



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsvetenskap

# **Kattsnuva orsakad av felint herpesvirus typ 1 och felint calicivirus**

Laboratoriediagnostik, epidemiologi och immunprofylax

*Peter Michanek*

*Uppsala  
2015*

*Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet*

*Kandidatarbete 2015:04*



# **Kattsnuva orsakad av felint herpesvirus typ 1 och felint calicivirus - Laboratoriediagnostik, epidemiologi och immunprofylax**

**Upper respiratory disease caused by feline herpesvirus type 1 and feline calicivirus -  
Laboratory diagnostics, epidemiology and immunoprophylaxis**

*Peter Michanek*

*Handledare: Mikael Berg, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

*Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

*Kandidatarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** grundnivå, G2E

**Kurskod:** EX0700

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2015

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet,  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Delnummer i serie:** Kandidatarbete 2015:04

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

**Nyckelord:** kattsnuva, felint herpesvirus typ1, felint calicivirus epidemiologi, immunprofylax, laboratoriediagnostik

**Key words:** upper respiratory disease, feline herpesvirus type 1, feline calicivirus, epidemiology, immunoprophylaxis, laboratory 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
Litteraturoversikt.....	4
Virusegenskaper och immunitet.....	4
FCV.....	4
FHV-1.....	4
Maternella antikroppar.....	4
Laborierediagnostik.....	5
Provtagning.....	5
Detektion av infektionsagens.....	5
Serologi.....	7
Epidemiologi.....	7
Smittvägar.....	7
Virusutsöndring.....	7
Utbredning.....	8
Vaccination.....	9
Vaccinationens skyddande effekt.....	9
Administrationssätt.....	10
Vaccintyper.....	10
Val av vaccinstam.....	10
Diskussion.....	11
Litteraturlista.....	14



## **SAMMANFATTNING**

De vanligaste orsakerna till kattsnuva är infektion med felint herpesvirus typ 1 (FHV-1) eller felint calicivirus (FCV). Båda virusen är vanligt förekommande även i den friska populationen och prevalensen är generellt högre i större djurgrupper. Efter infektion med FHV-1 lägger sig viruset ofta latent och kan återaktiveras av olika stressfaktorer. FCV kan utsöndras i flera år efter infektion och detta utan att katterna visar kliniska symtom. Smittspridning för FHV-1 sker främst via direktkontakt med akut sjuka djur eller intermittent utsöndrande djur. FCV smittar direkt från sjuka djur eller friska smittbärare men kan också smitta via ytor. I täta kattpopulationer är troligen smittspridning via ytor en viktig smittväg även för FHV-1.

Polymeraskedjereaktion (PCR) och virusisolering (VI) används idag för att detektera virus från infekterade katter. En bra PCR kan upptäcka färre viruspartiklar än VI och är således både känsligare och snabbare. Eftersom det är vanligt med friska smittbärare betyder positivt testsvaret inte säkert att viruset är sjukdomsorsakande hos individen. Serologi har inte visat sig användbart vid sjukdomsdiagnostisering, men höga antikroppstitrar kan tyda på att individen är skyddad från sjukdom. En korrelation mellan halten virusneutraliserande antikroppar (VNA) och skydd vid ”challenge” förekommer, men är inte fullständig. Individer utan VNA kan också vara skyddade, vilket tyder på att cell-medierad immunitet också är viktig.

Prevalensstudier i Europa visar siffror för FHV-1 i friska populationer så låga som 0 % och så höga som 11 %. För FCV är motsvarande siffror mellan 2,6 % och 29 % i den friska populationen. Den stora skillnaden beror troligen på hur studiepopulationen valts men också på flera faktorer så som hur provet är taget och val av analysmetod.

Vaccinering ger inget fullständigt skydd mot infektion och sjukdom men ger skydd genom en lindrigare symtombild vid infektion. Vaccinering ger också en minskad virusutsöndring, men prevalensstudier tyder på att den är otillräcklig för begränsning av smittspridning. FCV muterar ofta och antigeniciteten skiljer mycket mellan olika stammar, men alla anses tillhöra samma serotyp. Skillnaden i antigenicitet får till följd att olika immunitet bildas beroende på stam. Immunitet mot en stam ger bra skydd mot andra stammar om korsreaktiviteten mellan stammarna är hög. Val av vaccinstam kan således vara av betydelse för att skapa en så bra immunitet som möjligt mot fältstammar. Nya studier tyder på att bredare korsneutraliserande förmåga och bättre skydd kan fås genom att kombinera flera stammar i samma vaccin.

Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka vilka laboratoriediagnostiska metoder som finns tillgängliga för att undersöka förekomst av sjukdom och sjukdomens epidemiologi samt belysa värdet av immunprofylax.

## **SUMMARY**

The most common cause of upper respiratory disease in cats is infection with feline herpesvirus type 1 (FHV-1) or feline calicivirus (FCV). Both viruses are commonly found in the healthy cat population and the prevalence is usually higher in larger cat groups. Following FHV-1-infection the virus often becomes latent and may be reactivated by stress. FCV may be shed for several years post infection without the presence of clinical signs. Transmission of FHV-1 mainly occurs by direct contact with acutely ill animals or latently infected cats undergoing reactivation. FCV spreads mainly directly from sick cats or carriers, but may also spread via contaminated environment. Environmental contamination with FHV-1 is probably an important way of transmission in dense cat populations.

Polymerase chain reaction (PCR) and virus isolation (VI) are used for detecting virus in infected cats. A good PCR has the ability to detect smaller amounts of virions and is hence both more sensitive and faster. Since it is common with healthy cats shedding virus, a positive test does not automatically mean that the agent is disease-causing. Serology has not been found useful for diagnosing disease, but antibody level indicates if the cat is protected from disease or not. A correlation between virus-neutralizing antibodies (VNA) and protection against challenge infection exists but cats without VNA may also be protected, indicating that cell-mediated immunity is an important factor.

Prevalence studies in Europe show a prevalence of FHV-1 in the healthy cat population between 0 % and 11 %. Corresponding figures for FCV are 2,6 % to 29 %. The substantial differences in results are probably due to how the study population is chosen but also to factors such as sampling technique and the method used for analysis.

Vaccination does not provide full protection against infection or disease but lessens the severity of clinical symptoms. Even though viral shedding is lower in vaccinated cats, prevalence studies indicate that this does not prevent transmission. FCV mutates quickly and the antigenicity differs between different strains, but all strains are considered to belong to the same serotype. The diverse antigenicity results in different immunity to the various strains. Immunity to one strain offers protection to other strains corresponding to the degree of antigenic similarity. The selection of vaccine strain may therefore be of importance to create the best possible immunity to field strains. Recent studies indicate that combining various strains in vaccines can attain a broader cross-protecting ability.

The purpose of this literature review is to investigate which laboratory methods that are available for diagnosing disease and for investigating the epidemiology of the disease. In addition the value of immunoprophylaxis will be highlighted.



## INLEDNING

Kattsnuva är en av de vanligaste infektionssjukdomarna på katt. Åkomman orsakas oftast av felint calicivirus (FCV), felint herpesvirus typ 1 (FHV-1), men även av bakterierna *Chlamydomphila felis* (*C. felis*), *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*) och vissa mycoplasmaarter (Cohn, 2011). Det är inte heller ovanligt med blandinfektioner med flera av nämnda agens (Henzel *et al.*, 2012).

Vaccination mot FCV och FHV-1 är vanligt och även fast det är effektivt för att förhindra sjukdom kan vaccinerade individer ändå bli infekterade, utsöndra virus och på så vis smitta andra (Jas *et al.*, 2009). FCV kan utsöndras i flera år efter infektion, av till synes friska katter (Coyne *et al.*, 2006a) och FHV-1 kan, som många andra herpesvirus, lägga sig latent för att sedan återaktiveras och utsöndras igen långt senare (Gaskell & Povey, 1977). Eftersom FCV och FHV-1 har hög prevalens, är mycket smittsamma och ger upphov till allvarlig sjukdom rekommenderar European Advisory Board on Cat Disease att alla katter vaccineras mot båda virusen (Radford *et al.*, 2009; Thiry *et al.*, 2009).

FCV, FHV-1 och andra agens i kattsnuvekomplexet ger vanligen likartade symtom som karaktäriseras av en övre luftvägssjukdom. Vissa symtom så som hälla kan ses i samband med FCV-infektion och FHV-1 kan ge upphov till keratit med ulcerationer på cornea, men ofta är symtomen väldigt lika och agensbestämning utifrån kliniska symtom är svårt. Närvaro av infektionsagens kan testas med hjälp av olika tekniker, men eftersom exempelvis FHV-1 och FCV förekommer hos friska smittbärare är inte heller förekomst en säker diagnos (Cohn, 2011). På senare tid har högvirulenta FCV-stammar identifierats. Dessa ger en sjukdom som karaktäriseras av ikterus, ödem och hög mortalitet (Coyne *et al.*, 2006b).

Morbiditeten är hög men mortaliteten låg i de fall katterna infekteras som vuxna; hos infekterade kattungar är sjukdomen ofta svårare och mortaliteten högre (Cohn, 2011). Behandling mot de båda virusen är främst understödjande, som till exempel vätsketerapi, icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel (NSAID), mukolytika och antibiotika för att undvika sekundärinfektioner. Antivirala läkemedel har effekt mot FHV-1-infektion, men motsvarande preparat saknas för FCV (Radford *et al.*, 2009; Thiry *et al.*, 2009).

Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka vilka laboratoriediagnostiska metoder som finns tillgängliga för att undersöka förekomst av sjukdom och sjukdomens epidemiologi samt belysa värdet av immunprofylax.

## MATERIAL OCH METODER

Främst användes databaserna PubMed och Web Of Science för litteratursökningen. Det huvudsakliga materialet är hämtat ur vetenskapliga originalartiklar, men referenser till reviewartiklar förekommer. En stor del i att hitta materialet var genom relevanta reviewartiklars referenslistor. En referens till en hemsida för läkemedelsstatistik och en referens till personlig kontakt finns också med.

Exempel på sökfras:

*(FHV-1 OR Feline herpesvirus OR Feline viral rhinotracheitis OR FVR OR FCV OR Feline calicivirus) AND (quantitative PCR)*

## LITTERATURÖVERSIKT

### Virusegenskaper och immunitet

#### **FCV**

FCV är ett enkelsträngat RNA-virus med positiv polaritet tillhörande genus Vesivirus som ingår i familjen Caliciviridae. Likt andra RNA-virus muterar FCV ofta och kan på så vis snabbt förändras (Radford *et al.*, 2007). Det finns många olika FCV-stammar och samtliga tycks tillhöra samma serotyp, men graden av korsreaktivitet varierar (Povey, 1974). I en studie av Povey & Ingersoll (1975) observerades att katter som tidigare var infekterade med en FCV-stam, hade lindrigare symtombild vid ”challenge” med annan FCV-stam. Katterna hade dessutom en minskad duration av virusutsöndring vid andra än vid första infektionstillfället. I samma studie observerades också att det kliniska skyddet korrelerade med graden av korsreaktivitet. Titern virusneutraliserande antikroppar (VNA) mot FCV korrelerar med graden av skydd, men katter utan detekterbara mängder VNA kan vara skyddade vid ”challenge”, vilket tyder på att andra cell-medierade immunologiska mekanismer kan vara minst lika viktiga (Lappin *et al.*, 2002; Poulet *et al.*, 2005).

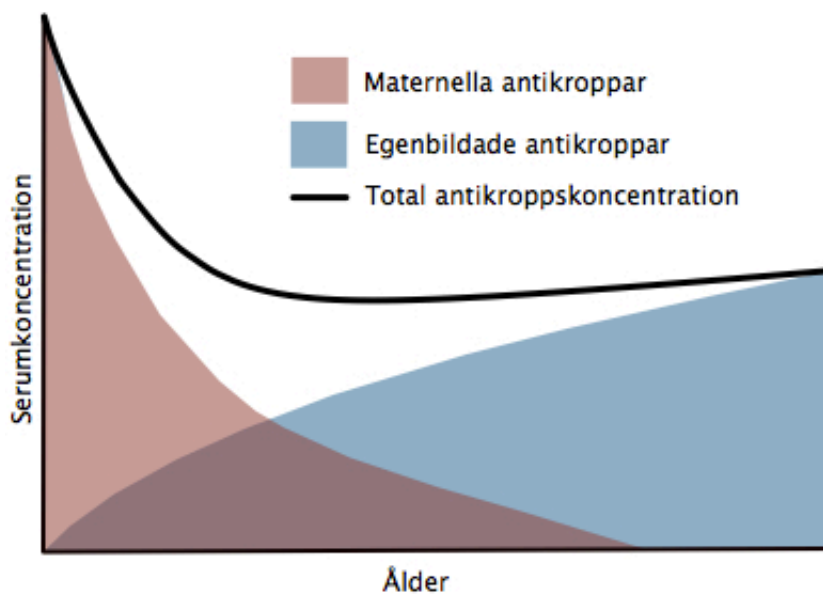
#### **FHV-1**

FHV-1 är ett höljeförsett dubbelsträngat DNA-virus tillhörande genus Varicellovirus som ingår i subfamiljen Alfaherpesvirus. Till skillnad från FCV så är FHV-1 en genetiskt sett en relativt homogen grupp virus (Gaskell *et al.*, 2007). VNA korrelerar med skydd mot kliniska symtom men likt immuniteten för FCV kan individer utan detekterbara antikroppshalter vara skyddade, varför cell-medierat skydd troligen är viktigt även för FHV-1 (Lappin *et al.*, 2002). Likt andra herpesvirus kan FHV-1 lägga sig latent, framförallt i nervvävnad i huvudregionen, efter akutfas (Reubel *et al.*, 1993). Experimentellt kan administration av kortikosteroider, men även stressfaktorer som till exempel miljöbyte, återaktivera herpesinfektionen (Gaskell & Povey, 1977).

#### **Maternella antikroppar**

Antikroppar mot både FHV-1 och FCV överförs från moder till avkomma via råmjölken. Maternella antikroppar är skyddande mot klinisk infektion men kan också interferera med vaccination genom att ge ett sämre immunsvär. Under en period när maternella antikropparna sjunkit lågt och innan egen immunitet bildats (se figur 1.) anses kattungarna extra infektionskänsliga. Generellt sett har maternellt överförda FCV-antikroppar högre titrar och längre varaktighet än FHV-1-antikroppar. I en fältstudie sågs att cirka 20 % av katterna redan efter 6 veckor var seronegativa för FCV och 25 % för FHV-1. I samma studie observerades också mycket högre antikropstitrar för FCV än FHV-1 (Dawson *et al.*, 2001).

I en experimentell studie har en halveringstid för maternella FCV-antikroppar på cirka 15 dagar och en varaktighet på cirka 10-14 veckor observerats (Johnson & Povey, 1983).



Figur 1. Principskiss över serumkoncentrationen av maternella respektive egenbildade antikroppar över tid hos nyfödda katter. Efter Tizard (2012a).

## Laboratoriediagnostik

### Provtagning

Schulz *et al.* (2015) jämförde i en studie farynx, tunga, nos och konjunktiva som provtagningsställen för detektion av FHV-1, FCV och *C. felis*. Ingen signifikant skillnad mellan provtagningsställena upptäcktes för FHV-1 eller *C. felis*. En signifikant skillnad för FCV hittades; det återfanns inte lika ofta från konjunktiva som från övriga provtagningsställen. Säkerheten att finna infektiösa öskade med antal provtagningsställe. Även andra studier tyder på att farynx är bättre provtagningsställe jämfört med konjunktiva för isolering av FCV (Kahn *et al.*, 1975; Marsilio *et al.*, 2005).

### Detektion av infektiösa agens

#### Virusisolering (VI)

VI bygger på att prover inokuleras i cellkulturer. Genom att studera kulturernas cytopatogena förändringar kan man bestämma agens. Testmetoden anses inte lika känslig som polymeraskedjereaktion (PCR). Föreslagna anledningar är att virioner inaktiveras under transport, neutraliseras av antikroppar eller enzymer i extracellulär vätska, att icke-infektiösa virioner utsöndras eller att virioner inaktiveras under hanteringen på laboratoriet i samband med cellodlingsprocessen (Reubel *et al.*, 1993).

#### PCR

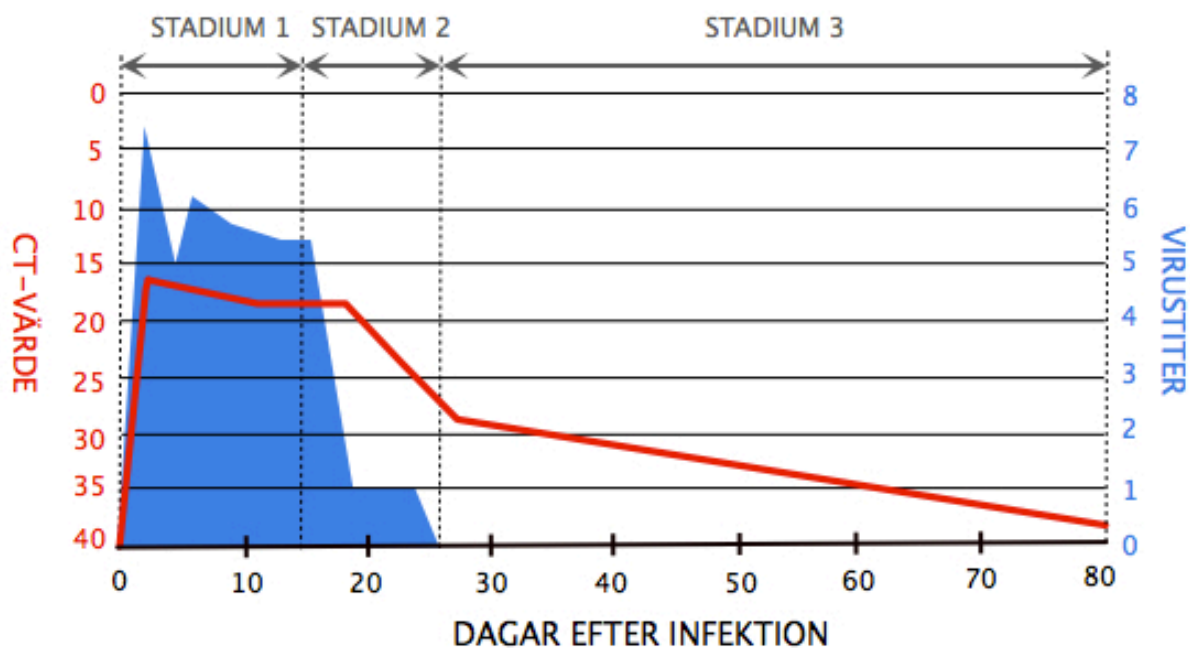
Med hjälp av PCR kan viral arvs massa detekteras. För att amplifiera DNA-viruset FHV-1 krävs endast traditionell PCR men för att amplifiera RNA-viruset FCV krävs PCR med ett omvänt transkriptionssteg. Beroende på antal cykler, cyklingstemperaturer, val av primer och buffertkomposition kan känsligheten hos PCR variera. En högre känslighet hos PCR sänker troligen andelen katter som testar positivt och samtidigt är kliniskt påverkade av viruset,

eftersom bärare som urskiljer små mängder upptäcks. PCR kan också amplifiera arvsmassan hos både modifierade och avdödade FHV-1-vacciner men den diagnostiska betydelsen av detta är oklar (Maggs & Clarke, 2005).

PCR för FCV problematiseras av variabiliteten i det virala genomet. Känsligheten beror på vilka primers som används och vilken stam som ska detekteras. För att optimera PCR för FCV bör systemet kunna detektera ett stort antal FCV-stammar, vilket minskar falskt negativa resultat (Radford *et al.*, 2009).

#### *Kvantitativ polymeraskedjereaktion (qPCR)*

qPCR är en laboratoriediagnostisk metod som används för att bestämma hur mycket av mål-DNA som finns i ett prov. Vöglin *et al.* (2002) studerade katter med FHV-1 infektion med hjälp av qPCR och samtidig mätning virustiter (lägsta koncentrationen som fortfarande infekterar celler). Tre stadier i infektionsförloppet kunde urskiljas (se figur 2.): Stadium 1 (ca 0-14 dagar) tidigt i infektion där virustiter för FHV-1 korrelerade med den kvantitativa PCR-signalen, stadium 2 (ca 14-26 dagar) där PCR-signalen fortfarande var hög men virustiter låg, stadium 3 där PCR-signalen sakta sjönk och virusisoleringen var negativ. Författarna drog slutsatsen att qPCR tillsammans med VI kan användas för att följa sjukdomsförloppet.



Figur 2. Jämförelse mellan cykeltröskelvärde (ct-värde) och virustiter i katter experimentellt infekterade med FHV-1. Efter Vöglin *et al.*, (2002).

#### *Jämförelse mellan detektionsmetoder*

Burgesser *et al.* (1999) testade PCR, VI och immunfluorescens (IFA) för detektion av FHV-1. För PCR och virusisolering togs svabbprover från konjunktiva och för IFA togs skrapprov. Slutsatsen var att PCR var känsligast, därefter VI och minst känslig var IFA. IFA ansågs osäkert och bedömningen subjektiv. Att PCR skulle vara den känsligaste detektionsmetoden för FHV-1 styrks av flera studier (Reubel *et al.*, 1993; Vöglin *et al.*, 2002). VI är mindre

känslig för stam-variation och kan därför vara en fördel vid analys av FCV (Radford *et al.*, 2009), men tar framför allt betydligt längre tid att utföra.

### **Serologi**

Antikroppar för både FHV-1 och FCV kan detekteras med enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA) och med hjälp av virusneutralisationstest. Tillgängliga serologiska tester skiljer dock inte på huruvida antikropparna kommer från naturlig infektion eller vaccination. FHV-1 och FCV tros orsaka både humoral och cell-medierad immunitet, men specifik cell-medierad immunitet är ofta svår att påvisa. En korrelation mellan virusspecifik antikroppstiter och försvar mot ”challenge” föreligger dock för de båda virusen; varför serologi kan ge en fingervisning om immunstatus och om vaccination är befogat (Lappin *et al.*, 2002).

Antikroppstitrar för FHV-1 är ofta låga i nyligen infekterade djur och detsamma gäller för katter med återkommande utbrott. Det verkar inte heller föreligga något samband mellan titer och kliniska symtom/detektion av virus. Alltså är antikroppstiter inte användbart för att diagnosticera infektion av FHV-1 (Maggs *et al.*, 1999).

Att göra serologiska bedömningar på FCV-titrar försvåras av att antikroppar korsreagerar olika mycket med olika stammar. Därmed kan olika titrar erhållas beroende på laboratoriets teststam och serologi kan vara oprecist när det gäller att detektera antikroppar för vissa fältstammar (Porter *et al.*, 2008).

### **Epidemiologi**

#### **Smittvägar**

De två stora smittvägarna för FHV-1 är nära kontakt med akut sjuka eller med intermittent utsöndrande djur (Gaskell & Povey, 1982). FCV smittar direkt från akut sjuka djur och bärare men dess förmåga att överleva i miljö gör att även indirekt smitta är möjlig (Radford *et al.*, 2009). FHV-1, liksom andra höljevirus, överlever inte längre tider på ytor och spridning via ytor anses inte vara en viktig smittväg förutom i katterier där djurtätheten är hög (Thiry *et al.*, 2009).

#### **Virusutsöndring**

##### **FCV**

Många katter utsöndrar FCV trots att de är symtomfria (Povey & Ingersoll, 1975). Katter kan utsöndra FCV långt efter att de slutat visa kliniska symtom. Wardley & Povey (1977) fann i en experimentell studie att halveringstiden för positiv virusdetektering efter akut sjukdom var cirka 75 dagar. En långtidsstudie av Coyne *et al.* (2006) undersökte utsöndringsmönster av FCV. Tre mönster identifierades; intermittenta utsöndrare, de som inte utsöndrar alls och de som gjorde det konstant. De som utsöndrar konstant, bärare, kan göra detta under flera år och tros vara en viktig källa för infektion i framförallt stora djurgrupper. I en multivariabel regressionsanalys, en typ av statistisk metod, fann Porter *et al.* (2008) att risken för att en katt utsöndrar FCV minskar med åldern. Exempel på andra faktorer var om katterna var vaccinerade, hade kattsnuva, hade haft kattsnuva och antal katter i hushållet. Data grundar sig

på en tvärsnittsstudie med 1206 katter. Samma samband observerades av Wardley *et al.* (1974).

### **FHV-1**

Utsöndring av FHV-1 kan starta redan ett dygn efter infektion, fortsätta 1-3 veckor och efter akut sjukdom blir de flesta katter latent smittbärare (Thiry *et al.*, 2009). Gaskell & Povey (1977) observerade katter i olika situationer och såg att latent FHV-1-infektion kan återaktiveras till synes spontant eller av en rad faktorer så som förlossning, laktation, kortikosteroid-behandling och ändrad inhysning.

### **Utbredning**

Prevalens av FHV-1 och FCV är hög hos patienter med övre luftvägsinfektion, men även i den friska kattpopulationen (Helps *et al.*, 2005). I flera studier har en positiv korrelation setts mellan virusprevalens för de båda agensen och djurgruppens storlek (Helps *et al.*, 2005; Coyne *et al.*, 2006a; Porter *et al.*, 2008).

Helps *et al.* (2005) gjorde en fall-kontroll studie på 218 katterier i Europa där faktorer associerade med patogener i kattsnuvekomplexet studerades. Ett fall var definierat som ett hushåll med  $\geq 5$  katter där minst en katt hade övre luftvägssymtom. En kontroll var ett sådant hushåll där ingen katt hade luftvägsymtom. FCV-prevalensen var 47 % hos fall, 29 % hos kontroll och FHV-prevalensen var 16 % respektive 8 %. Det sågs också att katter som hade det ena viruset med större sannolikhet hade även det andra. Det nämns också ett positivt samband mellan ”hygiene less than excellent” och virusutsöndring. Vad det innebär specificeras dock inte. I denna studie användes PCR för detektion.

Binns *et al.* (2000) undersökte virusförekomst hos totalt 622 katter. Katter med kattsnuva hade en FCV-prevalens på 33 % och katter utan 21 %. FHV-1-prevalensen var 11 % respektive 1 %. Data om katterna var vaccinerade eller inte samlades också in. FHV-1-vaccination minskade andelen katter som utsöndrade FHV-1 signifikant men samma effekt på utsöndring av FCV sågs inte efter FCV-vaccination. Studien använde VI för detektion.

I en svensk studie gjord på 152 kliniskt friska svenska katter hos 22 uppfödare påträffades inte FHV-1 i ett enda prov och FCV endast i 4 (2,6 %) av katterna. Svabpprover togs från orofarynx och konjunktiva och virusförekomst analyserades med hjälp av VI (Holst *et al.*, 2005).

I Storbritannien provtog Wardley *et al.* (1974) 974 friska katter på utställningar varav 1,8 % var positiva för FHV-1 och 24,0 % var positiva för FCV. Det var signifikant högre än 100 huskatter som provtogs i samma studie där 1 % var positiva för FHV-1 och 8 % för FCV. Coutts *et al.* (1994) såg en FCV-prevalens på 37,1 % och en FHV-prevalens på 0,58 % hos utställningskatter i Storbritannien. Det föreligger följaktligen ingen signifikant prevalensskillnad hos friska utställningskatter mellan år 1974 och 1994, detta trots att det var före respektive efter införandet av utbredd vaccination (Coutts *et al.*, 1994). Studierna använde VI för detektion.

På statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) kan ”kattögonpaket” beställas där provet undersöks med PCR i avseende på bland annat FHV-1. SVA erbjuder även påvisande av FCV med PCR. Under 2014 skickades 828 prover för analys enligt ”kattögonpaketet” och 76 (≈9 %) var positiva för FHV-1. För samma period kördes 126 FCV-tester och 43 (≈34 %) var positiva (opublicerade data) (Berndtsson, L. T., Statens Veterinärmedicinska anstalt, pers. medd., 2015-02-12).

Utöver att den faktiska prevalensen kan vara olika så kan metodiken göra att resultaten skiljer sig. I alla listade studier, undantaget Holst *et al.*, (2005) prevalensstudie, kan man se att både FHV-1 och FCV är prevalent i alla kattpopulationer, även i friska och även där högprevalent. Prevalensen för FCV är också högre än för FHV-1 i samtliga studier. Det ska dock betänkas att det som registrerats är utsöndringsprevalens, vilket innebär att latent FHV-1-bärare inte upptäcks.

## Vaccination

Generellt rekommenderas tre vaccinationstillfällen som grundvaccination samt revaccination årligen eller var tredje år, beroende på smittläget (se Tabell 1.).

**Tabell 1 . The European Advisory Board on cat Diseases (ABCD) vaccinationsrekommendationer gällande FHV-1 och FCV (Radford *et al.*, 2009; Thiry *et al.*, 2009).**

	Kattunge				Vuxen	
	Vacc.1	Vacc.2	Vacc.3	Vacc.3/4	Vacc. <3 år sedan	Ovaccinerad
<b>FCV</b>	8-9v	12v	§16v	cirka 1 år	*Årligen	Två vaccinationer 2-4v mellan, samt 1 år senare
<b>FHV-1</b>	8-9v	12v	-	cirka 1 år	*Årligen	Två vaccinationer 2-4v mellan, samt 1 år senare

\*För innekatter som inte har kontakt med utekatter rekommenderas vaccination istället var 3e år. Detta innefattar inte katter som kommer vistas på katteri.

§Katter med hög risk för infektion eller som förväntas ha höga halter maternella antikroppar.

## Vaccinationens skyddande effekt

I en studie av Jas *et al.* (2009) vaccinerades 8-9 veckor gamla specifikt patogenfria (SPF) katter. Resultaten visade att två vaccinationer med 4 veckors mellanrum mot FHV-1 och FCV gav skydd genom att ge betydligt lindrigare symtom vid ”challenge” med respektive agens redan 1 vecka efter den andra dosen. Det påvisades också en signifikant lägre virusutsöndring, även om virusutsöndring fortfarande pågick i stor utsträckning. Ungefär en halvering av virusutsöndringen kunde ses för de båda virusen under den första veckan efter ”challenge”. På en fyraveckors period efter ”challenge” kunde det för FCV fortfarande ses en halvering av virusutsöndringen medan det för FHV-1 inte längre förelåg någon signifikant skillnad, men resultaten tyder på minskad utsöndring även för FHV-1. Att infektion med virusutsöndring

sker efter vaccination men att kliniska symtom minskar styrks av flera studier (Povey & Ingersoll, 1975; Lappin *et al.*, 2002, 2006; Poulet *et al.*, 2005).

### **Administrationssätt**

Parenterala vaccin för injektion finns i de flesta länder och i vissa finns också för intranasal administration, dock ej i Sverige (Gaskell *et al.*, 2007; Radford *et al.*, 2007). Gaskell *et al.* (2007) och Radford *et al.* (2007) hävdar i sina respektive reviewartiklar att intranasal administration av vaccin för de båda virusen förmodligen ger snabbare uppbyggnad av immunitet och en bättre immunitet, men att det ger upphov till biverkningar i form av milda kliniska sjukdomssymtom. Idén att intranasala vacciner skulle vara bättre på att ge immunsvaret trots närvaro av maternella antikroppar föreslås också.

### **Vaccintyper**

Vacciner finns tillgängliga som levande modifierat virus och som inaktiverat (Radford *et al.*, 2007).

Inaktiverade vaccin ger i regel upphov till humoral immunitet, men inte cell-medierad dito, eftersom de inte infekterar värdceller. Levande modifierade vaccin, som infekterar värdceller, ger upphov till både humoralt och cell-medierat immunsvaret. Dessa anses i regel ge upphov till ett bättre immunsvaret mot virus men risken att de framkallar sjukdom är större (Tizard, 2012b)

Få jämförande studier på inaktiverade och levande försvagade vaccintyper för FHV-1 och FCV finns publicerade. Men Lappin (2012) vaccinerade SPF-kattungar med de båda vaccintyperna och följde upp deras serologiska svar. Ett snabbare antikroppssvar sågs mot det inaktiverade vaccinet mot FHV-1 medan en motsvarande skillnad för FCV inte kunde ses. Huruvida skillnaden i antikropptiter är signifikant mellan de olika vaccinsvaren redovisas inte. Det ska dock nämnas, speciellt då man jämför vaccintyper som ger upphov till immunitet genom olika mekanismer, att endast antikroppssvaret inte alltid speglar hur väl skyddad individen är mot klinisk sjukdom (Lappin *et al.*, 2002; Poulet *et al.*, 2005).

I Sverige finns endast vaccin mot FHV-1 och FCV i kombination. Alla här tillgängliga vaccin mot FHV-1 har levande modifierade virusstammar medan inaktiverade vacciner finns tillgängliga mot FCV. Kombinationsvacciner med inaktiverade FCV-stammar står endast för cirka 17 % av antalet sålda doser 2014. Totalt såldes nästan 220 000 doser kombinationspreparat i Sverige 2014 (*IMS Health*).

### **Val av vaccinstam**

Vilken stam som väljs för vaccination mot FHV-1 spelar troligen mindre roll då viruset är väldigt konserverat och antigeniciteten lika mellan stammar (Horimoto *et al.*, 1992; Thiry *et al.*, 2009). Val av vaccinstam för FCV kan däremot spela roll i och med att antigeniciteten skiljer sig i stor utsträckning och olika skydd bildas beroende på vaccinstam (Poulet *et al.*, 2005; Addie *et al.*, 2008; Porter *et al.*, 2008).



Rong *et al.* (2014) testade en potentiell stam (FCV-21) för vaccintillverkning. Serum från katter vaccinerade med FCV-21 testades för att neutralisera 71 FCV-virusstammar och jämfördes med serum från katter vaccinerade med den mycket använda vaccinstammen FCV-F9. FCV-21 visade sig ha en bredare korsneutraliserande förmåga *in vitro* än FCV-F9 och dessutom gav den ett mycket bättre skydd när katterna utsattes för ”challenge” av en stam av den högvirulenta FCV-varianten.

De klassiska FCV-vaccin som används är monovalenta, alltså baserade på endast en virusstam. Poulet *et al.* (2005) testade två olika potentiella vaccinstammar (FCV-431, FCV-G1) var för sig, samt som ett kombinationspreparat. Katterna immuniserades genom subkutan injektion med levande virus men med låga icke-patogena virustitrar. Ett bättre skydd mot ”challenge” med heterologa virusstammar sågs hos katter som immuniserats med de båda stammarna än vid vaccination med endast en stam. Vaccin baserade på dessa stammar finns nu på svenska marknaden i form av inaktiverat vaccin. Masubuchi *et al.* (2010) tillverkade ett inaktiverat vaccin baserat på tre olika stammar och såg en bredare korsneutraliserande förmåga hos serum från katter vaccinerade med det trivalenta vaccinet än med varje vaccinstam var för sig.

Eftersom FCV-viruset muterar ofta antas vacciner kunna selektera för FCV-stammar med annan antigenicitet. Antikroppssvar mot två vanliga vaccinstammar, FCV-255 och FCV-F9, testades genom neutralisation av 40 slumpmässigt utvalda nyligen erhållna stammar från Storbritannien. Båda antikroppssvaren visade god virusneutraliserande förmåga i spädning 1:2 och neutraliserade 75 % respektive 87,5 % av stammarna. Detta tyder på vaccinstammarna fortfarande har god skyddande förmåga mot fältstammar i Storbritannien (Porter *et al.*, 2008).

## **Diskussion**

Många katter är smittbärare för någon av FCV och FHV-1 utan att bli sjuka, vilket försvårar användandet av laboriediagnostiska metoder för diagnos genom att positivt svar inte behöver betyda att viruset orsakar sjukdom (Binns *et al.*, 2000; Helps *et al.*, 2005). Vögtlin *et al.* (2002) visade att kvantifiering med en qPCR kunde vara fördelaktig för att utreda i vilken del av sjukdomsstadiet en FHV-1-infekterad katt befann sig, speciellt med samtidig VI. Liknande studier med avseende på FCV hade varit intressant för att se om det även där kan ge en indikation på sjukdomsstadium.

Epidemiologiska studier på FHV-1 och FCV får ofta olika siffror gällande virusprevalens, trots att de studerar liknande populationer. Bakomliggande orsaker kan tänkas vara bland annat provtagningsutrustning, provtagningsställe, provtagnings teknik, provförvaring och val av laboriediagnostisk metod. En bra PCR kan potentiellt detektera ett mindre antal virioner än övriga virusdetekterande metoder och därför fås troligen en till synes högre prevalens i en population när PCR används (Burgesser *et al.*, 1999). Positiva resultat fås då även från individer som endast utsöndrar små mängder virus eller individer från vilka man fått ett prov med låg virusförekomst. PCR kräver dessutom bara viral arvs massa för positivt svar. Alltså behöver infektionsdugliga virioner inte finnas närvarande. Det vore intressant att se om de individer som testar positivt på PCR men inte på VI är viktiga för smittspridning. Det kan

tänkas att prover som inte infekterar cellkulturer inte heller borde infektera andra katter. I så fall kanske VI, trots sin lägre sensitivitet för smittbärare, kan identifiera smittspridare, men med en mycket högre specificitet.

Den svenska studien av Holst *et al.* (2005) fick lägre prevalenssiffror i den friska populationen än andra här listade studier. Inget fall av FHV-1 syntes men det kan ha missats i och med den relativt ringa studiepopulationen och den låga prevalensen som visats i andra studier (Wardley *et al.*, 1974; Coutts *et al.*, 1994; Binns *et al.*, 2000). Siffror från SVA och ”kattögonpaketet” visar att FHV-1 faktiskt förekommer i Sverige om det skulle vara någon tvekan om det. Prevalenssiffror för FCV är också väldigt låga (2,6 %) och inga motsvarande så låga siffror kan ses i listade studier. Antingen har Sverige en mycket lägre prevalens än övriga Europa eller så kan metodiken ifrågasättas. Prevalensen hade troligen också varit högre om PCR istället för VI användes för detektion. Ytterligare en studie på den svenska kattpopulationen hade varit av intresse för att antingen bekräfta eller motsäga tidigare publicerade siffror.

Vaccinering är ofta ett sätt att stoppa smittspridning, men både för FHV-1 och FCV verkar virusutsöndring pågå i stor utsträckning även efter vaccination (Jas *et al.*, 2009). Huruvida vaccination överhuvudtaget hjälper för att minska smittspridningen är inte helt klarlagt. Jas *et al.* (2009) såg visserligen, i en experimentell studie, ett samband mellan vaccination och minskad virusutsöndring och Binns *et al.*, (2000) fann i sin prevalensstudie att vaccination var en skyddande faktor för FHV-1-infektion, dock inte för FCV-infektion. Två studier, en före och en efter introduktion av vaccination i Storbritannien visar att virusprevalensen för de båda virusen inte skiljde sig signifikant (Wardley *et al.*, 1974; Coutts *et al.*, 1994). Det skulle kunna tänkas att vaccination hjälper att förhindra smittspridning i och med den minskade virusutsöndringen men å andra sidan försvåras genom att kliniska symtom minskar och infekterade individer inte drar sig undan eller upptäcks och isoleras. Den minskade virusutsöndringen efter vaccination ger en förväntan om prevalenssänkning men vaccination verkar främst vara ett sätt att skydda den enskilda individen mot sjukdomssymtom (Povey & Ingersoll, 1975; Lappin *et al.*, 2002, 2006; Poulet *et al.*, 2005; Jas *et al.*, 2009) och inte markant minska dess roll som smittspridare.

När det gäller vaccination mot FCV ses graden av skydd mot symtom korrelera med homologi mellan vaccin-stam och ”challenge”-stam (Povey & Ingersoll, 1975). Ett bra vaccin har således bred korsreaktiv förmåga och ger alltså bra skyddande immunitet mot många stammar. Studier visar att vaccin innehållande två och tre stammar kan ge VNA mot flera olika stammar än om de immuniseras med endast någon av ingående stammar (Poulet *et al.*, 2005; Masubuchi *et al.*, 2010). Poulet *et al.* (2005) visade dessutom att deras divalenta vaccin gav bättre skydd vid ”challenge” med två heterologa FCV-stammar än vad immunisering med stammarna var för sig gjorde. Denna typ av vacciner ser lovande ut för framtiden för att ge en immunitet som är mer heltäckande för FCV. För att testa vaccinationsstammar för FCV och deras korsreaktivitet används ofta virusneutralisationstest, vilket säkert ofta ger en bra uppfattning om skyddet men man missar andra immunologiska mekanismer så som cell-medierade eller betydelsen av icke neutraliserande antikroppar. Det här problemet undviks

med ”challenge”-studier, men då kanske vaccinkandidater som inte inducerat mycket VNA redan sorterats bort trots att de ger ett gott skydd.

Sammanfattningsvis så är FHV-1 och FCV vitt spridda i kattpopulationen och den största riskfaktorn tycks vara stora kattgrupper. Det finns utvecklingspotential för laboratoriediagnostiska metoder för att diagnosticera sjukdom. En metod som kunde skilja på när agens är sjukdomsframkallande och när det inte är det vore önskvärt ur diagnostisk synvinkel. Förhoppningsvis kan qPCR, kanske tillsammans med virusisolering, vara behjälpligt i diagnossyfte. Trots att vaccination inte stoppar smittspridning kan det minska djurlidande genom att skydda den vaccinerade katten från sjukdom och utvecklingspotential finns även här, framförallt vad gäller FCV, för att få en så bred och stark immunitet som möjligt.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Addie, D., Poulet, H., Golder, M. C., McDonald, M., Brunet, S., Thibault, J.-C. & Hosie, M. J. (2008). Ability of antibodies to two new caliciviral vaccine strains to neutralise feline calicivirus isolates from the uk. *Veterinary Record*, 163(12), pp 355–357.
- Binns, S. H., Dawson, S., Speakman, A. J., Cuevas, L. E., Hart, C. A., Gaskell, C. J., Morgan, K. L. & Gaskell, R. M. (2000). A Study of Feline Upper Respiratory Tract Disease with Reference to Prevalence and Risk Factors for Infection with Feline Calicivirus and Feline Herpesvirus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2(3), pp 123–133.
- Burgesser, K. M., Hotaling, S., Schiebel, A., Ashbaugh, S. E., Roberts, S. M. & Collins, J. K. (1999). Comparison of PCR, Virus Isolation, and Indirect Fluorescent Antibody Staining in the Detection of Naturally Occurring Feline Herpesvirus Infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11(2), pp 122–126.
- Cohn, L. A. (2011). Feline Respiratory Disease Complex. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 41(6), pp 1273–1289.
- Coutts, A. J., Dawson, S., Willoughby, K. & Gaskell, R. M. (1994). Isolation of feline respiratory viruses from clinically healthy cats at UK cat shows. *Veterinary Record*, 135(23), pp 555–556.
- Coyne, K. P., Dawson, S., Radford, A. D., Cripps, P. J., Porter, C. J., McCracken, C. M. & Gaskell, R. M. (2006a). Long-term analysis of feline calicivirus prevalence and viral shedding patterns in naturally infected colonies of domestic cats. *Veterinary Microbiology*, 118(1–2), pp 12–25.
- Coyne, K. P., Jones, B. R. D., Kipar, A., Chantrey, J., Porter, C. J., Barber, P. J., Dawson, S., Gaskell, R. M. & Radford, A. D. (2006b). Lethal outbreak of disease associated with feline calicivirus infection in cats. *Veterinary Record*, 158(16), pp 544–550.
- Dawson, S., Willoughby, K., Gaskell, R., Wood, G. & Chalmers, W. S. (2001). A field trial to assess the effect of vaccination against feline herpesvirus, feline calicivirus and feline panleucopenia virus in 6-week-old kittens. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 3(1), pp 17–22.
- Gaskell, R., Dawson, S., Radford, A. & Thiry, E. (2007). Feline herpesvirus. *Veterinary Research*, 38(2), pp 337–354.
- Gaskell, R. M. & Povey, R. C. (1977). Experimental induction of feline viral rhinotracheitis virus re-excretion in FVR-recovered cats. *The Veterinary Record*, 100(7), pp 128–133.
- Gaskell, R. M. & Povey, R. C. (1982). Transmission of feline viral rhinotracheitis. *The Veterinary Record*, 111(16), pp 359–362.
- Helps, C. R., Lait, P., Damhuis, A., Björnehammar, U., Bolta, D., Brovida, C., Chabanne, L., Egberink, H., Ferrand, G., Fontbonne, A., Pennisi, M. G., Gruffydd-Jones, T., Gunn-Moore, D., Hartmann, K., Lutz, H., Malandain, E., Möstl, K., Stengel, C., Harbour, D. A. & Graat, E. a. M. (2005). Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydia felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. *Veterinary Record*, 156(21), pp 669–673.
- Henzel, A., Brum, M. C. S., Lautert, C., Martins, M., Lovato, L. T. & Weiblen, R. (2012). Isolation and

identification of feline calicivirus and feline herpesvirus in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 43(2), pp 560–568.

Holst, B. S., Berndtsson, L. T. & Englund, L. (2005). Isolation of feline herpesvirus-1 and feline calicivirus from healthy cats in Swedish breeding catteries. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7(6), pp 325–331.

Home - IMS Health. [online]. Available from: <http://www.imshealth.com>. [Accessed 2015-03-19].

Horimoto, T., Limcumpao, J. A., Xuan, X., Ono, M., Maeda, K., Kawaguchi, Y., Kai, C., Takahashi, E. & Mikami, T. (1992). Heterogeneity of feline herpesvirus type 1 strains. *Archives of Virology*, 126(1-4), pp 283–292.

Jas, D., Aeberlé, C., Lacombe, V., Guiot, A. L. & Poulet, H. (2009). Onset of immunity in kittens after vaccination with a non-adjuvanted vaccine against feline panleucopenia, feline calicivirus and feline herpesvirus. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 182(1), pp 86–93.

Johnson, R. P. & Povey, R. C. (1983). Transfer and Decline of Maternal Antibody to Feline Calicivirus. *The Canadian Veterinary Journal*, 24(1), pp 6–9.

Kahn, D. E., Hoover, E. A. & Bittle, J. L. (1975). Induction of immunity to feline caliciviral disease. *Infection and Immunity*, 11(5), pp 1003–1009.

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(2), pp 161–164.

Lappin, M. R., Andrews, J., Simpson, D. & Jensen, W. A. (2002). Use of serologic tests to predict resistance to feline herpesvirus 1, feline calicivirus, and feline parvovirus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(1), pp 38–42.

Lappin, M. R., Sebring, R. W., Porter, M., Radecki, S. J. & Veir, J. (2006). Effects of a single dose of an intranasal feline herpesvirus 1, calicivirus, and panleukopenia vaccine on clinical signs and virus shedding after challenge with virulent feline herpesvirus 1. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8(3), pp 158–163.

Maggs, D. J. & Clarke, H. E. (2005). Relative sensitivity of polymerase chain reaction assays used for detection of feline herpesvirus type 1 DNA in clinical samples and commercial vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, 66(9), pp 1550–1555.

Maggs, D. J., Lappin, M. R., Reif, J. S., Collins, J. K., Carman, J., Dawson, D. A. & Bruns, C. (1999). Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpesvirus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(4), pp 502–507.

Marsilio, F., Martino, B. D., Decaro, N. & Buonavoglia, C. (2005). A novel nested PCR for the diagnosis of calicivirus infections in the cat. *Veterinary Microbiology*, 105(1), pp 1–7.

Masubuchi, K., Wakatsuki, A., Iwamoto, K., Takahashi, T., Kokubu, T. & Shimizu, M. (2010). Immunological and genetic characterization of feline caliciviruses used in the development of a new

- trivalent inactivated vaccine in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 72(9), pp 1189–1194.
- Porter, C. J., Radford, A. D., Gaskell, R. M., Ryvar, R., Coyne, K. P., Pinchbeck, G. L. & Dawson, S. (2008). Comparison of the ability of feline calicivirus (FCV) vaccines to neutralise a panel of current UK FCV isolates. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(1), pp 32–40.
- Poulet, H., Brunet, S., Leroy, V. & Chappuis, G. (2005). Immunisation with a combination of two complementary feline calicivirus strains induces a broad cross-protection against heterologous challenges. *Veterinary Microbiology*, 106(1-2), pp 17–31.
- Povey, C. & Ingersoll, J. (1975). Cross-protection among feline caliciviruses. *Infection and Immunity*, 11(5), pp 877–885.
- Povey, R. C. (1974). Serological Relationships Among Feline Caliciviruses. *Infection and Immunity*, 10(6), pp 1307–1314.
- Radford, A. D., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2009). Feline Calicivirus Infection ABCD Guidelines on Prevention and Management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), pp 556–564.
- Radford, A. D., Coyne, K. P., Dawson, S., Porter, C. J. & Gaskell, R. M. (2007). Feline calicivirus. *Veterinary Research*, 38(2), pp 319–335.
- Reubel, G. H., Ramos, R. A., Hickman, M. A., Rimstad, E., Hoffmann, D. E. & Pedersen, N. C. (1993). Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infections using the polymerase chain reaction. *Archives of Virology*, 132(3-4), pp 409–420.
- Rong, S., Lowery, D., Floyd-Hawkins, K. & King, V. (2014). Characterization of an avirulent FCV strain with a broad serum cross-neutralization profile and protection against challenge of a highly virulent vs feline calicivirus. *Virus Research*, 188, pp 60–67.
- Schulz, C., Hartmann, K., Mueller, R. S., Helps, C. & Schulz, B. S. (2015). Sampling sites for detection of feline herpesvirus-1, feline calicivirus and Chlamydia felis in cats with feline upper respiratory tract disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*.
- Thiry, E., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2009). Feline Herpesvirus Infection ABCD Guidelines on Prevention and Management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), pp 547–555.
- Tizard, I. R. (2012a). Immunity in the Fetus and Newborn I: *Veterinary Immunology*. 9. ed, St. Louis: Elsevier/Saunders, p 234.
- Tizard, I. R. (2012b). Vaccines and Their Production I: *Veterinary Immunology*. 9. ed, St. Louis: Elsevier/Saunders, pp 261–262.
- Vögtlin, A., Fraefel, C., Albini, S., Leutenegger, C. M., Schraner, E., Spiess, B., Lutz, H. & Ackermann, M. (2002). Quantification of Feline Herpesvirus 1 DNA in Ocular Fluid Samples of Clinically Diseased Cats by Real-Time TaqMan PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), pp 519–523.

Wardley, R. C., Gaskell, R. M. & Povey, R. C. (1974). Feline respiratory viruses--their prevalence in clinically healthy cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 15(9), pp 579–586.