





# **Ekvint herpesvirus 1 (EHV-1)**

Mekanismerna bakom dess patogenes, latens och reaktivering

## **Equine herpes virus 1 (EHV-1)**

The mechanisms behind its pathogenesis, latency and reactivation

*Ebba Jennolf*

**Handledare:** *Mikael Berg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Examinator:** *Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2018

**Serienamn:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

**Delnummer i serien:** 2018:14

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

**Nyckelord:** Ekvint herpesvirus 1, EHV-1, Patogenes, Latens, Reaktivering

**Keywords:** Equine herpes virus 1, EHV-1, Pathogenesis, Latency, Reactivation

**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.....                | 3  |
| Virologi .....                         | 3  |
| Patogenes.....                         | 4  |
| Smittvägar.....                        | 4  |
| Infektion.....                         | 5  |
| Klinisk manifestation.....             | 6  |
| Latent infektion .....                 | 7  |
| Reaktivering av latent infektion ..... | 7  |
| Prevention.....                        | 9  |
| Vaccin .....                           | 9  |
| Management .....                       | 10 |
| Diskussion .....                       | 11 |
| Litteraturförteckning .....            | 13 |



## **SAMMANFATTNING**

Ekvint herpesvirus 1 (EHV-1) är ett alfaherpesvirus som förekommer i de flesta av världens hästpopulationer. Viruset är det mest fruktade av ekvina herpesvirus och kan ge upphov till luftvägsinfektion, abort och i vissa fall neurologisk sjukdom hos hästar i alla åldrar. Liksom andra herpesvirus har EHV-1 förmåga att etablera en livslång latent infektion som periodvis kan reaktiveras. Denna litteraturstudie syftar till att undersöka mekanismerna bakom latent infektion orsakad av EHV-1 och hur en sådan infektion kan reaktiveras och förebyggas.

Inhalation av nasal aerosol är den främsta smittvägen för EHV-1, men även infekterade foster, fosterhinnor och fostervätskor är infektiösa. Viruset har även isolerats från sperma. Initialt infekterar EHV-1 respiratoriska epitelceller där det replikerar i cellkärnan. Viruset sprids via infekterade leukocyter vidare till andra organ, däribland uterus och det centrala nervsystemet (CNS). I uterus respektive CNS ger viruset upphov till vaskulit och multifokal trombos, vilket tros vara orsaken till abort respektive neurologisk sjukdom.

Efter en primär infektion etablerar EHV-1 en latent infektion i neuron och leukocyter, huvudsakligen CD5+ och CD8+ T-lymfocyter. Under latens transkriberas endast en begränsad del av det virala genomet, så kallad latensassocierade transkripts (LATs). Periodvis kan den latent infektionen reaktiveras varpå virusutsöndring eller cellassocierad viremi kan uppstå på nytt och smittspridning möjliggöras. Mellan perioder av reaktivering är viruset oupptäckbart för immunförsvaret. Det är inte helt känt vilka faktorer som utlöser reaktivering, men både interleukin 2 (IL-2) och ekvint chorionic gonadotropin (eCG) har visat sig kunna reaktivera latent EHV-1. Interleukin 2 respektive eCG verkar reaktivera latent infektion genom att binda till monocyter vilket genererar frisättning av sekundära mediatorer. De ännu oidentifierade sekundära mediatorerna får i sin tur CD3+ lymfocyter att initiera reaktivering.

Vaccination och management är de huvudsakliga verktygen för att förebygga infektion med EHV-1. Redan på 1940-talet började hästar vaccineras mot EHV-1 för att kontrollera respiratorisk sjukdom. Sedan dess har ett flertal vaccin utvecklats, men hitintills finns inget vaccin som ger effektivt skydd mot både primär och latent infektion. Management syftar till att minimera hästarnas exponering för exogent virus, maximera immunberedskapen i händelse av exponering och minska sannolikheten för reaktivering av latent virus.

Ännu återstår det mycket att reda ut kring mekanismerna bakom latent infektion orsakad av EHV-1, liksom hur den kan reaktiveras och förebyggas. Flera detaljer i virusets patogenes behöver kartläggas för att få den ökade förståelse som krävs för att kunna utveckla ett effektivt vaccin och management som skyddar mot infektion och vidare smittspridning.

## **SUMMARY**

The alpha herpes virus equine herpes virus 1 (EHV-1) exists in horse populations worldwide. The virus is the most dreaded of herpes viruses and can cause respiratory disease, abortion or neurologic disease in horses of all ages. Like other herpes viruses, EHV-1 establishes a latent infection that can be reactivated. This literature study aims to investigate the mechanisms behind latent infection caused by EHV-1, and how such an infection can be reactivated and prevented.

The primary way of infection for EHV-1 is inhalation of nasal aerosol, but also infected foetus, foetal membranes and foetal fluids are highly infectious. The virus has been isolated from sperm as well. Initially, EHV-1 infects the respiratory epithelium and replicates in the nucleus. The virus is spread to other organs such as the uterus and the central nervous system by infected leukocytes. In the uterus and the central nervous system, EHV-1 give rise to vasculitis and thrombosis which is thought to cause abortion and neurologic disease, respectively.

After a primary infection, EHV-1 establishes a latent infection in neurons and leukocytes, mainly CD5+ and CD8+ T-lymphocytes. During latency, only a limited part of the viral genome is transcribed. The latent infection can be reactivated periodically which leads to virus shedding or cell associated viremia. In between periods of reactivation, the virus is undetectable for the immune system. The factors of reactivation are not well known, but at least interleukin 2 (IL-2) and equine chorionic gonadotropin (eCG) has shown ability to reactivate latent EHV-1. Interleukin 2 and eCG seems to reactivate latent EHV-1 by binding to monocytes which generates release of secondary mediators that makes CD3+ lymphocytes initiate reactivation. It remains to determine which secondary mediators are involved.

Vaccination and management are the main tools to prevent EHV-1 infection. The first vaccination against EHV-1 was performed in the 1940s to control an outbreak of respiratory disease. Several vaccines have been developed since then, but so far none has given effective protection against both primary and latent infection. However, management aims to minimize the exposure to the virus as well as maximize the immune preparedness and reduce the risk for reactivation of latent virus.

Still there is a lot left to investigate concerning the mechanisms behind latent infection caused by EHV-1, as well as how it reactivates and can be prevented. Several details in the pathogenesis of the virus need to be understood in order to develop an effective vaccine and management methods that prevent and protect from infection and further spreading.



## INLEDNING

Förekomsten av ekvint herpesvirus är utbredd inom såväl den svenska som den globala hästuppopulationen och medför stora ekonomiska förluster och välfärdsproblem världen över (SVA, 2017). Totalt har åtta herpesvirus påvisats hos *Equidae* varav fem herpesvirus har isolerats från hästar och tre från åsnor (Reed & Toribio, 2004). Av dessa är ekvint herpesvirus 1 (EHV-1) det mest fruktade (SVA, 2017).

Infektion med EHV-1 kan ge upphov till luftvägsinfektion, abort eller, i mer sällsynta fall, neurologisk sjukdom. Mellan åren 2011–2016 rapporterades årligen 2-13 fall eller utbrott av abort orsakade av EHV-1 till Jordbruksverket, och viruset påvisades vid 3-10 årliga fall av luftvägsinfektion under perioden år 2010–2014 (SVA, 2017).

Efter den primära infektionen etablerar viruset en livslång latent infektion som gör värdjuret till persistent smittbärare. Periodvis kan den latent infektionen reaktiveras varpå utsöndring av infektiöst virus eller cellassocierad viremi uppstår på nytt. Däremellan är viruset vilande och inte smittsamt (Paillot *et al.*, 2008).

Ekvint herpesvirus 1 är av stort intresse för hästindustrin och förståelsen för hur viruset ger upphov till latent infektion är viktig för att kunna minimera och förhindra smittspridning. Denna litteraturstudie syftar till att undersöka mekanismerna bakom latent infektion orsakad av EHV-1 och hur en sådan infektion kan reaktiveras och förebyggas.

## MATERIAL OCH METODER

Denna litteraturstudie har baserats på vetenskapliga artiklar som publicerats i databaserna *Web of Science* och *PubMed*. Även reviewartiklar av hög standard har inkluderats. I sökningarna har följande sökord använts; (equi\* OR horse\* AND ehv OR herpes\*) och (latency OR latent AND equi\* OR horse\* AND ehv OR herpes\*). Utifrån angivna referenser i funna artiklar har sökningar gjorts för att finna relevant litteratur därutöver. Urvalet av artiklar har begränsats till de som varit fritt tillgängliga online och för information av allmän kännedom har *Statens Veterinärmedicinska Anstalts (SVA)* hemsida använts.

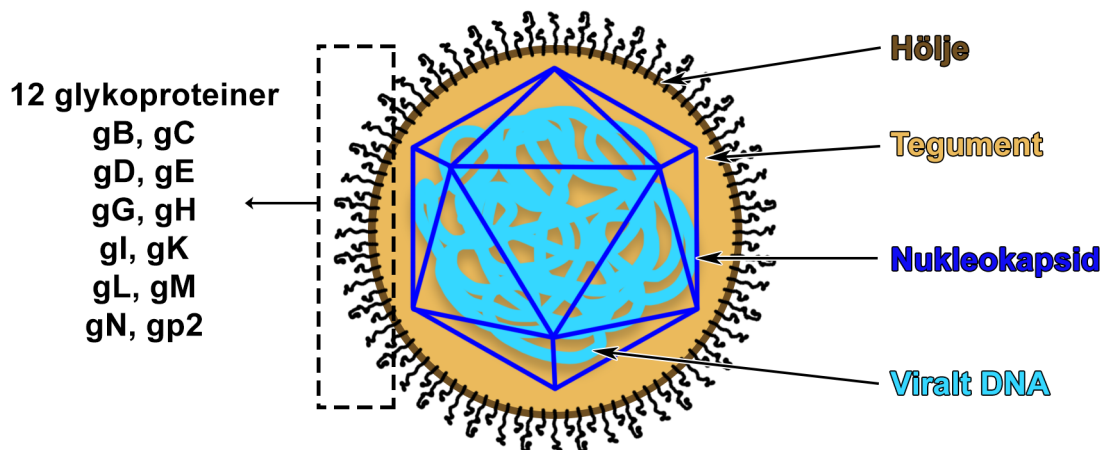
## LITTERATURÖVERSIKT

### Virologi

Ekvint herpesvirus 1 (EHV-1) tillhör familjen *Herpesviridae* vilken är indelad i tre subfamiljer ( $\alpha$ ,  $\beta$  och  $\gamma$ ) baserat på genomstruktur, värdspektrum, reproduktionscykler och cytopatologi. Ekvint herpesvirus 1 ingår i subfamiljen  *$\alpha$ -herpesvirinae* och tillhör genus *Varicellovirus* (ICTV, 2016). Viruset är närbesläktat med ekvint herpesvirus 4 (EHV-4) som definierades som ett enskilt virus år 1981 (Studdert *et al.*, 1981).

Strukturen hos EHV-1 är välstuderad (Fig. 1). Viruset är stort och höljeförsett med en ikosaedrisk nukleokapsid som omges av ett amorft matrix (Wittaker & Helenius, 1998). Nukleokapsiden byggs upp av sex proteiner (Paillot *et al.*, 2008) och innehåller det virala genomet vilket utgörs av dubbelsträngat DNA bestående av 145-150 kilobaspar (kb) som kodar för 76 unika gener (Reed & Toribio, 2004). Det amorfa höljet består av 162 kapsomerer (Wildy *et al.*, 1960) och bedöms innehålla minst 13 glykoproteiner varav 10 är gemensamma med det humana viruset Herpes simplex virus typ 1 (HSV1) (Reed & Toribio, 2004). Glykoproteiner har stor betydelse för hur infektionen fortlöper då de medierar virusets

bindning och inträde till värdcellen. I och med detta utgör glykoproteinerna målet för värdjurets immunsvär vilket gör dem mycket intressanta vid utveckling av vaccin och diagnostiska metoder (van Maanen, 2002). Utrymmet mellan nukleokapsiden och höljet utgörs av ett viralt matrix, även kallat tegument, bestående av 12 virala proteiner och enzymer som är involverade i initieringen av den virala replikationen (Paillot *et al.*, 2008).



Figur 1. Virusstruktur för Ekvint herpesvirus 1. Bild av Alexander Häll Lanerfeldt baserad på bild av Paillot *et al.* (2008).

Förekomst av olika isolat av EHV-1 med skilda biologiska fenotyper har beskrivits av flera författare (Smith *et al.*, 2000; Tearle *et al.*, 2003; Gardiner *et al.*, 2012). De olika EHV-1-isolaten har en generellt låg genetisk variabilitet (van Maanen *et al.*, 2002). Genetiken hos stammar av EHV-1 med låg (V592) virulens skiljer sig endast med 0,1 % från de med hög (Ab4) virulens (Dunovska, 2014). Vilka genetiska skillnader som ligger till grund för de olika biologiska egenskaperna är ännu inte helt fastställt. Den enda tydliga divergens som funnits hitintills är skillnaden i en sekvens av DNA-polymeras som den öppna läsramen (open reading frame, ORF) 30 kodar för. Utbyte av aspargin till asparginsyra på position 752 i denna gen är associerat med ökad neurovirulens. Dock påverkar inte alla EHV-1-isolat med denna substitution det centrala nervsystemet, och även isolat som saknar detta utbyte kan ge upphov till neurologisk sjukdom (Perkins *et al.*, 2009; Cuxson *et al.*, 2014).

## Patogenes

### Smittvägar

Den huvudsakliga smittvägen för EHV-1 är inhalation av nasal aerosol (Reed & Toribio, 2004), men även infekterade aborterade foster, fosterhinnor och fostervätskor är synnerligen infektiösa och kan effektivt sprida smittan till andra hästar vid direktkontakt. Ekvint herpesvirus 1 kan också utsöndras och spridas till mottagliga hästar vid reaktivering av en latent infektion (van Maanen, 2002). DNA tillhörande EHV-1 har isolerats från sperma, insamlat från hingstar, med hjälp av polymerase chain reaction (PCR). Ännu är det okänt huruvida EHV-1 i sperma är infektiöst och det krävs därmed ytterligare studier för att avgöra om betäckning utgör en potentiell smittväg för infektion av ston (Hebia-Fellah *et al.*, 2009).

Ekvint herpesvirus 1 är instabilt i miljön och kan lätt elimineras med hjälp av detergent, värme, lösningsmedel och desinfektionsmedel. I och med virusets nedsatta förmåga att

överleva i miljön är den generella uppfattningen att EHV-1 inte kan överleva utanför värdjuret. I experiment har dock viruset visat sig överleva upp till en vecka vid torkning på papper, trä och rep respektive upp till 35 dagar i hästtagel och säckväv (Doll *et al.*, 1959).

### **Infektion**

När värdjuret smittats med EHV-1 infekterar viruset initialt epitelceller i den nasala slemhinnan och/eller nasofarynx (Gryspeerd *et al.*, 2010). Vid inträde i värdcellen spelar glykoproteiner i virusets hölje en avgörande roll. Det är känt att glykoprotein B och C (gB och gC) binder till glykosaminoglykaner innehållande heparansulfat på cellytan. Även glykoprotein D och M (gD och gM) verkar vara nödvändiga för inträdet, dessa binder dock till en hittills oidentifierad receptor som skiljer sig från tidigare identifierade receptorer för alfaherpesvirus (Arthur *et al.*, 2005).

*In vitro* har EHV-1 visat sig kunna penetrera cellen antingen genom direkt fusion med plasmamembranet, eller via endocytos följt av fusion med ett endosomalt membran (Azab *et al.*, 2013). Hitintills har två receptorer som EHV-1 kan använda sig av identifierats; ekvint major histocompatibility complex 1 (MHC-1) och cellulära integriner. Det är troligt att det finns ytterligare, ännu oidentifierade, receptorer som viruset kan använda för att infektera vissa celltyper (Azab & Osterrieder, 2012). Ännu är det okänt vilka faktorer som avgör vilken mekanism EHV-1 använder och det är heller inte fastställt huruvida inträdet sker på samma sätt *in vivo* som *in vitro* (Dunovska, 2014).

Om EHV-1 betar sig likt andra herpesvirus, frisätts proteiner från kapsid och matrix vid fusion, varpå kapsiden binder till mikrotubuli. Processen medieras av motorproteinet dynein som transporterar kapsiden längs mikrotubuli till organisationscentret för mikrotubuli lokaliserat intill cellkärnan (Sodeik *et al.*, 1997). Den mikrotubulimedierade transporten är inte helt nödvändig för infektion av vävnadsceller, men spelar troligen en betydande roll vid infektion av neuron där avståndet till cellkärnan kan vara långt (Whittaker & Helenius, 1998). Då kapsiden når kärnmembranet interagerar den med kärnporkomplex (Sodeik *et al.*, 1997) och frisätter sitt DNA som translokeras in i cellkärnan. Den "tomma" kapsiden kvarblir bunden till kärnporkomplexet (Newcomb & Brown, 1994).

Ekvint herpesvirus 1 replikerar i cellkärnan och nya viruspartiklar bildar sina höljen från kärnmembranets inre lameller. De färdiga viruspartiklarna avknoppas från cellytan varpå epitelcellen går in i nekros (Reed & Toribio, 2004) och det uppstår en epitelskada vilken kan predisponera för sekundära infektioner. Redan efter 3-5 dagar efter infektion börjar de skadade epitelcellerna att återhämta sig (Gryspeerd *et al.*, 2010). Det infektiösa viruset kan frigöras till extracellulärt matrix eller spridas till andra celler via virusinducerad cellfusion vilket involverar gB, gD och gK. För att EHV-1 ska kunna spridas direkt från cell till cell *in vitro* krävs gB (Neubauer *et al.*, 1997).

Ekvint herpesvirus 1 verkar till skillnad från andra alfaherpesvirus inte penetrera basalmembranet i den nasala slemhinnan, varken *in vivo* (Gryspeerd *et al.*, 2010) eller *in vitro* (Vandekerckhove *et al.*, 2010). Trots detta kan enstaka EHV-1-infekterade celler, varav övervägande delen monocyter och T-lymfocyter, observeras i bindväv och lymfoid vävnad i luftvägarna inom 24-48 timmar efter experimentell infektion (Gryspeerd *et al.*, 2010). Det verkar vara förmågan att infektera immunceller som möjliggör för EHV-1 att passera basalmembranet och sprida sig till andra organ, däribland det centrala nervsystemet (CNS)

och uterus. Även virusets neurovirulens tycks vara associerat till dess förmåga att effektivt förflytta sig över basalmembranet. I försök visade sig antalet EHV-1-infekterade celler under basalmembranet vara högre hos ponnyer infekterade med en neurovirulent stam, jämfört med de som infekterats med icke neurovirulent stam av viruset (Gryspeerd *et al.*, 2010).

Förmågan att upprätta en cellassocierad viremi är av stor betydelse för patogeniciteten hos EHV-1 (Kydd *et al.*, 2012) och verkar vara avgörande för virulensen hos en stam. Resultat visar att högvirulenta stammar av EHV-1 kan etablera en kraftigare cellassocierad viremi än vad lågvirulenta stammar är förmögna till (Goodman *et al.*, 2007). Virusets virulens är också beroende av dess förmåga att infektera endotelceller då högvirulenta isolat av EHV-1 har visat sig vara mer endoteliotropa än lågvirulenta (Smith *et al.*, 2000).

Ekvint herpesvirus 1 sprids via infekterade leukocyter till andra organ, däribland uterus och CNS. Då EHV-1 infekterar endotelceller i blodkärl i dessa vävnader uppstår vaskulit och multifokal trombos vilket tros kunna orsaka abort respektive neurologisk sjukdom (Edington *et al.*, 1986). Hur infektion av endotelceller initieras är ännu inte helt klarlagt. Resultatet av en studie utförd på fyra EHV-1-infekterade ston indikerar att endotelceller i endometriet och ovariet hos dräktiga ston uttrycker särskilda adhesionsmolekyler. Adhesionsmolekylerna uttrycks av endotelceller i vävnader där EHV-1-infektion har beskrivits vilket tyder på att dessa är essentiella för att leukocyter ska kunna överföra viruset till endotel. Denna mekanism skulle också kunna förklara varför EHV-1 har en sådan begränsad vävnadstropism (Smith *et al.*, 2001).

### **Klinisk manifestation**

Infektion med EHV-1 kan ge upphov till tre olika sjukdomstillstånd; luftvägsinfektion, abort och neurologisk sjukdom. Luftvägsinfektion orsakad av EHV-1 är ofta mild eller subklinisk (van Maanen, 2002). Vanliga symptom är feber, inappetens och nedsatt allmäntillstånd utöver seröst nosflöde och hosta (Reed & Toribio, 2004).

Infektion med EHV-1 kan orsaka abort hos dräktiga ston i alla skeden av dräktigheten (Reed & Toribio, 2004), men i 95% av fallen aborterar stoet under de sista fyra månaderna. Inkubationstiden vid primär infektion är varierande och dräktiga ston kan abortera månader eller år efter den primära infektionen till följd av reaktivering av en latent infektion (van Maanen, 2002). Vanligtvis är infektion av dräktiga ston subklinisk, men det förekommer att infekterade ston får benödem och anorexi. Abort av foster, inklusive placenta, sker vanligtvis plötsligt och spontant. Foster som föds yngre än 6 månader är i regel autolyserade. Ston som infekteras i senare delen av dräktigheten kan föda sina foster, men fölen föds ofta svaga med gulsot och andnöd varpå de vanligtvis avlider inom ett fåtal dagar (Murray *et al.*, 1998; Perkins *et al.*, 1999).

Neurologisk sjukdom som en följd av infektion med EHV-1 kan drabba hästar i alla åldrar, men föl är minst benägna att utveckla kliniska symptom. Inkubationstiden är 6-10 dagar och drabbade hästar kan uppvisa mycket varierande symptom, alltifrån mild ataxi till paralytisk av främre och bakre extremiteter. Ofta observeras paralytisk av svans och urinblåsa varpå inkontinens uppstår. Vid lindrig infektion kan hästarna vara fullt återställda efter några dagar upp till några veckor, medan allvarligt påverkade hästar riskerar att avlida eller avlivas till följd av sekundära komplikationer (Goehring & Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 2001).

## Latent infektion

Förmågan att etablera en livslång latent infektion efter primär infektion är en viktig karaktäristisk komponent i samtliga herpesvirus patogener och biologiska överlevnadsstrategi (Welch *et al.*, 1992). Även om det förekommer vissa skillnader mellan olika herpesvirus är de grundläggande mekanismerna för latens gemensamma (Stevens, 1994). Den latent infektionen kan sedan reaktiveras varpå infektiöst virus produceras på nytt (Chester *et al.*, 1997).

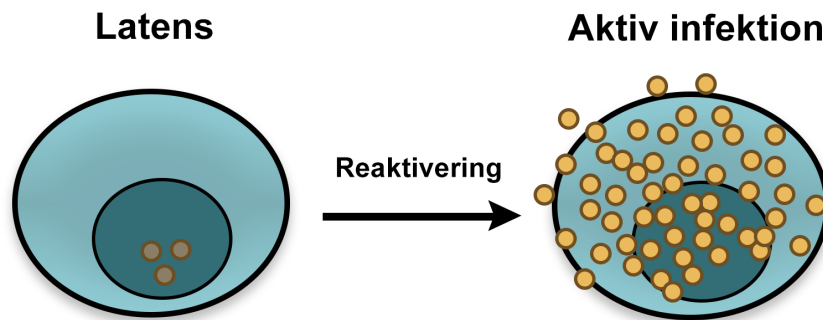
Efter infektion av det respiratoriska epitelet och efterföljande viral replikation utvecklar EHV-1 en latent infektion. Flera olika lokaliseringar för latent EHV-1-infektion har identifierats. Leukocyter (Welch *et al.* 1992) och neuron (Baxi *et al.* 1995) har definierats som cellulära lokaliseringar för latens. Smith *et al.* (1998) menar att CD5+ och CD8+ T-lymfocyter är det huvudsakliga läget för latent EHV-1-infektion. Författarna framhåller bevis som styrker att 80% av latent EHV-1-infektion är lokaliserad i CD8+, och de resterande 20% i en subpopulation som endast kan specificeras som CD5+.

Under latens är hela det virala genomet närvarande i de infekterade cellerna, men enbart en begränsad del av genomet genomgår transkription (Chester *et al.*, 1997). Den region av genomet som transkriberas kodar för latensassocierade transkript, så kallade LATs (Efsthathiou & Preston, 2005). LATs i genomet hos EHV-1 utgörs av ett 2,0 kb transkript och ligger inuti en 8,6 kb lång sekvens som är antisense till, och överlappar, immediate early gen 64 (Chester *et al.*, 1997). Hos Herpes simplex virus (HSV), som kan ge upphov till orala och genitala infektioner hos människa (Delamaza, 1982), har LATs visat sig främja latens, men inte vara essentiella för upprätthållande eller reaktivering av infektionen (Efsthathiou & Preston, 2005).

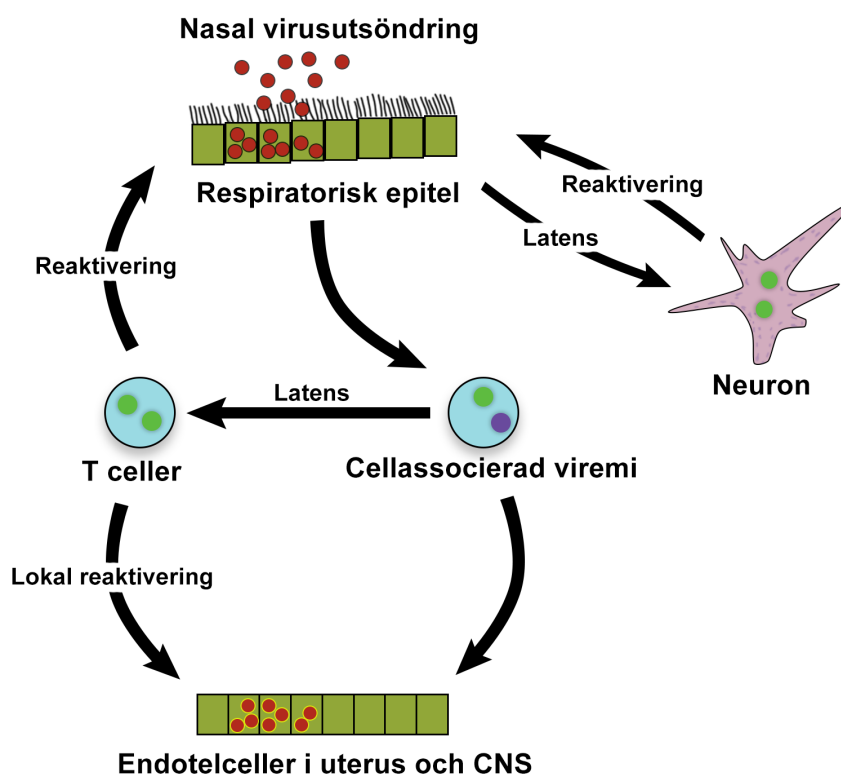
Immediate early (IE) genes är de första virala gener som transkriberas efter infektion. IE-generna kodar för proteiner som optimerar cellen för viralt genuttryck och replikation (Arvin *et al.*, 2007). Latent herpesvirusinfektion har framförallt studerats hos HSV och numera är defekter i initieringen av viralt uttryck av IE-gener en generellt accepterad förklaring till latent HSV-infektion (Efsthathiou & Preston, 2005). Observationer indikerar att latens kan upprättas utan uttryck av IE-gener (Marshall *et al.*, 2000) och minimikraven för etablering av latent infektion skulle således vara transport av viralt genom till nukleus och ett samtidigt misslyckande att uttrycka IE-gener (Efsthathiou & Preston, 2005).

## Reaktivering av latent infektion

Latent herpesvirusinfektion kan periodvis reaktiveras. Vid reaktivering går ett fåtal av de latent infekterade cellerna in i den produktiva infektionsfasen (Fig. 2) varpå utsöndring av infektiöst virus eller cellassocierad viremi kan uppstå på nytt (Fig. 3). En reaktiverad latent infektion kan leda till samtliga EHV-1-orsakade sjukdomstillstånd (Paillot *et al.*, 2008), men kan även passera utan kliniska symptom (Stevens, 1994). Mellan perioder av reaktivering är latent infekterade leukocyter gömda för immunförsvaret (Paillot *et al.*, 2008).



Figur 2. Reaktivering av latent infektion med ekvint herpesvirus 1 (EHV-1). Ett fåtal av de latent infekterade cellerna går in i den produktiva fasen och infektiöst virus produceras på nytt. Bild av Alexander Häll Lanerfeldt baserad på bild av Dunovska (2014).



Figur 3. Schematisk bild av infektion, latens och reaktivering vid infektion med ekvint herpesvirus 1 (EHV-1). Initialt infekterar EHV-1 epitelceller i den nasala slemhinnan och/eller nasofarynx och replikerar i cellkärnan. Viruspartiklarna infekterar T-lymfocyter, antingen aktivt (lila prick) eller latent (grön prick), och passerar med hjälp av dessa basalmembranet. Viruspartiklarna sprids i kroppen via cellassocierad viremi och kan infektera endotelceller i uterus och centrala nervsystemet (CNS), vilket tros vara orsaken till abort respektive neurologisk sjukdom. Latent infektion kan även etableras i neuron. Reaktivering av latent infektion i T-celler eller neuron resulterar i nasal virusutsöndring, cellassocierad viremi och eventuellt efterföljande abort eller neurologisk sjukdom. Viruspartiklarna kan också reaktiveras lokalt i endotelceller i uterus respektive CNS, utan föregående aktiv infektion av respiratoriskt epitel. Bild av Alexander Häll Lanerfeldt baserad på bild av Dunovska (2014).

Orsaken till att latent virus reaktiveras är inte helt känd. Stevens (1994) menar att orsakerna till att reaktivering är relaterade till en rubbning av homeostasen, medan Efsthathiou och Preston (2005) skriver i sin artikel att reaktivering är en konsekvens av en respons till cellulära signaler som resulterar i aktivering av virusets genuttryck och produktiva cykel.

För att kunna förklara varför EHV-1 infekterar endotelet i endometriet och andra endokrina körtlar specifikt, har det undersökts om hormoner möjligen kan mediera reaktivering av en latent EHV-1-infektion. Resultatet av en *in vitro*-studie visar att ekvint chorionic gonadotropin (eCG), ett hormon som utsöndras under tidig dräktighet, har förmåga att reaktivera EHV-1. Reaktiveringen av EHV-1 i T-lymfocyter har också visats sig kunna initieras av interleukin-2 (IL-2). I båda fallen verkar reaktiveringen ske indirekt genom att IL-2 respektive eCG binder till receptorer på monocyter, vilket genererar frisättningen av sekundära mediatorer som i sin tur får CD3+ lymfocyter att initiera reaktivering. Det finns flera hypoteser om vilka de sekundära mediatorerna är, men för att fastställa dessa krävs ytterligare forskning (Smith *et al.*, 1998).

Ännu är det inte känt vilka fysiologiska faktorer som utlöser reaktivering. Reaktivering av latent EHV-1 har observerats efter behandling med kortikosteroider eller andra stressmoment såsom kastration, avvänjning och transport. Reaktivering av latent infektion tros vara en av de viktigaste faktorerna bakom utbrott av neurologisk sjukdom orsakad av EHV-1 (Paillot *et al.*, 2008).

## **Prevention**

### **Vaccin**

I och med den stora utbredningen och de allvarliga konsekvenser som EHV-1 medför är det starkt motiverat att utveckla ett effektivt vaccin. Det första vaccinet började användas redan under tidigt 1940-tal för att försöka kontrollera respiratorisk sjukdom orsakad av EHV-1 (Patel & Heldens, 2005). Sedan dess har flera, mer eller mindre effektiva, vaccin utvecklats och idag är vaccination en viktig strategi för bekämpning av EHV-1 tillsammans med managementåtgärder (Paillot *et al.*, 2008).

De kommersiellt tillgängliga vaccinen har huvudsakligen varit inaktiverade EHV-1-vaccin som, genom att framkalla antikroppssvar, givit skydd mot sjukdom i varierande utsträckning. Vissa vaccin har haft som strategi att närmare efterlikna det immunsvaret som EHV-1 inducerar. Dessa vaccin har bestått av levande attenuerat virus eller poxvirusvektorer som kodar för virusproteiner (Paillot *et al.*, 2008). På senare tid har det även kommit vaccin som innehåller antigen från både EHV-1 och EHV-4 (Ostlund, 1993).

För att ett vaccin ska vara verksamt mot EHV-1 förväntas det styra immunsvaret mot både ett humoralt och cellmedierat immunsvaret, vilket tros vara en förutsättning för att ge skydd mot både primär infektion och reaktivering av en redan existerande latent infektion (Foote *et al.*, 2002). Vaccinet måste skydda mot infektion, utveckling av respiratorisk sjukdom, efterföljande virusutsöndring från nasofarynx samt systemisk spridning via cellassocierad viremi och begränsa reaktivering av latent infektion. Utvecklade vaccin har därför stimulerat olika immunsvaret för att påverka de olika aspekterna av infektionen (Paillot *et al.*, 2008).

Ekvint herpesvirus förmåga att undkomma immunförsvaret i kombination med dess kapacitet att etablera latent infektion försvårar utvecklingen av verksamma vaccin. Latent virus producerar få, om ens några, proteiner och upptäcks således inte av immunförsvaret och undkommer att attackeras av antikroppar och immunceller. Dessutom kan EHV-1 spridas från cell till cell utan att passera extracellulära utrymmen vilket gör att kontakt mellan virus och immunsystemet undviks. Antagligen har EHV-1, likt närbesläktade HSV, ytterligare

mekanismer för att undvika immunsystemet såsom produktion av immunosuppressiva cytokiner (Banks & Rouse, 1992).

Numera vaccineras många hästar, framförallt avelsston och tävlingshästar, mot EHV-1. Inget av vaccinen på marknaden år 1993 gav varaktigt skydd mot infektion. Det förekommer ofta att vaccinerade hästar infekteras vid exponering för viruset, dock är infektionen hos vaccinerade hästar vanligtvis begränsad både avseende allvarlighetsgrad och duration, jämfört med ovaccinerade hästar. Denna begränsning innebär snabbare undanröjning av viruset, kortare frånvaro från träning och lägre sannolikhet för systemisk spridning (Ostlund, 1993). Avdödat vaccin har också visat sig minska de kliniska symptomen och mängden virus som utsöndras vid infektion med EHV-1 (Heldens *et al.*, 2001). Australienska studier visar dock att vaccination av dräktiga ston inte kunnat förhindra att deras föl infekteras under sina första veckor i livet (Foote *et al.*, 2004; Foote *et al.*, 2006). Inte heller tycks enbart vaccination ha någon effekt på antalet seropositiva ston innan avvänjning vilket tyder på att viruset cykel fortsätter trots vaccination (Foote *et al.*, 2003).

### **Management**

Management vid infektion med EHV-1 syftar till att minimera hästarnas exponering för exogent virus, maximera immunberedskapen i händelse av exponering och minska sannolikheten för reaktivering av latent virus. Att vaccinera samtliga hästar, inklusive vuxna och icke-avelshästar, är ett sätt att både minska risken för infektion och begränsa en eventuell infektion vilket försämrar förutsättningarna för smittspridning (Ostlund, 1993).

Att hålla hästar i olika åldrar åtskilda har visat sig vara en mycket effektiv taktik för att begränsa spridning av EHV-1. Framförallt bör dräktiga ston hållas separerade från unghästar och hästar som står tillfälligt i stallet. Om möjligt bör stallpersonalen även hantera dräktiga ston före kontakt med andra hästar. Vid introduktion av nya hästar i stallet bör dessa isoleras under tre veckor med daglig hälsoundersökning och mätning av kroppstemperatur innan de introduceras i den befintliga flocken (Ostlund, 1993).

Stress tros inducera reaktivering av latent EHV-1-infektion. Genom att undvika onödiga stressmoment kan sannolikheten för reaktivering minskas. Hästar som uppvisar respiratoriska symptom bör isoleras snarast och personal som hanterar infekterade hästar bör inte ha kontakt med naiva hästar. Utrustning som skulle kunna ha kontaminerats ska inte lämna isoleringen (Ostlund, 1993).

Då fostervävnader, placenta och livmodervätskor från ston som aborterat är infektiösa är det viktigt att dessa hanteras och tas om hand på ett säkert och lämpligt sätt för att förhindra att mottagliga djur exponeras. Ostlund (1993) menar att hela fostret och placentan bör placeras i en plastpåse för transport från stallet eller betesmarken där det återfanns. Författaren betonar även vikten av att hästar på en gård med konstaterad eller misstänkt förekomst av EHV-1 inte lämnar gården de närmsta 30 dagarna efter den senaste aborten.

Det är också möjligt att viruset kan spridas via organiskt material på skor och kläder, seltyg eller andra material i stall, hästransporter, vattenhinkar och foder. Vid misstanke om smitta med EHV-1 bör dessa ytor desinficeras och ryttare och stallpersonal bör använda skor som kan desinficeras innan ankomst till, och avfärd från, anläggningen (Reed & Toribio, 2004).



## DISKUSSION

I denna litteraturstudie beskrivs de kända mekanismerna bakom latent infektion orsakad av EHV-1 samt hur en sådan infektion kan reaktiveras och förebyggas. Efter omfattande litteratursökningar kvarstår dock många frågetecken.

Den huvudsakliga smittvägen för EHV-1 är inhalation av nasal aerosol (Reed & Toribio, 2004), men även infekterade foster, fosterhinnor och fostervätskor kan sprida smittan (van Maanen, 2002). Det krävs dock ytterligare studier för att avgöra om EHV-1 är infektiöst i sperma och om viruset kan överföras vid betäckning (Hebia-Fellah *et al.*, 2009). Virusets förmåga att överleva i miljön bör heller inte underskattas. Även om den generella uppfattningen är att viruset inte kan överleva utanför värdjuret, visar experimentella resultat på att det kan överleva en längre tid i material förekommande i stallmiljö (Doll *et al.*, 1959). Virusets kapacitet att överleva i miljön är av stor betydelse för smittspridning och prevention och bör således utforskas ytterligare.

Inledningsvis infekterar EHV-1 epitelcellerna i den nasala slemhinnan och/eller nasofarynx (Gryspeardt *et al.*, 2010). Exakt hur viruset tar sig in i värdcellen är inte känt. Det har konstaterats att glykoproteiner verkar vara nödvändiga (Arthur *et al.*, 2005) och två receptorer för EHV-1 har hittills identifierats, men antagligen finns det många fler att upptäcka (Azab & Osterrieder, 2012). *In vitro* har viruset visat sig kunna penetrera cellen på två olika sätt (Azab *et al.*, 2013), men det finns inga bevis för att det skulle bete sig likadant *in vivo* (Dunovska, 2014). Det kvarstår alltså många delar att kartlägga när det kommer till hur EHV-1 infekterar epitelceller initialt.

Det har konstaterats att EHV-1 kan förflytta sig över basalmembranet (Gryspeardt *et al.*, 2010) och spridas till andra organ via infekterade leukocyter (Edington *et al.*, 1986). Dock är det fortfarande oklart exakt hur viruset passerar basalmembranet och hur infektion i andra organ initieras. Uttryck av adhesionsmolekyler hos endotelceller skulle kunna förklara virusets mycket begränsade vävnadstropism, men för att bevisa detta krävs det ytterligare forskning.

Även kring mekanismerna bakom den efterföljande latent infektionen återstår många frågetecken. Många studier fokuserar på att bestämma celltyperna i vilka EHV-1 etablerar den latent infektionen och latensen har lokaliserats till neuron (Baxi *et al.* 1995) och leukocyter (Welch *et al.* 1992), varav huvudsakligen CD5+ och CD8+ T-lymfocyter (Smith *et al.* 1998). Det utesluter dock inte att det finns fler, ännu oupptäckta, cellulära lägen för latent EHV-1-infektion. Det har konstaterats att latensassocierade transkript (LATs) och immediate early genes (IE-gener) på ett eller annat sätt är involverade i etableringen av latent infektion (Efstathiou & Preston, 2005), men vidare studier behövs för att förstå vilka roller de spelar.

Likaså behöver orsakerna till reaktivering av en etablerad latent infektion med EHV-1 studeras ytterligare. Både ekvint chorionic gonadotropin (eCG) och interleukin-2 (IL-2) har visat sig kunna reaktivera latent EHV-1, men det råder fortfarande osäkerhet kring hur reaktiveringen induceras (Smith *et al.*, 1998). Förståelsen för dessa processer är av stor betydelse, inte minst för utvecklingen av vaccin och möjligheterna att begränsa smittspridning, och behovet av mer forskning på området är således stort.

Vaccin är ett av de viktigaste verktygen för att förebygga infektion med EHV-1 och begränsa smittspridningen. I dagsläget saknas ett effektivt vaccin som skyddar mot både primär infektion och latens, men de kommersiella vaccinen begränsar åtminstone infektionens allvarlighetsgrad och duration samt minskar de kliniska symptomen och mängden virus som utsöndras (Ostlund, 1993). Vaccination av dräktiga ston verkar dock inte förhindra att deras föl infekteras under sina första levnadsveckor (Foote *et al.*, 2004; Foote *et al.*, 2006). I dagsläget vaccineras många avelsston och tävlingshästar mot EHV-1, men vaccination bör övervägas även för övriga hästar. Även om de nuvarande kommersiella vaccinen inte ger immunitet, så har de önskvärda effekter som begränsar smittspridningen.

Management är det andra verktyget för att minimera exponering för exogent EHV-1, maximera immunberedskapen och minska sannolikheten för reaktivering av latent virus. Det har visat sig vara mycket effektivt att hålla hästar i olika åldrar åtskilda, framförallt att separera dräktiga ston från övriga hästar. Med hjälp av management kan också onödiga stressmoment minimeras och reaktivering av latent infektion på så sätt undvikas. Även vikten av att agera och isolera hästar vid tecken på respiratorisk sjukdom bör poängteras. Liksom betydelsen av att på ett säkert och lämpligt sätt hantera och ta hand om fostervävnader, placenta och livmodervätskor från ston som aborterat för att förhindra eventuell smittspridning (Ostlund, 1993).

Sammanfattningsvis återstår det mycket att reda ut kring mekanismerna bakom latent infektion orsakad av EHV-1, liksom hur den kan reaktiveras och förebyggas. Flera detaljer i virusets patogenes behöver kartläggas för att få den ökade förståelse som krävs för att kunna utveckla ett effektivt vaccin och management som skyddar mot både infektion och vidare smittspridning.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Arthur R., Frampton Jr., Goins W. F., Cohen J. B., von Einem J., Osterrieder N., O'Callaghan D. J., Glorioso J. C. (2005). *Journal of Virology*, 79 (5): 3169-3173.
- Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P. S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K. (2007). Human herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis. *Cambridge University Press*, kapitel 17.
- Azab W., Osterrieder N. (2012). Glycoproteins D of equine herpesvirus type 1 (EHV-1) and EHV-4 determine cellular tropism independently of integrins. *Journal of Virology*, 86: 2031–2044.
- Azab W., Lehmann M. J., Osterrieder N. (2013). Glycoprotein H and alpha4beta1 integrins determine the entry pathway of alphaherpesviruses. *Journal of Virology*, 87: 5937–5948.
- Banks A. T., Rouse B. T. (1992). Herpesviruses: Immune Escape Artists? *Clinical Infectious Diseases*, 14 (4): 933-941.
- Baxi M. K., Efstathiou S., Lawrence G., Whalley J. M., Slater J. D., Field H. J. (1995). The detection of latency-associated transcripts of equine herpesvirus 1 in ganglionic neurons. *Journal of General Virology*, 76: 3113-3118.
- Chester P. M., Allsop R., Purewal A., Edington N. (1997). Detection of Latency-Associated Transcripts of Equid Herpesvirus 1 in Equine Leukocytes but Not in Trigeminal Ganglia. *Journal of Virology*, 71 (5): 3437-3443.
- Cuxson J. L., Hartley C. A., Ficorilli N. P., Symes S. J., Devlin J. M., Gilkerson J. R. (2014). Comparing the genetic diversity of ORF30 of Australian isolates of 3 equid alphaherpesviruses. *Veterinary Microbiology*, 169: 50–57.
- Delamaza L. M. (1982). Herpes-simplex virus-infections. *Western Journal of Medicine*, 136 (5): 419-420.
- Doll E. R., McCollum W. H., Bryans T., Crowe M. E. W. (1959). *The Cornell Veterinarian*, XLIX (1): 75-81. Tillgänglig: <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=uc1.b4179385;view=1up;seq=83> [2018-02-17]
- Dunovska M. (2014). A review of equid herpesvirus 1 for the veterinary practitioner. Part B: pathogenesis and epidemiology. *New Zealand Veterinary Journal*, 62 (4): 179-188.
- Edington N., Bridges C. G., Patel J. R. (1986). Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by equid herpesvirus-1 equine stroke. *Archives of Virology*, 90:111–124.
- Efstathiou S., Preston C. M. (2005). Towards an understanding of the molecular basis of herpes simplex virus latency. *Virus Research*, 111: 108-119.
- Foote C. E., Love D. N., Gilkerson J. R., Whalley J. M. (2002). Serological responses of mares and weanlings following vaccination with an inactivated whole virus equine herpesvirus 1 and equine herpesvirus 4 vaccine. *Veterinary Microbiology*, 88: 13-25.
- Foote C. E., Gilkerson J. R., Whalley J. M., Love D. N. (2003). Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in years pre- and postvaccinations. *Australian Veterinary Journal*, 81 (5): 283-288.
- Foote C. E., Love D. N., Gilkerson J. R., Whalley J. M. (2004). Detection of EHV-1 and EHV-4 in unweaned thoroughbred foals from vaccinated mares on a large stud farm. *Equine Veterinary Journal*, 36 (4): 341-345.

- Footo C. E., Love D. N., Gilkerson J. R., Wellington J. E., Whalley J. M. (2006). EHV-1 and EHV-4 infection in vaccinated mares and their foals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 111: 41-46.
- Gardiner D. W., Lunn D. P., Goehring L. S., Chiang Y., Cook C., Osterrieder N., McCue P., Del Piero F., Hussey S. B., Soboll Hussey G. (2012). Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion models: Viral loads in fetal and placental tissues and foals. *Vaccine*, 30: 6564-6572.
- Goehring L. S., Sloet van Odlruitenborgh-Oosterbaan M. M. (2001). The mystery of equine herpes myeloencephalopathy. *Equine Veterinary Education*, 13 (1): 36-42.
- Goodman L. B., Loregian A., Perkins G. A., Nugent J., Buckles E. L., Mercorelli B., Kydd J. H., Palu G., Smith K. C., Osterrieder N., Davis-Poynter N. (2007). A point mutation in a herpesvirus polymerase determines neuropathogenicity. *PLoS Pathogens*, 3 (11): e160.
- Gryspeerd A. C., Vandekerckhove A. P., Garre B., Barbe F., Van De Walle G. R., Nauwynck H. J. (2010). Differences in replication kinetics and cell tropism between neurovirulent and non-neurovirulent EHV1 strains during the acute phase of infection in horses. *Veterinary Microbiology*, 142: 242-253.
- Hebia-Fellah I., Léauté A., Fiéni F., Zientara S., Imbert-Marcille B-M., B. Besse, Fortier G., Pronost S., Miszczak F., Ferry B., Thorin C., Pellerin J-L., Bruyas J-F. (2009). Evaluation of the presence of equine viral herpesvirus 1 (EHV-1) and equine viral herpesvirus 4 (EHV-4) DNA in stallion semen using polymerase chain reaction (PCR). *Theriogenology*, 71: 1381-1389.
- Heldens J. G. M., Hannant D., Cullinane A. A., Prender Gast M. J., Mumford J. A., Nelly M., Kydd H. J., Weststrate M. W., van den Hoven R. (2001). Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV<sub>1,4</sub>). Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares. *Vaccine*, 19: 4307-4317.
- ICTV (augusti 2016). Virus Taxonomy: 2016 Release. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> [2018-02-25]
- Kydd J. H., Slater J., Osterrieder N., Lunn D. P., Antczak D. F., Azab W., Balasuriya U., Barnett C., Brosnahan M., Cook C., Damiani A., Elton D., Frampton A., Gilkerson J., Goehring L., Horohov D., Maxwell L., Minke J., Morley P., Naywynck H., Newton R., Perkins G., Pusterla N., Soboll-Hussey G., Traub-Dargatz J., Townsend H., Van de walle G. R., Wagner B. (2012). Third international Havemeyer workshop on equine herpesvirus type 1. *Equine Veterinary Journal*, 44: 513-517.
- Marshall K. R., Lachmann R. H., Efstathiou S., Rinaldi A., Preston C. M. (2000). Long-Term Transgene Expression in Mice Infected with a Herpes Simplex Virus Type 1 Mutant Severely Impaired for Immediate-Early Gene Expression. *Journal of Virology*, 74 (2): 956-964.
- Murray M. J., del Piero F., Jeffrey S. C., Davis M. S., Furr M. O., Dubovi E. J., Mayo J. A. (1998). Neonatal Equine Herpesvirus Type 1 Infection on a Thoroughbred Breeding Farm. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12: 36-41.
- Newcomb W. W., Brown J. C. (1994). Induced Extrusion of DNA from the Capsid of Herpes Simplex Virus Type 1. *Journal of Virology*, 68: 433-440.
- Neubauer A., Braun B., Brandmüller C., Kaaden O., Osterrieder N. (1997). Analysis of the Contributions of the Equine Herpesvirus 1 Glycoprotein gB Homolog to Virus Entry and Direct Cell-to-cell Spread. *Virology*, 227: 281-294.
- Ostlund E. N. (1993) The equine herpesviruses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 9 (2): 283-294.

- Paillot R., Case R., Ross J., Newton R., Nugent J. (2008). Equine Herpes Virus-1: Virus, Immunity and Vaccines. *The Open Science Journal*, 2: 68-91.
- Patel J. R., Heldens J. (2005). Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – epidemiology disease and immunoprophylaxis: A brief review. *The Veterinary Journal*, 170: 14-23.
- Perkins G., Ainsworthy D. M., Erb H. N., del Piero F., Miller M., Wilkins P. A., Palmer J., Frazer M. (1999). Clinical, haematological and biochemical findings in foals with neonatal Equine herpesvirus-1 infection compared with septic and premature foals. *Equine Veterinary Journal*, 31 (5): 422-426.
- Perkins G. A., Goodman L. B., Tsujimura K., Van De Walle G. R., Kim S. G., Dubovi E. J., Osterrieder N. (2009). Investigation of the prevalence of neurologic equine herpes virus type 1 (EHV-1) in a 23-year retrospective analysis (1984–2007). *Veterinary Microbiology*, 139: 375–378.
- Reed S. M., Toribio R. E. (2004). Equine herpesvirus 1 and 4. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 20: 631-642.
- Smith D. J., Iqbal J., Purewal A., Hamblin A. S., Edington N. (1998). In vitro reactivation of latent equid herpesvirus-1 from CD5/CD8 leukocytes indirectly by IL-2 or chorionic gonadotrophin. *Journal of General Virology*, 79: 2997-3004.
- Smith D. J., Hamblin A. S., Edington N. (2001). Infection of endothelial cells with Equine herpesvirus-1 (EHV-1) occurs where there is activation of putative adhesion molecules: a mechanism for transfer of virus. *Equine veterinary journal*, 33 (2): 138-142.
- Smith K. C., Whitwell K. E., Mumford J. A., Hannant D., Blunden A. S., Tearle J. P. (2000). Virulence of the V592 isolate of equid herpesvirus-1 in ponies. *Journal of Comparative Pathology*, 122: 288–297.
- Sodeik B., Ebersold M. W., Helenius A. (1997). Microtubule-mediated Transport of Incoming Herpes Simplex Virus 1 Capsids to the Nucleus. *The Journal of Cell Biology*, 136: 1007-1021.
- Stevens J. G. (1994). Overview of herpesvirus latency. *Virology*, 5: 191-196.
- Studdert M. J., Simpson T., Roizman B. (1981). Differentiation of respiratory and abortigenic isolates of equine herpesvirus 1 by restriction endonucleases. *Science*, 214: 562–564.
- SVA (2017-10-11). Virusabort (EHV-1) hos häst. <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/infektionssjukdomar-hast/virusabort-ehv-1-hast> [2018-02-08]
- Tearle J. P., Smith A. J., Platt D., Hannant N. J., Davis-Poynter, Mumford J. A. (2003). In vitro characterisation of high and low virulence isolates of equine herpesvirus-1 and 4. *Research in Veterinary Science*, 75: 83-86.
- Vandekerckhove A. P., Glorieux S., Gryspeerdt A. C., Steukers L., Duchateau L., Osterrieder N., Van De Walle G. R., Nauwynck H. J. (2010). Replication kinetics of neurovirulent versus non-neurovirulent equine herpesvirus type 1 strains in equine nasal mucosal explants. *Journal of General Virology*, 91: 2019–2028.
- van Maanen C. (2002). Equine herpesvirus 1 and 4 infections. *Veterinary Quarterly*, 24 (2): 57-78.
- Welch H. M., Bridges C. G., Lyon A. M., Griffiths L., Edington N. (1992). Latent herpesviruses 1 and 4: detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissues. *Journal of General Virology*, 73: 261-268.
- Whittaker G. R., Helenius A. (1998). Nuclear Import and Export of Viruses and Virus Genomes. *Virology*, 246: 1-23.

Wildy P., Russell W. C., Home R. W. (1960). The morphology of herpes virus. *Virology*, 12 (2): 204-222.