar. Latent infekterade celler nås inte av virusneutraliserande antikroppar och kan fungera som en ”reservoar” för virus och infektion (Hosie et al., 2009). I den terminala fasen är immunsystemet kraftigt påverkat och det leder ofta till sekundära infektioner. Bakteriella och virala infektioner samt infektioner orsakade av svamp eller protozoer rapporteras hos FIV-infekterade katter. Samband har även setts mellan FIV och olika slags neoplasier exempelvis lymfosarkom. De vanligaste symptomen är dock kroniska inflammationer, framförallt i munhålan. Drabbade individer kan uppvisa rhinit, gingivit, stomatit och glomerulonefrit. Neurologiska störningar med förändrat beteende och kramper har också rapporterats hos en mindre andel. Studier visar att FIV-infekterade katter har en lika lång förväntad livslängd som icke-infekterade katter (Yamamoto et al., 1989; Gleich et al., 2009).

Smittvägar

Viruset utsöndras i saliv och sprids framförallt horisontellt via bett (Yamamoto et al., 1989). Bett kan förekomma vid slagsmål men även då hankatter biter honkatter i nackskinnen under parning. Virusets verkar inte överföras sexuellt även om virus har isolerats från sperma. Experimentellt kan viruset även isoleras från blod, serum, plasma och cerebrospinalvätska. Om något av detta inokuleras till friska mottagarkatter, blir dessa infekterade med viruset (Yamamoto et al., 1989).

Prevalens och riskfaktorer

En stor tysk retrospektiv studie som genomfördes mellan 1993 och 2002 identifierade ett antal riskfaktorer för FIV bland tamkatter (Gleich et al., 2009). I studien testade 563 katter positivt för antikroppar mot FIV och för dessa individer undersöktes ett flertal parametrar med hjälp av frågeformulär. Svaren behandlades med en logistisk regressionsanalys. En statistisk

signifikant högre andel ($p < 0,001$) av FIV-infekterade katter var av hanligt kön (okastrerade) och ej renrasiga. Studien visade också att katter som vistades utomhus, var i kontakt med andra katter samt uppvisade aggressivt beteende löpte en statistisk signifikant högre risk att bli infekterade med FIV.

I Sverige är infektion med FIV en anmälningspliktig sjukdom och Jordbruksverkets statistik anger mellan 5-10 fall per år. Fallen har varit spridda över hela landet med någon övervikt på västra Sverige och området runt Gävle. Det kan finnas ett mörkertal av infekterade katter som aldrig kommer till veterinär eller diagnosticeras (Treiberg-Berndtsson L., Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd. 2012-02-20). Inga studier har gjorts på prevalensen av FIV i Sverige.

Prevalensen i övriga världen varierar mycket mellan olika regioner. Gleich et al. (2009) gjorde serologiska undersökningar på 17289 katter från ett antal tyska kliniker och fann 563 katter som var infekterade med FIV, vilket gav en prevalens på 3,2 %. Prevalensen ändrades ej nämnvärt under de år studien utfördes (1993 till 2002). Yamamoto et al. (1989) undersökte utbredningen av FIV bland katter i Nordamerika (USA och Kanada). De rapporterade om en prevalens på 14 % (318/2254) bland grupper med hög risk och en prevalens på 1,2 % (6/511) i grupper med låg eller okänd risk. De grupper som man konstaterade befina sig i hög risk för infektion i denna studie var hankatter, katter med tillgång till utomhusvistelse och ej renrasiga katter.

Vaccin

Utveckling av ett effektivt vaccin är viktigt för att hindra friska katter från att bli infekterade med FIV. En viktig aspekt av vaccinutveckling är att vaccin mot FIV potentiellt kan fungera som en modell för vaccin mot HIV, då de två lentivirusen HIV och FIV är mycket lika varandra (Pedersen et al., 1987). Kommersiellt vaccin finns tillgängligt i USA, Kanada och Australien under namnet Fel-O-Vax FIV® (Fort Dodge Animal Health Inc.) till katter över åtta veckor. Detta vaccin innehåller helt, formalinbehandlat, inaktiverat virus av subtyperna A (stam Petuluma) och D (stam Shizuoka) tillsammans med ett FD-1-adjuvans. Modifierade levande vaccin, som utgör en stor andel av veterinära vaccin, kan inte användas som strategi mot FIV. Rekombination kan ske mellan levande FIV-partiklar i vaccin och vildtyp-FIV vilket kan leda till rekombinanta virus som orsakar sjukdom och som vaccin inte skyddar mot (Uhl et al., 2008).

Pu et al. (2001) utvärderade effektiviteten och immunogeniciteten hos det kommersiella vaccinet Fel-O-Vax FIV®. I studien ingick katter som var garanterat fria från vissa patogener, däribland FIV (SPF - Specific Pathogen Free). Katterna vaccinerades med Fel-O-Vax FIV® enligt tillverkarens instruktioner. Fem katter inokulerades intramuskulärt tre veckor efter sista vaccinationen med en låg mängd FIV subtyp B, 10 CID_{50} (50 % cat infectious doses). Av dessa skyddades fyra mot infektion. En katt uppvisade FIV i perifera mononukleära celler

(PBMC) 12 veckor efter inokulering men ingen infektion hittades efter 20 veckor. Inokulering av fem katter med en tio gånger högre mängd FIV, 100 CID_{50} , visade att endast två av fem var skyddade. Alla katter i kontrollgruppen som vaccinerades med ett placebo preparat blev infekterade. Även immunsvaret efter vaccinering undersöktes. De vaccinerade katterna utvecklade virusneutraliserade antikroppar (VNA), men ingen direkt korrelation kunde hittas mellan titrar av VNA och vaccinets effektivitet. Undersökningen omfattade dock ett litet antal individer. PBMC undersöktes före och efter vaccination. Man fann att medianhalterna av FIV-specifikt interferon- γ , IL-2 och perforin var högre efter vaccination, men studiepopulationen var för liten för att göra statistisk analys. Detta indikerar dock att vaccinering inducerar ett brett immunologiskt svar med ett både humoralt och cellulärt skydd.

Det är viktigt att vaccinet skyddar även mot subtyp B, som är en vanlig subtyp i många delar av världen (Sodora et al., 1994; Steinrigl och Klein 2003). En studie utfördes för att ytterligare utvärdera om Fel-O-Vax FIV® kan ge skydd även mot subtyp B (Pu et al., 2005). Studien bestod av två mindre delstudier. Den första delstudien innehöll fyra katter som vaccinerades med Fel-O-Vax enligt tillverkarens instruktioner, två katter som mottog icke-infekterade felina T-celler samt fyra katter som mottog placebo (saltlösning). Tre veckor efter den sista vaccindosen inokulerades alla katter i studien intravenöst med perifera mononukleära celler (PBMC) infekterade med 15 CID_{50} FIV_{FC1} som isolerats från en infekterad katt. Virus var av subtyp B, med upp till 19,2% skillnad i env-genen jämfört med vaccinstammen. Alla katter i den vaccinerade gruppen förblev FIV-negativa ett år efter inokulering med normala $CD4^+$ -värden och normal $CD4^+/CD8^+$ -ratio. Benmärgsceller, PBMC och celler från lymfknotor undersöktes med PCR. Katterna i kontrollgrupperna i studien blev infekterade med FIV. Den andra delstudien innehöll fyra katter som vaccinerades och tre katter som injicerades med en saltlösning. Övriga stadier genomfördes på samma sätt som i delstudie 1. Även i delstudie 2 förblev vaccinerade katter FIV-negativa medan alla ickevaccinerade katter blev infekterade med FIV.

Många studier har använt sig av inokulering intramuskulärt eller intravenöst som en ”challenge-metod” för att utvärdera effektivitet hos Fel-O-Vax FIV®. Att använda sig av ”challenge” innebär att man utsätter vaccinerade individer för virus i olika former. Kusahara et al., (2005) genomförde en studie för att utvärdera vaccinets effektivitet under mer naturliga förhållanden. För att bättre efterlikna den överföring av virus som sker i naturen, där bett anses vara den främsta smittvägen (Yamamoto et al., 1989), utfördes studien så att vaccinerade och infekterade katter av båda kön hade direktkontakt med varandra under en länge period. Vaccinet bestod av celler infekterade med FIV (subtyp A och D). Infekterade katter var infekterade med FIV (subtyp B, stam Aomori-2). En grupp av vaccinerade katter, en kontrollgrupp och en grupp med infekterade katter vistades tillsammans i ett år. Därefter byttes gruppen med infekterade katter ut och ersattes med nya infekterade individer och studien fortsatte under ytterligare ett år. Utbytet skedde eftersom man noterade att aggressivt beteende minskade med tiden och därmed även antalet bett. Bett under parning noterades under hela perioden. Blodprov togs kontinuerligt under hela perioden, och antikroppar mot FIV-antigen mättes med ELISA. Infektion konfirmerades med detektion av FIV-provirus i

PMBC genom PCR. Resultat från PCR visar att hälften av katterna i kontrollgruppen (4/8) blev infekterade medan ingen vaccinerad katt (0/8) blev infekterad med FIV. Vaccinerade katter uppvisade antikroppar mot FIV under hela perioden. De högsta halterna av antikroppar uppmättes veckorna efter vaccination och minskade sedan. Att antikroppar uppmättes efter tolv månader tyder på att vaccinering ger över ett års skydd mot infektion.

De stammar som används som "challenge" vid försök bör efterlikna de stammar som cirkulerar i naturen. FIV av subtyp A (Glasgow-8), en europeisk stam, har tidigare använts som ett riktmärke (benchmark) för att mäta effektivitet hos vaccin. Dunham et al. (2006a) visade att Fel-O-Vax FIV® ej skyddade mot FIV Glasgow-8. I denna studie vaccinerades sex SPF-katter med Fel-O-Vax FIV® enligt tillverkarens instruktioner, och kontrollgruppen på fem katter injicerades med saltlösning (placebo). Efter fyra veckor injicerades 10 CID₅₀ FIV (Glasgow-8) intramuskulärt, virus hade isolerats från en katt i asymptomatisk fas, den mest smittsamma fasen. Blodprover togs på alla katter både före och efter vaccinering, samt ett flertal gånger efter "challenge". Hos infekterade individer isolerades provirus från PBMC som odlades tillsammans med felina lymfoblastoida celler och viralt RNA kunde hittas i plasma med PCR. Lymfocyter samlades post-mortem från mjälte, perifera och mesenteriska lymfknotor och provirala mängder av FIV uppmättes. Dessa metoder visade att alla vaccinerade katter och alla katter i kontrollgruppen blev infekterade med FIV. De vaccinerade katterna hade till och med statistiskt signifikant högre provirala mängder i plasma två veckor efter inokuleringen, senare var mängderna lika mellan grupperna. Halter av provirus från mjälte och lymfknotor skiljde ej signifikant mellan de två grupperna.

Förstärkt infektion efter vaccinering

Det finns en risk att vaccinering kan öka mottagligheten för infektion (enhanced infection) och det har beskrivits i flera studier (Dunham, 2006b). Förstärkt infektion definieras som en ökad eller snabbare topp i virusbelastning efter infektion, eller vid en ökning av infekterade individer (Dunham, 2006b). En möjlig förklaring enligt Richardson et al. (2002) kan vara att vaccinering ökar antalet aktiva T-lymfocyter. Deras studie beskriver en motsättning: för att en vaccinering mot lentivirus ska ge skydd krävs att lymfocyter aktiveras samtidigt som lentivirus replikeras i aktiva lymfocyter. En annan förklaring kan vara att vaccinering aktiverar T-celler och inducerar en ökning av icke-specifika celler som uttrycker receptorer för FIV. Shimojima et al. (2004) visade att receptorerna CD134 och CXCR-4 uppregleras hos aktiva T-celler.

Diagnostik och serologisk differentiering

Då serologisk testning av antikroppar är ett vanligt sätt att konfirmera infektion med FIV, kommer även vaccinerade individer få ett positivt resultat på alla kommersiellt tillgängliga ELISA-metoder. Infekterade katter kan också identifieras genom att detektera provirus med PCR. Hos vaccinerade katter sker ingen infektion, och provirus kan ej identifieras. Det går

alltså att använda PCR för att särskilja vaccinerade och infekterade individer. PCR är dock en kostsam metod som kräver speciella faciliteter och är därför ej möjligt att använda på alla kliniker. ELISA finns däremot som kommersiella kit. Studier har även visat att resultat från PCR varierar, med mellan 40-100 % känslighet (Hosie et al., 2007).

Kusuhara et al. (2007) visade att man med hjälp av ELISA som använder olika slags antigen kan särskilja vaccinerade från infekterade individer. I studien konstruerades flera olika typer av ELISA, med obehandlat FIV, formalinbehandlat FIV, r-gag (gensekvens) eller en transmembran peptid (TM-peptid) som antigen. Serumprover från vaccinerade respektive infekterade katter analyserades med de olika typerna av ELISA-metoder. Man fann en signifikant skillnad i OD-värdena (optisk densitet) i ELISA mellan de tre metoderna, när man använde obehandlat FIV, formalinbehandlat FIV eller TM-peptid som antigen. Sekvensen r-gag gav ingen urskiljning mellan de två grupperna. Värdena var dock inte entydiga, eftersom sera från båda grupper innehöll antikroppar mot dessa tre typer av antigen. Ett bättre resultat visades då man använde en analys med två variabler, både resultat från ELISA med formalinbehandlat FIV och ELISA med TM-peptid som antigen. Gruppen med vaccinerade katter kunde då urskiljas från gruppen med infekterade med en noggrannhet på 97,1 % (134/138). Genom att även inkludera resultat från ELISA med obehandlat FIV som antigen ökade noggrannheten till 97,8 % (135/138). Författarna spekulerar i om formalinbehandlingen kan ge strukturella förändringar i TM-peptiden som gör att vaccinerade katter reagerar mindre på den ursprungliga peptiden som används i ELISA. Ytterligare en studie som använde samma metoder, men med "blindade" grupper, gav liknande resultat (Levy et al., 2008).

Alternativa vaccinmetoder

En alternativ metod till kommersiellt vaccin kan vara att använda sig av dendritiska celler. Dendritiska celler är de enda celler som kan presentera exogena antigen för både T-hjälparceller och cytotoxiska T-celler. Efter mognad kan dendritiska celler transportera sig till närbelägna lymfknotor där de presenterar antigen och stimulerar immunförsvaret. På så vis kan dendritiska celler beskrivas som ett naturligt adjuvans. Freer et al. (2008) utförde en studie för att utvärdera om dendritiska celler laddade med FIV kan fungera som ett vaccin med förbättrad effektivitet jämfört med kommersiellt vaccin. En grupp katter injicerades upprepade gånger med dendritiska celler som innehöll inaktiverade viruspartiklar. De dendritiska cellerna hade mognat efter stimulering av LPS (lipopolysackarider). Två månader efter den sista injektionen inokulerades FIV. CD4⁺/CD8⁺ T-cellsmängder, mängd av provirus i PMBC och antikroppstitrar kontrollerades. Resultaten jämfördes med en kontrollgrupp som fick dendritiska celler utan FIV och en helt obehandlad grupp. Immunsystemet reagerade på vaccinet och vaccinerade katter uppvisade antikroppstitrar mot FIV samt en ökad T-cellsproliferation. De fick dock inget fullgott skydd mot infektion, då fem av åtta individer blev infekterade, ett resultat som är jämförbart med kontrollgrupperna, där två av fem respektive två av tre blev infekterade med FIV. Författarna av studien tror att man hade fått bättre resultat med fler dendritiska celler, vilket inte var möjligt att producera vid tidpunkten

för studien. Det är också möjligt att de dendritiska cellerna inte hade uppnått rätt mognadsgrad.

Omfattande forskning har gjorts kring utveckling av DNA-vaccin. DNA-vaccin består av bakterieplasmider som har blivit genetiskt modifierade så att de uttrycker gener som kodar för virala proteiner. När vaccinet tas upp i den vaccinerade individens celler börjar de att producera virala proteiner vilket framkallar ett immunsvår. Erfarenhet från tidigare försök visar att DNA-vaccin kan framkalla ett gott cellulärt immunsvår, både cytolytiskt och icke-cytolytiskt, men vaccinerade individer får endast ett mycket svagt antikroppssvår (Dunham, 2006b). Inget DNA-vaccin finns för närvarande kommersiellt tillgängligt. Ett sätt att förbättra effektiviteten kan vara att kombinera viralt DNA med cytokiner. Maskaerekul et al. (2009) studerade effekterna av vaccinering med en bakterieplasmid som integreras med ett modifierat provirus där *vif*-sekvensen hade tagits bort, kombinerat med olika cytokiner. I deras studie delades trettiosex katter in i sex grupper, varav en kontrollgrupp. Katterna injicerades med modifierat provirus ensamt eller kombinerat med TNF- α , IL-15 eller tillväxsfaktorn GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor). Överlag var immuncellsproliferationen låg eller mycket låg och inget skydd mot infektion kunde ses. Man fann dock att viralt DNA kombinerat med TNF- α och GM-CSF kunde bevara en del av funktionen hos CD4⁺-celler. Virusneutraliserande antikroppar mot FIV hittades endast hos gruppen som vaccinerats med viralt DNA och IL-15, då i liten mängd.

DISKUSSION

Framställning av vaccin mot lentivirus innebär unika utmaningar och svårigheter. Om man finner ett effektivt vaccin kan man förhindra att ett stort antal katter blir infekterade med FIV. Det kan också innebära att man kommer närmare en lösning av problematiken med HIV-vaccin.

När vacciner ska testas bör förhållandena i studier efterlikna de förhållanden som råder naturligt. Långtidsförsök med ett stort antal försöksdjur som interagerar med varandra hade förmodligen speglat naturliga förhållanden på ett bra sätt och gett de mest pålitliga resultaten. Det är dock både praktiskt och ekonomiskt omöjligt och tveksamt ur en etisk synvinkel. Studiepopulationerna i de granskade studierna var väldigt små. Det kan ibland vara svårt att dra några slutsatser och få resultat som är statistiskt signifikant med så få individer. I realiteten används inokulering, även om kontaktsmitta har används som metod i vissa studier (Kusuhara et al., 2005). Idealet hade varit att använda infekterat saliv, men oftast används fria viruspartiklar eller infekterade celler. Den dos av virus man använder vid försök har diskuterats. Det finns lite forskning på den infektiösa dosen vid naturlig infektion. I studier används mellan 10-100 CID₅₀. Det kan tänkas att den infektiösa dosen i verkligheten är lägre och att vaccinets effektivitet är större än vad som framkommer i studier. Studien av Kusuhara et al. (2005) gav en antydning om att virus inte överförs och infekterar i hög grad mellan djur.

Av icke-vaccinerade djur blev endast hälften (4/8) infekterade trots nära kontakt med infekterade katter under lång tid.

Det råder en stor osäkerhet kring effektiviteten hos det kommersiella vaccinet Fel-O-Vax FIV®. Effektiviteten mot subtyp B har visat sig god (Pu et al., 2001; Pu et al., 2005), men det råder olika uppfattningar hos olika forskare om skyddet mot andra subtyper. Forskning har visat att vaccinet ger ett dåligt skydd mot subtyp A trots att virus av subtyp A är en av beståndsdelarna i vaccinet. Förklaringen tros vara att virus av stam Petaluma (A) är en mer avirulent stam och ger ett sämre immunsvaret än andra underarter av subtyp A. Vaccinet har framförallt gett ett dåligt skydd mot FIV Glasgow-8 (FIV_{GL8}), som i studier har visats vara mycket virulent och ge höga virusmängder i plasma efter inokulering. FIV_{GL8} kan kanske också vara mindre mottaglig för virusneutraliserade antikroppar på grund av antigena olikheter. Det är dock inte känt hur vanligt förekommande FIV_{GL8} är, och mer forskning krävs på vilka subtyper och stammar som existerar ute i fält. Det har visats att laboriestammar och fältstammar har olika celltropism beroende på olikheter i Env-protein och användande av receptor CD134 och co-receptor CXCR4 (Hosie & Beatty, 2007). Detta kan ha stor betydelse för patogenes och utveckling av sjukdom. Det är oklart om subtyper representerar olika typer av antigenicitet och det finns i nuläget inga bevis på att olika subtyper påverkar vaccinets effektivitet.

De riskgrupper som hittills har identifierats är katter av hanligt kön, utomhuslevande och individer som uppvisar aggressivt beteende (Yamamoto et al., 1989; Gleich et al., 2009). Detta kan förklaras med dessa individer oftare hamnar i slagsmål och viruset då överförs via bitt. I kattuppfödningar och liknande lever katter ofta tätt tillsammans i stora grupper men uppvisar inga höga prevalenser av FIV. Förmodligen beror detta på att det inte förekommer konflikter och aggressivt beteende i dessa grupper.

Forskningen kring FIV i Sverige är mycket begränsad. Forskning från närliggande länder som Tyskland och Storbritannien borde kunna tillämpas även på populationer i Sverige. Man kan därför tänka sig att FIV finns i en prevalens på 2-3 % även i Sverige, om man jämför med prevalensen i Tyskland (Gleich et al., 2009). SVA diagnosticerar 5 till 10 fall per år, men eftersom FIV kan ge endast milda symptom kan det tänkas att många infekterade katter aldrig blir diagnosticerade med FIV. Mörkertalet kan också vara stort eftersom drabbade katter behandlas för sekundära infektioner, medan den underliggande infektionen med FIV aldrig upptäcks. Man kan spekulera i om katter som tillhör riskgrupper, dvs. utomhuslevande okastrerade katter inte tas till veterinär lika ofta som renrasiga inomhuslevande katter. Det finns heller ingen forskning på vilka subtyper av viruset som kan förekomma i landet. För att kunna framställa ett vaccin som är effektivt även i Sverige krävs mer forskning.

ABCD (European Advisory Board on Cat Diseases) är ett europeiskt veterinärt expertorgan som bland annat ger råd om förebyggande åtgärder mot infektiösa kattsjukdomar. De rekommenderar ej rutinmässig vaccinering mot FIV på grund av osäker effektivitet mot europeiska isolat och svårigheter med serologisk diagnostik (Hosie et al. 2009).

Det finns både fördelar och nackdelar med vaccinering. Det kommersiella vaccinet ger ett visst skydd mot infektion men effektiviteten är oklar mot europeiska subtyper. Det har tvärtom rapporterats om ökad virusreplikation efter vaccinering. Diagnostik kan påverkas av vaccinering, då vaccinerade individer får ett positivt resultat på rutintester för FIV. Om vaccinering ska utföras rutinmässigt är det av stort intresse att utveckla kommersiella tester som kan skilja på infekterade respektive vaccinerade individer. Lovande resultat har presenterats i flera studier (Kusuhara et al., 2007; Levy et al., 2008), men någon kommersiell metod finns inte tillgänglig. Man bör noga överväga fall till fall, om man ska vaccinera mot FIV. Ett alternativ kan vara att enbart vaccinera katter som tillhör riskgrupper.

Alternativa vaccinnöjligheter har forskats fram och utvärderats. Ett par exempel finns beskrivna i denna litteraturstudie. En del studier visar positiva resultat och en försiktig optimism kring nya vaccinnöjligheter. Ännu finns inget vaccin som visar en bättre effektivitet än det vaccin som finns kommersiellt tillgängligt. Mer forskning behövs på virulens och på immunsystemets svar på lentivirus. I framtiden tros framförallt DNA-vaccin som förstärks med immunogena substanser spela en avgörande roll. Utveckling av ett effektivt vaccin är av stort värde, både för människor och för djur.

LITTERATURFÖRTECKNING

Ackley, C. D., Yamamoto, J. K., Levy, N., Pedersen, N. C. & Cooper, M. D. (1990). Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 64, 5652–5655.

Dunham, S. P., Bruce, J., MacKay, S., Golder, M., Jarrett, O. & Neil, J. C. (2006a). Limited efficacy of an inactivated feline immunodeficiency virus vaccine. *The Veterinary Record*, 158, 561-562.

Dunham, S. P. (2006b). Lessons from the cat: Development of vaccines against lentiviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 112, 67-77.

Freer, G., Matteucci, D., Mazzetti, P., Tarabella, F., Catalucci, V., Ricci, E., Merico, A., Bozzacco, L., Pistello, M. & Bendinelli, M. (2008). Evaluation of feline monocyte-derived dendritic cells loaded with internally inactivated virus as a vaccine against feline immunodeficiency virus. *Clinical and Vaccine Immunology*, 15, 452–459.

Gleich, S. E., Krieger, S. & Hartmann, K. (2009). Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 985–992.

Hosie, M. J. & Beatty, J. A. (2007). Vaccine protection against feline immunodeficiency virus: setting the challenge. *Australian Veterinary Journal*, 85, 5-12.

Hosie, M. J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Grazia Pennisi, M., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2009). Feline immunodeficiency, ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 575–584.

Kusuhara, H., Hohdatsu, T., Okumura, M., Sato, K., Suzuki, Y., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Huang, C., Arai, S. & Koyama, H. (2005). Dual-subtype vaccine (Fel-O-Vax FIV) protects cats against contact challenge with heterologous subtype B FIV infected cats. *Veterinary Microbiology*, 108, 155–165.

Kusuhara, H., Hohdatsu, T., Seta, T., Nemoto, K., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Huang, C., Arai, S. & Koyama, H. (2007). Serological differentiation of FIV-infected cats from dual-subtype feline immunodeficiency virus vaccine (Fel-O-Vax FIV) inoculated cats. *Veterinary Microbiology*, 120, 217–225.

Levy, J. K., Crawford, P. C., Kusuhara, H., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Arai, S., Bienzle, D. & Hohdatsu, T. (2008). Differentiation of feline immunodeficiency virus vaccination, infection, or vaccination and infection in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22, 330–334.

Lutz, H., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Marsilio, F., Grazia Pennisi, M., Radford, A. D., Thiry, E.,

- Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2009). Feline Leukaemia : ABCD Guidelines on Prevention and Management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 565-574.
- Maksaerekul, S., Dubie, R. A., Shen, X., Kieu, H., Dean, G. A. & Sparger, E. E. (2009). Vaccination with vif-deleted feline immunodeficiency virus provirus, GM-CSF, and TNF- α plasmids preserves global CD4 T lymphocyte function after challenge with FIV. *Vaccine*, 27, 3754–3765.
- Pedersen, N. C., Ho, E. W., Brown, M. L. & Yamamoto, J. K. (1987). Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science*, 235, 790–793.
- Pu, R., Coleman, J., Omori, M., Arai, M., Hohdatsu, T., Huang, C., Tanabe, T. & Yamamoto, J. K. (2001). Dual-subtype FIV vaccine protects cats against in vivo swarms of both homologous and heterologous subtype FIV isolates. *AIDS*, 15, 1225–1237.
- Pu, R., Coleman J., Coisman, J., Sato, E., Tanabe, T., Arai, M. & Yamamoto, J. K. (2005). Dual-subtype FIV vaccine (Fel-O-Vax FIV) protection against a heterologous subtype B FIV isolate. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7, 65–70.
- Richardson, J., Broche S., Baud, S., Leste-Lasserre, T., Féménia, F., Levy, D., Moraillon, A., Pancino, G. & Sonigo, P. (2002). Lymphoid activation: a confounding factor in AIDS vaccine development?. *Journal of General Virology*, 83, 2515-2521.
- Shimojima, M., Miyazawa, T., Ikeda, Y., McMonagle, E. L., Haining, H., Akashi, H., Takeuchi, Y., Hosie, M. J. & Willett, B. J. (2004). Use of CD134 as a primary receptor by the feline immunodeficiency virus. *Science*, 303, 1192–1195.
- Sodora, D. L., Shpaer, E. G., Kitchell, B. E., Dow, S. W., Hoover, E. A. & Mullins, J. I. (1994). Identification of three feline immunodeficiency virus (FIV) env gene subtypes and comparison of the FIV and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns. *Journal of Virology*, 68, 2230–2238.
- Steinrigl, A. & Klein, D. (2003). Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus in Central Europe: a prerequisite for vaccination and molecular diagnostics. *Journal of General Virology*, 84, 1301–1307.
- Uhl, E. W., Martin, M., Coleman, J. K. & Yamamoto, J. K. (2008). Advances in FIV vaccine technology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 65-80.
- Yamamoto, J. K., Hansen, H., Ho, E. W., Morishita, T. Y., Okuda, T., Sawa, T. R., Nakamura, R. M. & Pedersen, N. C. (1989). Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194, 213-220.