



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vaccination av katt - immunologiskt skydd och eventuella njurskador

Ann-Catrin Hagblom



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 77

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vaccination av katt – immunologiskt skydd och eventuella njurskador

Feline vaccination – immunologic protection and possible kidney damage

Ann-Catrin Hagblom

Handledare:

Caroline Fossum, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

Magnus Åbrink, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

Examinator:

Eva Tydén, 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: 2013

Omslagsbild: Ann-Catrin Hagblom

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 77
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Vaccination, kattpest, njurskador, interstitiell nefrit, antikroppar.

Key words: Vaccination, panleukopenia, kidney damage, interstitial nephritis, antibodies.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metod.....	3
Litteraturoversikt.....	4
Vaccinationsrekommendationer och tillverkning	4
Vaccinets möjliga kopplingar till njurskador	4
Identifiering av antigen	5
Eventuell betydelse av antikroppar mot α -enolas och annexin II	5
α -enolas	6
Antikroppar mot α -enolas	6
Annexin II	7
Antikroppar mot Annexin II.....	7
Det immunologiska skyddets duration efter vaccination av katt	8
Vaccin innehållande avdödade virus.....	8
Vaccin innehållande levande virus.....	9
Maternella antikroppars inverkan vid vaccination mot FPV	9
Skillnad i serologisk respons efter vaccination med levande- eller avdödat virus.....	10
Diskussion	11
Antikroppar och interstitiell nefrit.....	11
Rädsla för vaccination	12
Vaccinationsintervall.....	12
Slutsats	13
Referenslista	14

SAMMANFATTNING

Under åren 2005-2010 utförde en forskargrupp från Colorado State University studier på vaccinerade katter och fann att katter utvecklade antikroppar mot sina egna njurar efter vaccination med vanligt förekommande basvaccin mot parvovirus, calicivirus och herpesvirus. Virus till vaccinen är odlade på en cellinje från kattnjurar och går under benämningen Crandell Rees Feline Kidney. Antikropparna riktade sig mot antigen identifierade som annexin II och α -enolas och man såg tecken på interstitiell nefrit hos 50 % av katter som hyperinokulerats med Crandell Rees Feline Kidney. Hos människa och mus har antikroppar mot α -enolas och annexin II kopplats till autoimmuna sjukdomar och då framförallt immunologiska reaktioner mot njurcellerna. Man misstänker att vaccinationerna kan orsaka liknande skador på katt, men mer forskning krävs för att fastställa detta.

I samma veva började även vaccinationsintervallen studeras och ifrågasättas. Studier har visat att katter har skydd mot parvovirus i minst 7.5 år och troligtvis längre. Det immunologiska skyddet mot herpes- och calicivirus har visat sig kvarstå i 3-4 år eller mer efter att katter har serokonverterat. Ett problem vid vaccination av kattungar och unga katter är kvarvarande maternella antikroppar som förhindrar serokonvertering och eget skydd mot virusen. För att förhindra övervaccination av katter som redan har immunologiskt skydd mot virus bör man utföra mer omfattande serologiska undersökningar för att bedöma den individuella kattens behov av revaccination.

SUMMARY

Between the years 2005-2010 a group of scientists from Colorado state university discovered that cats vaccinated with common core vaccines against feline panleukopenia, calicivirus and rhinotracheitis, developed antibodies against feline renal cells. The viral antigens in the vaccines are grown in feline renal cells known as Crandell Rees Feline Kidney. Detected autoantibodies were found to recognize antigens in form of annexin II and α -enolase and there were signs of interstitial nephritis in 50% of the cats hyperinoculated with Crandell Rees Feline Kidney. Studies in human and mice have shown that these antibodies are associated with many types of autoimmune diseases, especially immunologic responses to the kidney. A definitive association between kidney disease in felines and average administration of vaccine cannot be made at this stage – further investigation is needed.

The guidelines for feline vaccination have also been questioned and further analysed. Studies have shown that vaccinated cats do develop long-term immunity after seroconversion; 7.5 year for feline panleukopenia and 3-4 years or more for calicivirus and rhinotracheitis. A delayed seroconversion was however discovered in kittens and young cats with remaining maternal antibodies. To prevent unnecessary vaccinations of cats that already have full immunity against these viruses, a more extensive serologic evaluation should be made to determine the need of re-vaccination in the individual cat.

INLEDNING

Kattpest orsakas av parvovirus (FPV) och är en fruktad virussjukdom hos katt. Viruset förökar sig i snabbt delande celler och orsakar symptom som leukopeni och våldsamma diarréer med uttorkning och inte sällan död hos unga individer. Drabbade katter påträffas framförallt i områden där många katter är ovaccinerade (SVA, 2012). Trots kännedom om sjukdomen är det sällan som privatpersoner ser kattpestdrabbade katter idag. Detta beror sannolikt på att det sedan en längre tid tillbaka funnits mycket effektiva vaccin mot viruset samt att man varit noga med vaccinationsrutinerna.

Ett annat, betydligt vanligare sjukdomstillstånd som ses hos katter idag är njursvikt. Hos drabbade katter ses ofta interstitiell nefrit och histologiska fynd i form av infiltrerade lymfocyter och plasmaceller i njurvävnaden. Det finns flera teorier till varför katter drabbas och vissa forskare har även undersökt om immunmedierade reaktioner orsakade av vaccination kan vara en bidragande faktor. Lappin (2005) visade att katter utvecklade antikroppar mot sina egna njurar efter vaccination. Detta uppmärksammades av allmänheten och på internet finns flertalet sidor med mer eller mindre nyanserade åsikter kring detta; några av dem med uppmaningen om att man inte ska vaccinera sin katt. I samma veva började vaccinationsintervallen kritiserats och ifrågasättas framförallt i USA och omfattande studier på immunitetens varaktighet mot framförallt parvovirus har senare resulterat i att man relativt nyligen (2010 i Sverige) omprövat och förlängt de rekommenderade vaccinationsintervallerna för katt. Denna litteraturstudie syftar till en fördjupning i dessa undersökningar kring vaccinet eventuellt skadliga effekter på njuren, samt längden av vaccinationernas skydd mot FPV, calicivirus (FCV) och herpesvirus (FHV). Jag vill även ta reda på om skyddet mot virusen varierar mellan olika former av vaccin (avdödade och levande) och vad som eventuellt kan påverka utvecklingen av det immunologiska skyddet. Om misstanken om njurskador i realiteten stämmer är det viktigt att man inte vaccinerar katter i onödan och jag vill därför koncentrera mig på studier som undersökt vaccinationsskyddets längd. För att inte riskera katters hälsa, både vad gäller njurskador och risken för kattpest, är det viktigt att man tar hänsyn till samtliga faktorer.

MATERIAL OCH METOD

För litteratursökning i ämnet användes framförallt databaser som Web Of Knowledge och PubMed. Sökord för artiklar inom vaccination av katt och immunitetens duration var (feline panleukopenia) AND "Vaccine", "cats" AND "duration" AND "vaccines". Information kring antikropparnas betydelse hittades via sökord som "(auto)antibodies/autoimmune" AND " α -enolas*/annexin II". Jag kände sedan tidigare till MR Lappins forskning och sökte därför på hans namn; Lappin AND (Crandell Rees). Information om vaccintillverkning hittades via sökord som (vaccine process) AND "virus" AND "review". Till största del har originalartiklar varit källor till arbetet men ett fåtal review-artiklar har använts för basinformation om sjukdomstillstånd. En review-artikel användes för kortare information om α -enolas och antikroppar riktade mot dessa på grund av svårigheter att nå originalartikeln. Denna review-artikel är skriven av samma forskare som utfört originalstudierna och jag bedömer därför informationen som mycket trovärdig.

LITTERATURÖVERSIKT

Vaccinationsrekommendationer och tillverkning

Till kattens basvaccin räknas vaccin som skyddar mot FPV, FCV och FHV. Kattungar har skydd från maternella antikroppar under de första veckorna och grundvaccineras därför för första gången vid 7-8 veckors ålder och får sedan en revaccination vid 12 veckors ålder. Därefter rekommenderas revaccination mot FPV vid ett års ålder och sedan ytterligare vart tredje år. Utöver detta kan vaccination föreslås om katten anses leva under ökat smittryck eller har kvarvarande maternella antikroppar. Behovet av revaccination mot FHV och FCV varierar också beroende på smittryck; katter som lever under ökad risk för smitta rekommenderas årliga vaccinationer, medan ensamlevande katter kan vaccineras vart tredje år (SVA, 2012). Den vanligaste formen av kattvaccin som används idag är ett kombinationsvaccin FVRCP (Feline Viral Rhinotracheitisvirus, Calicivirus, Parvovirus) innehållande levande attenuerat FPV, FCV och FHV där virus har odlats på cellinjer från kattnjurar. Dessa cellinjer etablerades under 70-talet och går under namnet Crandell Rees Feline Kidney (CRFK) (Lappin et al., 2005). Vid framställning av virusvaccin förökar man virus i dessa celler. För att rena fram virus som växer i cellerna lyserar man cellerna så att virus och cellkomponenter hamnar fritt i ett lysat. Därefter renas virus ur cell-lysatet ofta med hjälp av olika former av centrifugering och filtrering. Man kan även använda kromatografi för att rena fram virus och separera molekyler av olika storlek från varandra (Morenweiser, 2005). Trots rening går det inte att garantera att vaccinen är helt fria från cellproteiner (Lappin et al., 2005).

Vaccinets möjliga kopplingar till njurskador

Lappin (2005) uppmärksammade att katter som vaccinerats med virusvaccin odlade på CRFK utvecklade antikroppar mot cellproteinerna i CRFK och även mot felina renala celler (FRC). I försöket studerades 14 katters antikropps bildning efter tillförelse av olika vaccin eller CRFK-lysat. Katterna delades in i grupper om två där tre av kattgrupperna fick varsitt vanligt parenteralt FVRCP-vaccin: Felocell, PureVax och Fel-o-vax. En grupp fick intranasalt/intraokulärt (IN) vaccin: Trivalent. Resterande tre grupper fick olika sammansättningar av CRFK-lysat: 10 µg, 50 µg och 50 µg + Alum. Katterna som fick FVRCP-vaccinen fick dessa efter vaccinationsrekommendationerna, medan katterna i CRFK-grupperna hyperinokulerades med 2-4 veckors mellanrum. Totalt fick CRFK-grupperna 12 subkutana injektioner vilket skulle motsvara totala mängden CRFK en katt erhåller under hela sitt liv vid vaccination. Efter sista revaccinationen togs njurbiopsier och under studiens hela gång togs kontinuerliga blod- och urinprover på samtliga katter. Resultatet av studien visade på stora skillnader i antikropps bildning mellan IN-gruppen och övriga grupper. Vid studiens start kunde inga antikroppar påvisas vare sig mot CRFK eller mot FRC hos någon av katterna. Under studiens gång konstaterades emellertid antikroppsutveckling både mot CRFK-lysatet och FRC. Fem av sex katter som fått kommersiellt FVRCP-vaccin och samtliga katter som fått CRFK-lysat utvecklade antikroppar mot CRFK. Alla katter utvecklade antikroppar mot FRC med undantag för de katter som fått IN-vaccination. De histologiska undersökningarna visade inte på några förändringar hos någon av katterna och katterna kunde inte heller uppvisa några kliniska eller subkliniska symtom på njurskada (Lappin et al., 2005). En kortare uppföljning av katterna ur IN-gruppen samt CRFK-gruppen gjordes efter ett år (totalt 8

katter). Samtliga katter fick revaccinationer med tidigare erhållna substans. Njurbiopsier som utfördes två veckor senare visade på förändringar med milda till måttliga tecken på interstitiell nefrit hos en katt ur varje grupp - utom katter från IN-gruppen. En av katterna som fått CRFK-lysat i koncentrationen 10 µg hade kraftiga inflammatoriska förändringar. Forskargruppen misstänkte att en immunmedierad reaktion var orsaken till den interstitiella nefrit som kunde ses hos katter som hyperinokulerats med CRFK-lysat. Man poängterade dock osäkerheten i om dessa skador hade uppstått om katterna vaccinerats med rekommenderade intervaller; i båda försöken använde man koncentrationer av CRFK-lysat motsvarande den uppskattade mängd som förekommer i kommersiella FVRCP-vaccin, men med betydligt tätare vaccinationsintervall. Eftersom störst immunrespons sågs hos katten som fått lägst koncentration av CRFK-lysat (10 µg) misstänkte forskargruppen att resultaten troligen berodde på individuella skillnader hos katterna och inte på koncentrationen av CRFK-lysat. Teorin kring varför katterna som vaccinerades IN inte utvecklade vare sig antikroppar eller njurskador var att CRFK-cellerna troligen inte passerar nasala mucosan och orsakar enbart en lokal IgA produktion – medan katter som vaccinerats subkutant producerar mer IgG (Lappin et al, 2006). (Lappin et al, 2006).

Identifiering av antigen

En större studie utfördes på 44 katter för att identifiera de exakta antigen antikropparna riktades mot. Serum från 14 katter användes i Western-blot för att identifiera antigen i två steg; dels via hyperinokulerat polyklont kaninantiserum (Tabell 1) och därtill även via humant α -enolas och annexin II för att bekräfta misstänkta antigen. Det senare försöket visade att 6 av 14 kattserum reagerade med annexin II och 8 av 14 band till α -enolas. Serum från ytterligare 30 katter analyserades via indirekt-ELISA för att verifiera antikropparnas bindning till misstänkta antigen (Whittemore et al., 2010).

Eventuell betydelse av antikroppar mot α -enolas och annexin II

Uppgifter om antikroppar riktade mot α -enolas och annexin II finns inte inom veterinärmedicinen men man har på humansidan sett kopplingar mellan dessa antikroppar och autoimmuna tillstånd. Autoimmuna sjukdomar som systemisk lupus erythematosus (SLE) orsakar skov med inflammationer och organskador i olika delar av kroppen. Ett vanligt förekommande problem hos SLE patienter är njurskador, så kallad lupus nefrit (LN), till följd av immunkomplexbildning och därefter komplementaktivering (Figur 1) (Yung et al., 2010). Två diagnostiska kriterierna för SLE är förekomst av antikroppar mot dubbelsträngat DNA (anti-dsDNA) och en mängd olika antinukleära antikroppar (ANA) (Lupus Research Institute, 2013). Utöver dessa ser man tecken som tyder på att många LN-specifika antikroppar känner igen och binder till komponenter på cellytan och extracellulärt matrix i njuren (Yung et al., 2010). Bland de antikroppar som uppmärksammas hittas IgG riktade mot α -enolas och annexin II (Migliorini et al., 2002; Yung et al., 2010).

Tabell 1. Markeringen anger förekomst av identifierade antigen i form av α -enolas och annexin II hos individuella katter ($n=14$) som injicerats med CRFK-lysats respektive FVRCP-vaccin (Lappin et al., 2010)

	Förekomst av autoantigen			Förekomst av autoantigen	
	α -enolas	Annexin		α -enolas	Annexin
Katter som erhållit CRFK-lysats			Katter som erhållit FVRCP-vaccin		
L1	•	•	V1	•	
L2	•	•	V2	•	
L3	•	•	V3	•	•
L4	•	•	V4	•	
L5			V5	•	
L6			V6		
			V7	•	•
			V8	•	

α -enolas

α -enolas är ett glykolytiskt enzym som återfinns i flera olika celler i kroppen, framförallt njuren och tymus. Enzymet är mycket konserverat mellan eukaryota och prokaryota celler samt mellan olika arter. Förutom funktionen som glykolytiskt enzym, uttrycks det på cellmembran och har en del i blodets antikoagulation då det fungerar som en plasminogenreceptor som omvandlar plasminogen till plasmin. α -enolas fungerar också som ett stressprotein vid hypoxi där det skyddar cellen och ser till att den övergår till en mer anaerob metabolism (Terrier et al., 2007).

Antikroppar mot α -enolas

Det är känt att antikroppar mot α -enolas kan ses hos människor med infektiösa och autoimmuna sjukdomar som exempelvis SLE. Serum från dessa patienter kan innehålla stora mängder α -enolas antikroppar medan dessa endast återfunnits hos 0 – 6 % av friska kontroller (Terrier et al., 2007). Antikropparna misstänks ha en association med njurpåverkan då de framförallt hittas hos patienter med nefrit (Muscato et al., 2000). Troligen har antikropparna njurskadande effekt då de förhindrar inbindning av plasminogen till α -enolas - fibrinolysen minskar och kan då skada njurvävnaden (Muscato et al., 2000; Migliorini et al., 2002). Studier av LN-patienter har visat att α -enolas uttrycks i glomeruli; hos friska kontroller ses α -enolas enbart i tubuli och kan inte mätas i glomeruli. Man misstänker i och med detta att α -enolas kan fungera som en nefrogent autoantigen och bildade immunkomplex skadar njurendotelet och initierar den klassiska komplementkaskaden (Migliorini et al., 2002). Ytterligare bevis på att α -enolas fungerar som autoantigen ser man hos patienter med membranös glomerulonefrit (MGN). Hos dessa patienter hittas deponerade immunkomplex av IgG och α -enolas i glomeruli. En gemensam omständighet hos både MGN- och LN-patienter är förekomst av antikroppar riktade mot α -enolas (Bruschi et al., 2011).

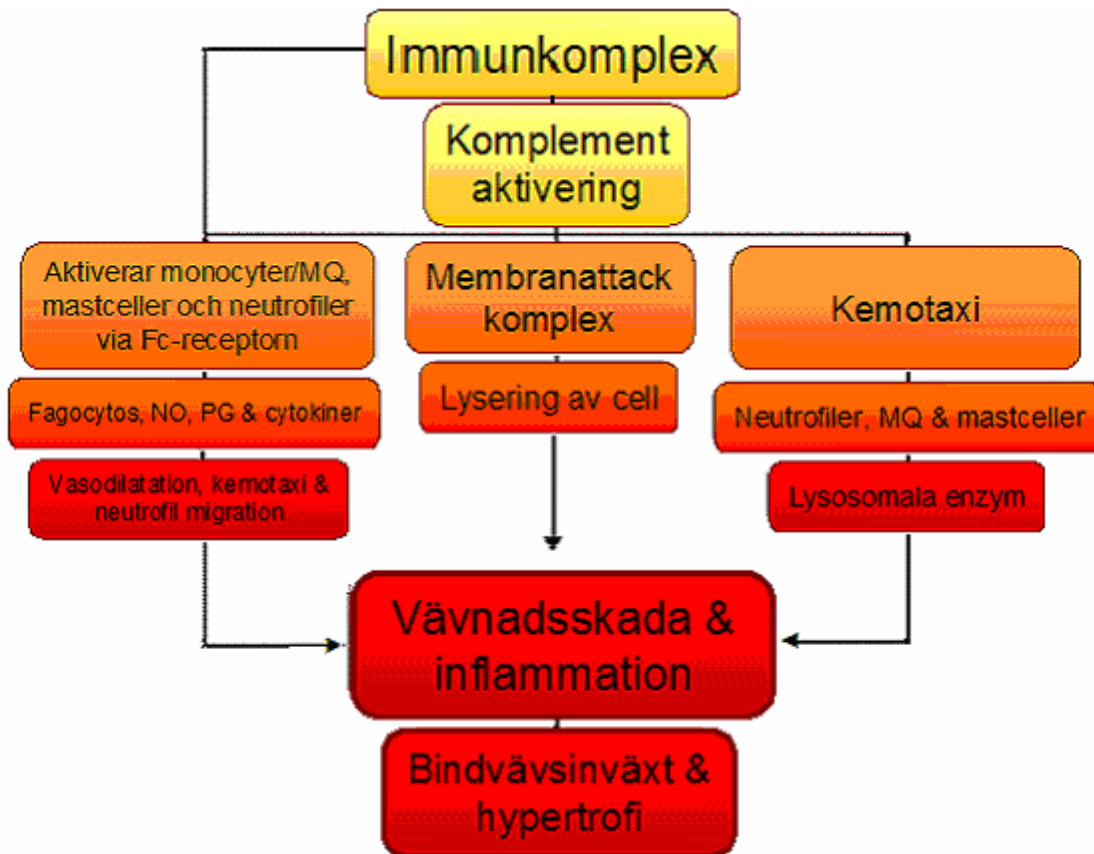
Annexin II

Annexin II är ett protein som är involverat i flertalet cellulära processer - däribland reglering av cellens mobilitet, exocytos/endocytos, intracellulär signalöverföring samt reglering av antikoagulering. Proteinet är lokaliserat både intracellulärt och extracellulärt i cellmembranet (Salle et al., 2008). Annexiner är genetiskt konservativa och uttrycks hos både växter och djur (Gerke & Moss, 2001). På renala epitelceller har annexin II dessutom en funktion där det kan binda upp kalciumoxalatkrystaller och proteinet är därmed även delaktigt i uppkomsten av njurstenar (Kumar et al., 2002).

Antikroppar mot Annexin II

Antikroppar mot annexin II är kopplat till flertalet autoimmuna sjukdomar – speciellt hittas dessa hos patienter med SLE och Antifosfolipidsyndromet (APS). Människor som lider av APS har en ökad benägenhet att bilda trombosor och annexin II-antikroppar är en trolig del av deras patogenes. I en studie av dessa patienter såg man att anti-annexin II av IgG-typ ökade uttrycket av faktorer som initierar blodkoagulering samtidigt som de hämmade omvandlingen av plasminogen till plasmin som annars ska verka fibrinolytiskt och lösa upp blodkoagel. Förekomst av antikroppar mot annexin II hos friska individer var 2.1%. Hos SLE patienter var samma siffra 6.3% och hos patienter med SLE och samtidig APS 25.8%. Man tror därför att antikroppar mot annexin II är involverat i patogenesen för APS (Cesarman-Maus et al.,2006)

Ett välkänt fenomen hos patienter med SLE och LN är produktion av antikroppar mot dubbelsträngat DNA (dsDNA). Man har även sett en misstänkt korsreaktivitet hos dessa dsDNA-antikroppar riktade mot annexin II. Yong och Cheung (2011) studerade sambandet mellan dsDNA-antikroppar och annexin II och fann att dsDNA-antikroppar använde annexin II för att binda in till cellerna för att sedan ta sig in i cellkärnan. Hos patienter med LN band 65 % av dsDNA-antikropparna till annexin II. Om patienten befann sig i ett samtida skov band samtliga antikroppar (100%) till annexin II. Man såg även att patienter med höga anti-annexin II serumtitrar sammanföll med sjukdomens aktivitet i njuren. Likaså fann forskarna att uttrycket av annexin II var kraftigt uppreglerat både glomerulärt och tubuliinterstitiellt hos SLE-patienter med LN och deponerade immunkomplex i glomeruli innehöll också annexin II. Forskarna menar att de inflammatoriska cytokinerna IL-6 och INF- γ som produceras vid interstitiell nefrit kan öka syntesen av annexin II samt förvärra nefriten. Sammantaget anses av forskarna tyda på att annexin II har en patogen roll i utveckling av LN (Yung et al.,2010).



Figur 1. Deponerade immunkomplex orsakar ytterligare inflammation när immunceller aktiveras via Fc-receptorn och det klassiska komplementsystemet initierar MAC och lysis av kompleket. De inflammatoriska cellerna och dess mediatorer orsakar ytterligare kemotaxi samt orsakar skador och hypertrofi av vävnaden när de frisätter NO, prostaglandiner och cytokiner (Tizard, 2008).

Det immunologiska skyddets duration efter vaccination av katt

Vaccin innehållande avdödade virus

Scott och Geissinger (1999) utförde ett försök där man experimentellt infekterade vaccinerade och ovaccinerade katter med FPV, FCV och FHV och utvärderade sedan kattarnas immunologiska skydd efter vaccinationen. Man använde sig av ett trippelvaccin med avdödat virus och konstaterade att grundvaccinerade katter under studien hade ett fullgott immunologiskt skydd mot FPV. Studiens längd var 7.5 år och det immunologiska skyddet kunde därmed fastställas till den perioden – emellertid förmodade man att skyddet mot FPV var livslångt. I samma studie såg forskargruppen att höga antikroppstitrar mot FHV och FCV kvarstod i minst 3 respektive 4 år, samt att minnesceller kvarstod ≥ 7 år efter grundvaccination. De föreslog därmed ett vaccinationsintervall på tre år för trippelkombinationsvaccin (FPV, FHV, FCV) alternativt enbart dubbelvacciner (FHV, FCV) (Scott & Geissinger, 1999).

Vaccin innehållande levande virus

I en studie där man undersökte serologiskt svar mot tre levande antigen (FPV, FCV och FHV) hos katter som vaccinerats med olika tidsintervall blev slutsatsen att de flesta katter har immunitet med höga antikropstitrar mot samtliga virus i minst fyra år eller mer. Det forskargruppen främst betonade var att även mycket låga mängder antikroppar hade en skyddande effekt. Enligt tidigare hypoteser tros katter som naturligt exponeras för smitta ha ett bättre immunsvaret och högre antikropstitrar än exempelvis strikta innekatter. I försöket delades därför katterna även in i lågrisk- och högriskgrupper utifrån om katterna varit utsatta för lägre eller högre smittorisker (ex ensamlevande/flerkattshushåll och innekatt/utekatt). På detta vis kunde man studera om immunsvaret skiljde mellan grupperna. Någon skillnad i serologisk svar kunde dock inte påvisas. Forskargruppen menar att en förklaring till detta kunde vara att de exkluderat katter som varit smittade av FPV, FCV och FHV ur studien. Undantag i immunologiskt skydd förekom hos ett fåtal katter som inte hade tillräckligt höga antikropstitrar. Baserat på studiens resultat ställde sig forskargruppen bakom dagens rekommenderade vaccinationsintervall på 3 år – men föreslår att katter som inte svarar serologiskt efter 12-18 månader bör revaccineras årligen i två år efter grundvaccinationen. Detta då katten förmodligen är ung och inte har ett fullt utvecklat immunförsvar. Författarna påpekar även att studien enbart utgick från serologiska tester och att fler omständigheter speglar det immunologiska skyddet utöver mätbara antikropstitrar; nämnda faktorer var det cellmedierade försvaret och förekomst av minnesceller (Mouzin et al., 2004).

Maternella antikroppars inverkan vid vaccination mot FPV

Jakel och Cusser (2012) undersökte sambandet mellan maternella antikroppar och det immunologiska svaret hos 64 kattungar vid tre vaccinationer och tre olika levande vacciner. Innan vaccination vid 8 veckors ålder hade 92% av kattungarna skydd mot FPV. Dessa antikroppar hade enligt forskarna sitt ursprung endera från maternella antikroppar eller från FPV-infektion. Efter första vaccinationen fick sex kattungar väsentligt ökad mängd antikroppar medan resterande kattungar fick minskande antikropstitrar på grund av neutraliserande maternella antikroppar. Den minskade trenden sågs även vid vaccination två (12 veckors ålder) och tre (16 veckors ålder) hos vissa katter. I studien kunde man hitta maternella antikroppar hos de flesta kattungar upp till 12 veckors ålder och hos fyra kattungar ända upp till 20 veckors ålder. Hos två kattungar hittades inga antikroppar mot FPV överhuvudtaget och hos 36,7% av kattungarna skedde ingen serokonvertering under hela studiens gång, det vill säga katten bildade inte tillräckligt med antikroppar för att neutralisera antigen. Det fanns ett samband mellan utebliven serokonvertering och förekomst av kvarvarande maternella antikroppar – även mycket låg förekomst av maternella antikroppar förhindrade serokonvertering hos kattungarna (Jakel et al., 2012).



Odd-Molly. Foto: A-C Hagblom

Skillnad i serologisk respons efter vaccination med levande- eller avdödat virus

Lappin (2012) undersökte tidsskillnader för serokonvertering beroende på om katterna fick vaccin innehållande endera modifierade levande eller avdödade virus. Försöket utfördes på sjukdomsfria SPF (specific pathogen-free)- kattungar och vars mödrar även var seronegativa för FPV, FCV och FHV. Kattungarna saknade därmed neutraliserande maternella antikroppar.

- **FPV:** Försöket visade att samtliga kattungar, oavsett vaccin, serokonverterade inom 14 dagar. Kattungar som fick levande vaccin serokonverterade tidigare än de som fick avdödat vaccin, dock var skillnaden enbart signifikant fram till dag 7 (Lappin, 2012).
- **FHV:** Kattungarna serokonverterade tidigare om de fick avdödat vaccin, detta resultat stämde även överens med tidigare studier enligt Lappin. När man använde ett levande vaccin mot FHV krävdes en till två doser medan en dos oftast räckte vid användandet av avdödat vaccin. Dessa resultat är dock enligt Lappin utav mindre betydelse eftersom försvaret mot FHV framförallt sker via cellmedierade immunresponser (Lappin, 2012).
- **FCV:** Katterna tog längst tid på sig att serokonvertera mot FCV. Vid användandet av levande vaccin serokonverterade de flesta kattungar vid dag 21-28. Detta skedde vid dag 35 vid användandet av avdödat vaccin. Lappin trycker även här på betydelsen av cellmedierat försvar samt sammansättningen av virusstammar i vaccinet. Han hänvisar till tidigare studier som visat att skyddet blir bättre om man använder två stammar av FCV istället för en (Lappin, 2012).

DISKUSSION

Antikroppar och interstitiell nefrit

Det är svårt att helt klargöra om det verkligen föreligger en risk för njurskador till följd av vaccination av katter. Forskare (Whittemore et al., 2010) kan påvisa antikroppar hos vaccinerade katter riktade mot specifika strukturer som hos humana patienter är starkt kopplade till immunologiska reaktioner i njurvävnaden. Samma forskarteam (Lappin et al. 2006) har även sett interstitiell nefrit hos 50 % av katterna som hyperinokulerats med CRFK-lysat. Studierna är utförda på förhållandevis få katter – anmärkningsvärd är dock att andelen katter med antikroppsforekomst var hög. Att förkasta misstanken om njurskador kopplade till vaccinationen vore dumt, men däremot kan man fråga sig om risken för skador är så betydande att det blir ett kliniskt problem. De katter som uppvisade interstitiell nefrit fick upprepade vaccinationer med några veckor mellanrum; ett vaccinationsintervall som inte förekommer normalt hos kattpopulationen i stort. Något som saknas från forskargruppens studie (Lappin et al., 2006) är histologiska undersökningar på katterna som fick kommersiellt FVPCP-vaccin i *rekommenderade* vaccinationsintervaller. Frågan är om man hade sett tecken på interstitiell nefrit även hos dessa katter. Innan detta har påvisats kan man inte dra någon konkret slutsats i frågan.

Något samma forskargrupp inte heller tog upp är hur höga antikroppstitrarna mot annexin II och α -enolas var och hur länge de persisterade hos katten. Detta skulle vara intressant att veta då man i studier på människa och mus sett att höga antikroppstitrar mot annexin-II/dsDNA korrelerade med pågående njurskada (Yung et al., 2010). Huruvida antikropparna mot annexin II hos katt är relevanta i specifikt avseende för njurskador är svårt att svara på eftersom forskargruppen enbart kunde se att antikropparna reagerade på annexin II - de nämner inte att det handlar om dsDNA-antikroppar likt de som ses hos människor med SLE/LN. Emellertid ses antikroppar specifika mot annexin II, utan att vara dsDNA-antikroppar, hos människor drabbade av SLE med APS och är ett ovanligt fynd hos friska individer (Cesarman-Maus et al., 2006). Framförallt hittades dessa antikroppar hos människor med antikoaguleringssvårigheter – ett tillstånd som orsakar tromboser. Även antikropparna mot α -enolas stör fibrinolysen och dessa antikroppar sågs framförallt hos patienter med nefrit. Om samma tillstånd även föreligger hos katter så skulle det rimligtvis kunna påverka njurarna; orsaka hypoxi och apoptos av njurceller. Något som är intressant är att antikroppar hos katt riktas mot både α -enolas och annexin II, strukturer som var för sig är involverade i fibrinolytiska processer.

Antikroppar mot α -enolas hittas framförallt hos patienter med autoimmuna sjukdomar samt vid infektiösa tillstånd. Deponerade immunkomplex innehållande α -enolas återfanns även hos patienter med LN och MGN (Migliorini et al., 2002; Terrier et al., 2007; Bruschi et al., 2011). Visserligen injicerades katterna med FVPCP-vaccin innehållande virus och detta skulle kunna inducera ett infektiöst tillstånd som då kan förklara förekomsten av antikropparna. Dessa antikroppar sågs dock även hos katterna som injicerades med icke-infektiösa CRFK-lysat och antikropparna kan därmed inte förklaras med hypoteser om infektiös sjukdom hos dessa katter. En tolkning till förekomsten av antikropparna mot α -enolas, med hänvisning till

humanstudierna (Bruschi et al., 2011) kan vara att det föreligger en autoimmun reaktion hos katterna – då troligen riktade mot strukturer i njurcellerna. Något som därför skulle vara intressant att studera ytterligare är om immunkomplexen hos katt med njursjukdom består av utfällningar av just IgG och α -enolas (eller annexin II). Skulle detta verifieras skulle misstanken om antikropparnas skadliga effekter kunna komma att förstärkas.

Rädsla för vaccination

Lappins forskning (2005, 2006, 2010) har helt uppenbart resulterat i en rädsla för vaccinationer hos vissa kattägare i framförallt USA där artiklarna är mer omtalade, något som blir väldigt motsägelsefullt eftersom utebliven vaccination kan resultera i betydligt större hälsorisker för katten. Många glömmer bort att kattpest (FPV) är en mycket allvarlig sjukdom med hög mortalitet hos yngre individer. FPV är endemiskt, mycket långlivat och tåligt samt förekommer överallt i vår miljö – risken är därför stor att katter stöter på viruset och infekteras. Att avstå från att vaccinera sin katt av rädsla för hälsoskador är därför inte helt genomtänkt – dels då indicierna till njurskador i dagsläget inte är helt klarlagda, men även då risken att drabbas av framförallt kattpest ökar vid utebliven vaccination. Det man skulle kunna reflektera över är hur täta vaccinationsintervallen ska vara - utan att utsätta katten för extra hälsorisker i form av kattpest och/eller njurskador.

Vaccinationsintervall

Det har visat sig vara tämligen svårt att ge klara riktlinjer för vaccinationsintervallen efter en grundvaccination av den unga katten. De två studier (Scott & Geissinger, 1999; Mouzin et al., 2004) som undersökte hur länge katten hade skydd efter vaccination slår fast att immuniteten var mycket lång för samtliga virus – behovet av vaccination varje till vart tredje år kan därför anses överflödigt. I försöken med avdödade vaccin sågs immunitet upp till 7.5 år för FPV och 3 respektive 4 år för FHV och FCV. Liknande slutsatser dras vid försöket med vaccin innehållande levande virus – de fastslås att det immunologiska skyddet kvarstår 4 år eller mer för samtliga virus. Lappins (2012) försök på SPF-kattungar visade att störst problem föreligger vid serokonvertering mot FHV och FCV och att det skiljde mellan användandet av levande och avdödade vacciner. Samtliga studier tyder på att immunförsvaret svarar bäst mot FHV om katter vaccineras med ett avdödat vaccin. Vid användande av denna vaccinform borde man kunna konstatera att de allra flesta katter har humoralt antikroppsskydd i 4 år eller mer, samt att det cellmedierade minnet kvarstår upp till 7 år efter vaccination. Serokonvertering mot FCV var besvärligast, men skedde något tidigare vid användandet av levande vaccin och två vaccinationer. Längden för skyddet var även något kortare än för övriga virus; 3 år vid användande av avdödat virus respektive 4 år eller mer för levande virus – men med kvarvarande minnesceller upp till 7 år eller mer oberoende av vaccintyp. Enligt Lappin (2012) är det cellmedierade försvaret viktigast för skydd mot både FHV och FCV. Det är känt att vaccination mot dessa två virus är ineffektivare än mot FPV – även vid årliga vaccinationer. Katter drabbas av kattsnuva (FHV och FCV) trots vaccinationer och möjligen kan det bero på felaktiga eller för få virusstammar i vaccinen. FHV-smittan är även likt människans herpesvirus vida utbrett, trots detta är det få katter som får besvär av den latent infektionen.

Ett problem som upptäcktes i försöket med levande vaccin var att vissa katter inte serokonverterat trots att de relativt nyligen vaccinerats. Åldern på dessa katter är okänt, men skulle kunna vara en förklaring. Ett hinder för serokonvertering beror på kvarvarande maternella antikroppar och även mycket låga halter maternella antikroppar förhindrar serokonverteringen. En lösning på detta skulle kunna vara att man lägger större vikt på grundvaccinationen av kattungarna som omfattar ordentliga serologiska kontroller. Om grundvaccinationen utförs med korrekt antal vaccinationer utifrån förekomst av kvarvarande maternella antikroppar bör man kunna få ner behovet av täta efterföljande revaccinationer.

Lappin (2005) fann att katter som fått IN-vaccination inte utvecklade antikroppar mot a-enolas och annexin. Det här trodde man berodde på att cellproteinerna inte passerade nässlemhinnan och man fick på så sätt inte heller antikroppar mot dessa strukturer. Ett problem med IN-vaccination är att biverkningar förekommer mer frekvent i form av kattsnuveliknande symtom. Det är förmodligen därför den här vaccinationsformen inte blivit så populär. Ett annat alternativ för att minska upphovet av dessa antikroppar är att reducera förekomsten av endogena proteiner i vaccinererna via förbättrade reningsprocesser vid vaccintillverkningen.

Slutsats

Indikationerna för njurskador efter vaccination är idag inte bevisade – viss koppling finns och skulle behöva undersökas vidare. I dagsläget pekar det åt en autoimmun reaktion efter förekomst av för detta tillstånd typiska antikroppar. Njurskador skulle kunna uppstå till följd av komplexbildning och komplementaktivering, men även via inhiberade antikoaguleringsprocesser som möjligen kan orsaka hypoxi i njurvävnaden. Oroliga kattägare skulle kunna vinna sinnesro på en mer ingående och omfattande grundvaccination – dels i val av rätt vaccin med även genom att komplettera vaccinationen med serologiska kontroller för att fastställa att en serokonvertering skett. Katten *måste* vaccineras för att förhindra framförallt FPV infektion och den viktigaste faktorn för skyddet uppfattas vara grundvaccinationen av kattungen. Hos en katt som serokonverterat efter grundvaccination förefaller skyddet vara mycket långt mot samtliga virus. I och med detta bör man kunna förlänga intervallen mellan revaccinationerna. Behovet av återvaccination skulle även kunna fastställas med hjälp av serologi. Även mycket låga halter av antikroppar och förekomst av minnesceller har en god skyddande effekt mot virusen, upptäcks dessa så kan katten anses skyddad.

REFERENSLISTA

- Bruschi, M., Carnivali, M.L., Murtas, C., Candiano, G., Petretto, A., Prunotto, M., Gatti, R., Argentiero, L., Magistrini, R., Garibotto, G., Scolari, F., Ravani, P., Gesualdo, L., Allegri, L. & Ghiggeri, G.M. (2011). Direct characterization of target podocyte antigens and auto-antibodies in human membranous glomerulonephritis: Alfa-enolase and borderline antigens. *Journal of Proteomics*, 74(10), 2008-2017
- Cesarman-Maus, C., Rios-Luna, N.P., Deora, A.B., Huang, B., Villa, R., Cravioto Mdel, C., Alarcón-Segovia, D., Sánchez-Guerrero, J. & Hajjar, K.A. (2006) Autoantibodies against the fibrolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid Syndrome. *Blood* 107(11), 4375-4382.
- Gerke, V. & Moss, S.E. (2002). Annexins: From structure to function. *Physiological Reviews*, 82, 331-371.
- Jakel, V., Cussler, K., Hanschmann, K.M., Truyen, U., König, M., Kamphuis, E. & Duchow, K. (2012). Vaccination against Feline Panleukopenia: implications from a field study in kittens. *BMC veterinary Research*, 8, 62
- Kumar, V., Farrell, G., Deganello, S. & Lieske, J.C. (2003). Annexin II Is Present on Renal Epithelial Cells and Binds Calcium Oxalate Monohydrate Crystals. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14:289-297.
- Lappin M.R., Jensen, W.A., Jensen, T.D., Basaraba, R.J., Brown, C.A., Radecki, S.V. & Hawley, J.R. (2005). Investigation of the induction of antibodies against Crandell-Rees feline kidney cell lysates and feline renal cell lysates after parenteral administration of vaccines against feline viral rhinotracheitis, calicivirus, and panleukopenia in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 506-511.
- Lappin, M.R. (2012). Feline panleukopenia virus, feline herpesvirus-1 and feline calicivirus antibody responses in seronegative specific pathogen-free kittens after parenteral administration of an inactivated FVRCP vaccine or a modified live FVRCP vaccine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14, 161.
- Lappin, M.R., Basaraba, R.J. & Jensen, W.A. (2006). Interstitial nephritis in cats inoculated with Crandell Rees feline kidney cell lysates. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8, 353-356.
- Lupus Research Institute. Lupus diagnosis. [online] (2013-03-21). Tillgänglig: <http://www.lupusresearchinstitute.org/lupus-facts/lupus-diagnosis> (2013-03-24).
- Migliorini, P., Pratesi, F., Bongiorno, F., Moscato, S., Scavuzzo, M. & Bombardieri, S. (2002). The targets of nephritogenic antibodies in systemic autoimmune disorders. *Autoimmunity Reviews*, 1, 168-173.
- Morenweiser, R. (2005) Downstream processing of viral vectors and vaccines. *Gene therapy*, 12, 103-110.
- Moscato, S., Pratesi, F., Sabbatini, A., Chimenti, D., Scavuzzo, M., Passantino, R., Bombardieri, S., Giallongo, A. & Migliorini, P. (2000). Surface expression of a glycolytic enzyme, α -enolase, recognized by autoantibodies in connective tissue disorders.
- Mouzin, D.E., Lorenzen, M.J., Haworth, J.D. & King, V.L. (2004). Duration of serologic response to three viral antigens in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224, 61-6.

- Salle, V., Mazière, J.C., Smail, A., Cévallos, R., Mazière, C., Fuentes, V., Tramier, B., Makdassi, R., Choukroun, G., Vittecoq, O., Goëb, V. & Ducroix, J.P. (2008). Anti-annexin II antibodies in Systemic Autoimmune Diseases and Antiphospholipid Syndrome. *Journal of Clinical Immunology*, 28, 291-297.
- Scott, F.W. & Geissinger, C.M. (1999). Long-term immunity in cats vaccinated with an inactivated trivalent vaccine. *American Journal of Veterinary Research*, 60:5, 652-658.
- SVA, statens veterinärmedicinska anstalt; [online] (Kattpest: 2012-09-25), Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/djurhalsa1/katt/infektionssjukdomar/kattpest/> (2013-03-26)[online] (Vaccination: 2012-06-01). Tillgänglig: http://www.sva.se/upload/Redesign2011/Pdf/Djurh%C3%A4lsa/Hund/Grundvacc_2009.pdf (2013-03-26)
- Terrier, B., Degand, N., Guilpain, P., Servettaz, A., Guillevin, L. & Mouthon, L. (2007). Alpha-enolase; A target of antibodies in infectious and autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 6, 176-182.
- Tizard, I.R. (2008). *Veterinary Immunology*. 8. uppl. St. Louis, Missouri. Saunders. Kap. 5, kap. 27.
- Whittemore, J.C., Hawley, J.R., Jensen, W.A. & Lappin, M.R. (2010). Antibodies against Crandell Rees feline kidney (CRFK) cell line antigens, alpha-enolase, and annexin A2 in vaccinated and CRFK hyperinoculated cats. *Journal of Veterinary internal Medicine*, 24, 306-313.
- Yung, S., Cheung, K.F., Zhang, Q. & Chan, T.M. (2010). Anti-dsDNA Antibodies Bind to Mesangial Annexin II in Lupus Nephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21, 1912-1927.