



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Ekvin influensa (H3N8) – en möjlig hundpatogen?

Anna Berg



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:46

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Ekvin influensa (H3N8) – en möjlig hundpatogen?

Equine influenza (H3N8) – a cause of disease in dogs?

Anna Berg

Handledare:

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sekt för virologi

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: Christine Westerback

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:46
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Influenzavirus, H3N8, häst, hund, receptortuttryck

Key words: Influenza virus, H3N8, horse, dog, receptor distribution

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	3
Ekvint influensavirus (EIV)	3
Historik.....	3
Klinisk sjukdomsbild.....	5
Patogenes.....	5
Canine influensavirus (CIV)	6
Upptäckt och utveckling i USA	6
Förekomst av CIV i Europa	6
Smittspridning mellan hundar	7
Klinisk sjukdomsbild.....	7
Influensavirus A	7
Subtyper	8
Viruspartikeln.....	8
Receptorspecificitet.....	9
Reassortment och antigen drift.....	9
Receptoruttryck	10
Diskussion	12
Referenslista	13

SAMMANFATTNING

Hästinfluensa, orsakat av ekvint influensavirus (EIV) förekommer över hela världen och är en vanlig respiratorisk sjukdom hos häst. Nyligen upptäcktes att EIV passerat djurslagsbarriären och orsakat sjukdom hos hund, vilket har lett till utvecklingen av canine influensavirus (CIV). Detta har sannolikt skett via direkt överföring utan föregående mutation av viruset. Flera faktorer spelar in i processen men den viktigaste tycks vara att häst och hund uttrycker samma typ av ytreceptorer i luftvägsepitelet (SA α 2,3Gal), vilket möjliggör för EIV att binda in till och infektera cellerna hos både häst och hund. Hundinfluensa anses idag vara endemisk i hundpopulationer i USA medan det i Europa och Australien ännu bara förekommit sporadiska utbrott. I Sverige har ännu inga fall med CIV påträffats.

SUMMARY

Equine influenza virus (EIV) is a commonly occurring virus, causing respiratory disease in horses world wide. Recently it has been seen to cause respiratory disease amongst dogs, leading to the development of a new pathogen called canine influenza virus (CIV). The transmission is thought to have been direct, with no previous reassortment of the virus. Several factors play a role in this process, and the most important is thought to be the fact that horses and dogs share the same type of sialic acid receptor (SA α 2,3Gal) in the epithelium of the respiratory tract. This makes it possible for EIV to bind and infect the epithelial cells in both horses and dogs. CIV is now thought to be endemic in USA whilst in Europe and Australia only sporadic outbreaks has been seen. In Sweden there are still no reports of CIV in dogs.

INLEDNING

Ekvin influensa är en betydelsefull sjukdom i hästpopulationer världen över och orsakas av influensavirus A. Symptomen utgörs av respiratorisk påverkan med feber, nosflöde, muskelvärk och hosta och vanligtvis ses även sekundära bakteriella luftvägsinfektioner. Morbiditeten är hög men mortaliteten är relativt låg (Dubovi & MacLachlan, 2011). Sjukdomsutbrott kan orsaka stora ekonomiska förluster (Timoney, 1996) och inte minst ett lidande för den drabbade individen.

I Sverige förekommer varje år ett antal fall med influensa, främst bland travhästar och det är nästan uteslutande ovaccinerade hästar som drabbas. Under 2011 sågs ett 20-tal positiva fall (Treiberg Berndtsson, L., SVA, pers. medd. 2012-03-02).

Ekvin influensa delas in i två typer; A/equine-1 H7N7 även kallad A1 och A/equine-2 H3N8 även kallad A2 (Timoney, 1996). 1963 gjordes det första isolatet av A/equine-2 (H3N8) (Wadell et al., 1963) och det är den här typen av hästinfluensa som vi idag ser cirkulera (Lai et al., 2001). H7N7 har däremot inte påträffats sedan slutet av sjuttioalet (Webster et al., 1992) och anses utdöd.

I början av 2000-talet upptäcktes en influensaliknande, respiratorisk sjukdom hos Greyhounds vid kapplöpningsbanor i USA. Detta startade spekulationer om ursprunget till smittan och väckte frågan om viruset kan komma att etableras i hundpopulationen. Studier har visat på en stark koppling till Ekvint influensavirus (EIV) av typen H3N8 och utveckling av en ny hundpatogen kallad Canine influensavirus (CIV) (Crawford et al., 2005).

Detta arbete inriktas på att redogöra för hur ett hopp över djurslagsbarriären varit möjlig, med fokus på receptoruppsättningens roll i processen. Frågan om CIV redan har, eller kan komma att etablera sig i hundpopulationen och hur uppkomst och spridning ser ut globalt tas också upp, samt möjligheten att EIV och CIV i sin tur skulle kunna smitta vidare till människa.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning har skett via PubMed, ProQuest och Scopus samt via artiklars referenslistor för att härleda till originalartiklar. Använda sökord har varit (equine influenza) AND canine OR dogs, (canine influenza) samt (sialic acid species) AND birds AND pigs OR swine. Även reviewartiklar och lärobok har lästs för att få en övergripande inblick i ämnet. Kontakt har också tagits med Louise Treiberg Berndtsson och Siamak Zohari på Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) för information som är opublicerad.

LITTERATURÖVERSIKT

Ekvint influensavirus (EIV)

Historik

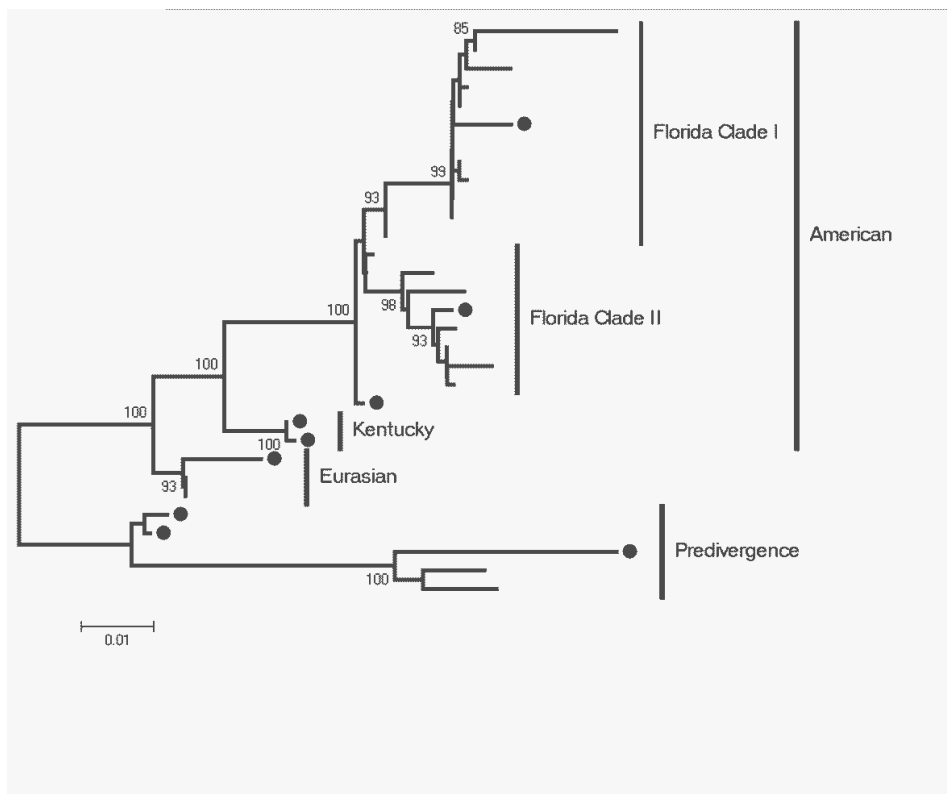
Ekvint influensavirus delas som tidigare nämnts in i två typer, A/equine-1 (H7N7) och A/equine-2 (H3N8). Det första isolatet av typ 1 influensa gjordes i Prag, Tjeckien (Waddell et al., 1963) och fick beteckningen A/equine/Prague/56 (Timoney, 1996). 1963 gjordes det första isolatet av typ 2 i Miami, USA. Denna linje betecknades A/equine/Miami/63 (Waddell

et al., 1963). A/equine-2 har sedan 1963 förändrats genom antigen drift och delas numera in i två linjer, en amerikansk och en europeisk (Timoney, 1996).

Den amerikanska linjen har i sin tur utvecklats vidare i tre grenar: en sydamerikansk gren bestående av de flesta av de argentinska isolaten, samt två nordamerikanska grenar, Kentucky och Florida. Denna uppdelning tycks inte ha skett för att de varit geografiskt isolerade, eftersom isolat från skilda linjer gjorts från samma plats. T ex isolerades A/Eq/Kentucky/97 och A/Eq/Kentucky/98 från samma område men en fylogenetisk analys visade att endast A/Eq/Kentucky/98 tillhörde Kentuckylinjen medan A/Eq/Kentucky/97 tillhörde Floridalinjen (Lai et al., 2001).

I Sverige har man sett att virus från både amerikanska och europeiska linjer har förekommit (Oxburgh & Klingeborn, 1999). Däremot verkar det mindre vanligt med virus från den europeiska linjen i USA och en dominans hos den amerikanska linjens tycks förekomma. Vad detta beror på är ännu oklart (Lai et al., 2001).

2007 sågs ett större utbrott av EIV i Sverige, med omkring 50 observerade fall. Då inga virus isolerades är det oklart vilken virusstam som orsakade infektionen. Under 2011 påträffades ett antal utbrott, bland annat i norra Sverige. De virus som isolerades i början av året visade sig tillhöra Florida clade-2 medan isolat från utbrott i slutet av året istället tillhör Florida clade-1 (se Figur 1) (Zohari, S., SVA, pers. medd. 2012-03-19).



Figur 1. Fylogenetiskt träd över EIV. De svarta prickarna representerar tillhörigheten hos svenska isolat (Zohari, S., SVA, 2012).

EIV hos svin

Under början av 2000-talet sågs utbrott av influensa bland grisar i Kina. Utöver de svininfluensavirus, aviära och humana virus som isolerades, isolerades även två H3N8-virus med ekvint ursprung: A/swine/Chibi/01/2005 och A/swine/Anhui/01/2006. Grisarna smittade med dessa virus visade symptom på respiratorisk sjukdom med nedsatt allmäntillstånd och hosta. Histopatologiskt sågs hemorragisk pleurit. Eftersom även *Streptococcus suis* serotyp 2 fanns hos dessa djur är det dock osäkert om dessa fynd är av betydelse (Tu et al., 2009).

Jämförande sekvensanalys visade att samtliga åtta gensegment hos A/swine/Chibi/01/2005 och A/swine/Anhui/01/2006 hade en nukleotidsekvens som till 99,4–99,9% stämde överrens. Dessa gensegment var närmast besläktade med tre typer av ekvin influensa H3N8 av den europeiska linjen, isolerade i början av 1990-talet. Analys av HA-genen bekräftade att isolat av dessa svininfluensavirus har ett närmare släktskap med de europeiska isolaten i början av 1990-talet än med amerikanska isolat och de virus som isolerades i Europa i början av 2000-talet (Tu et al., 2009).

Klinisk sjukdomsbild

Symptom vid infektion med ekvin influensa är hög feber (39,5-41 °C) som varar i fyra till fem dagar, inappetens, muskelvärk, rinnande ögon, seröst nosflöde och hosta. Hostan kan vara i upp till tre veckor och är kraftig och mycket torr (Dubovi & MacLachlan, 2011; Wadell et al., 1963). Inkubationstiden ligger mellan 24 till 48 timmar och utsöndring av virus pågår under denna period samt försätter under minst fem dagar från det att symptom visats. Smittspridningen är effektiv och sjukdom kan snabbt drabba stora djurgrupper. Överföring sker via aerosol och stora mängder viruspartiklar kan spridas långt då när djuren hostar. Indirekt överföring förekommer också via kontaminerad utrustning, stallinredning och personal. Mortaliteten är låg men om febern varar länge kan sjukdom leda till att dräktiga ston aborterar. Infektionen är vanligtvis självbegränsande och tillfriskning sker inom tre till fyra veckor (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Subklinisk sjukdom bland vaccinerade hästar är inte ovanligt och kan bero på ett dåligt immunsvaret på vaccinet eller att cirkulerande virusstam och vaccin inte överensstämmer. Sekundära bakterieinfektioner förekommer också och karaktäriseras av ett purulent näsflöde och bronkopneumoni.

Differentialdiagnoser är andra respiratoriska infektioner som ekvint herpesvirus, ekvint adenovirus, ekvint rhinitvirus samt bakteriella infektioner (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Patogenes

Virusreplikation sker i luftvägarnas epitelceller. Vid infektion förstörs de cilier som linjerar epitelet vilket leder till en inflammation med ökad produktion av exsudat och ökat nosflöde. Det är framförallt i de nedre luftvägarna som histologiska förändringar kan ses. Laryngit, trakeit, bronkit och bronkointerstitiell pneumoni som leder till lungkollaps och alveolarödem. Sekundär bakteriell sjukdom kan leda till konjunktivit, faryngit, bronkopneumoni och kronisk respiratorisk sjukdom (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Canine influensavirus (CIV)

Upptäckt och utveckling i USA

Canine influensavirus är en nyligen upptäckt patogen som orsakar respiratorisk sjukdom hos hund. Första isolatet gjordes i Florida år 2004 i samband med ett sjukdomsutbrott bland Greyhounds i anslutning till en kapplöpningsanläggning. Studien som gjordes i samband med utbrottet har visat på att virusets nukleotidsekvens till mer än 96 % stämmer överrens med nukleotidsekvensen hos EIV(H3N8). Detta tyder på att en direkt överföring har skett från häst till hund. Med det menas att ingen föregående blandning av olika virusstammar tycks ha skett (Crawford et al., 2005).

Retrospektiva serologiska studier har också visat på att viruset förekommit bland Greyhounds i USA redan 1999 (Anderson et al., 2012), men exakt när överföringen från häst till hund har skett är svårt att säga. Möjligheten att kontrollera förekomst tidigare än 1999 är liten då det är svårt att få tag i provmaterial och det går därför inte att utesluta att den initiala infektionen med H3N8 hos hund kan ha skett tidigare (Anderson et al., 2012).

Serologiska tester har visat att CIV också förekommer hos andra raser än Greyhounds. Bland annat sågs ett utbrott bland ett större antal djur i ett hundstall i Florida under våren 2005, samt på en veterinärklinik vid ungefär samma tid. I samband med dessa utbrott togs isolat från sju avlidna hundar och jämfördes med befintliga isolat av influensa H3N8 tagna från tävlande Greyhounds. Sekvensanalys visade att H3-genen hos båda virus till 98 % var identiska med tidigare isolat tagna från tävlande Greyhounds mellan 2004 och 2005 (Payungporn et al., 2008).

Histopatologisk undersökning visade trakeit och bronkit med nekroser och hyperplasi i yt- och körtelepitel samt infiltration med inflammationsceller. Hos tre av hundarna upptäcktes suppurativ bronkopneumoni vilken troligtvis var orsakad av bakterier. Blödningar kunde inte ses vare sig i thorax eller i lungor (Payungporn et al., 2008).

Förekomst av CIV i Europa

Även i Europa har koppling kunnat ses mellan EIV och respiratorisk sjukdom hos hund. En retrospektiv studie (Daly et al., 2008) har visat att ett utbrott bland English foxhounds i Storbritannien 2002 var orsakat av ekvint influensa virus A subtyp H3N8. 92 hundar omfattades, varav sju avled. Vävnadsprover tagna vid obduktion från dessa sju testades negativt för infektion med andra kända patogener så som canine herpesvirus, adenovirus etc. (Daly et al., 2008).

2005 togs serumprover från hundar som insjuknat vid utbrottet tre år tidigare för att undersöka eventuell förekomst av antikroppar. Prover från ytterligare tre hundgrupper i samma del av Storbritannien undersöktes också. Två olika virusstammar användes som kontroll: en ekvin H7N7-subtyp, A/equine/Prague/56 och en human stam, A/Puerto Rico/8/34. Inga prover innehöll antikroppar mot dessa. Däremot uppvisades antikroppar mot två H3N8-subtyper, A/equine/Newmarket/1/93 och A/equine/Newmarket/2/93 hos nio av proverna från gruppen i det första utbrottet. Åtta av dessa var djur som insjuknat och överlevt infektionen 2002. Det nionde provet kom från en hund som inte var född vid detta tillfälle och dessutom kom från

en annan del av Storbritannien. Av detta drogs slutsatsen att utbrott kunde ha skett även i andra delar av landet (Daly et al., 2008).

Hundarna hade vistats i närheten av hästar och möjligheten finns att smitta överförts naturligt via aerosol. Eftersom hundarna också utfodrats med kött från avlivade hästar kan det inte uteslutas att smittöverföring skett denna väg (Daly et al., 2008).

I Sverige har ännu ingen koppling mellan CIV och respiratorisk sjukdom hos hund setts (L. Treiberg Berndtsson, SVA, pers. medd. 2012-03-02), men detta har inte heller studerats ingående.

Smittspridning mellan hundar

Jirjis et al. (2010) har undersökt möjligheten för smittspridning av CIV via direktkontakt. I försöket användes tolv tidigare CIV-negativa hundar. Fyra av dessa infekterades med A/Canine/Florida/14/2006 och placerades därefter i ett rum tillsammans med de åtta icke-infekterade hundarna. Djuren observerades dagligen för tecken på respiratorisk sjukdom. Båda grupper uppvisade liknande symptom och utsöndrade viruspartiklar via nosflödet. Resultaten visar att CIV troligen kan spridas mellan hundar via direktkontakt.

Klinisk sjukdomsbild

De symptom som har setts i samband med utbrott med CIV kan delas in i två olika grupper. Den ena ger en mindre allvarlig, och övergående sjukdom med feber och efterföljande hosta i upp till 30 dagar och det tycks vara den vanligaste sjukdomsbilden. Den andra varianten ger en dödlig, per akut sjukdom, kopplad till kraftiga blödningar i lungor, mediastinum och brösthåla (Crawford et al., 2005).

Vid experimentell infektion sågs symptom i form av ögon- och nosflöde, nysningar och hosta. Histologisk undersökning visade en utbredd hepatisering i lungorna (Jirjis et al., 2010).

Symptomen vid CIV är lika de som uppvisas vid annan respiratorisk sjukdom, exempelvis vid kennelhosta och det kan vara svårt att skilja dessa åt. En skillnad kan ses i omfattningen av utbrott då omkring hälften av djuren i flocken drabbas vid influensautbrott jämfört med cirka 10% vid kennelhosta (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Influensavirus A

Influensa-A är den patogen vi främst ser hos våra tamdjur medan typ B och C huvudsakligen associeras med humana utbrott. Influensa-A drabbar flera olika djurslag inklusive människa och sporadiska utbrott med smittspridning över djurslagsbarriärer har påträffats. Exempel på infektion över djurslagsbarriären är bland annat spanska sjukan 1918, vilken orsakades av ett svininfluensavirus eller ett fågelinfluensavirus (detta är dock inte helt klarlagt). Utbrott med aviär influensa bland människor i början av 2000-talet är också ett exempel på detta, det är dock ovanligt med direkt överföring mellan djurslag (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Naturlig reservoar för influensa av typ A är vilda sjöfåglar (Daly et al., 2008; Dubovi & MacLachlan, 2011; Webster et al., 1992) vilka inte utvecklar symptom på sjukdom men utsöndrar stora mängder viruspartiklar i faeces. Detta gör smittspridningen effektiv eftersom

stora mängder virus ackumuleras i vattnet och tas upp då fåglarna dricker. Även global spridning kan ske med hjälp av flyttfåglar som kan befinna sig på olika kontinenter under vinter- och sommartid (Dubovi & MacLachlan, 2011).

Influenzavirus tillhör familjen *Orthomyxoviridae* och är ett enkelsträngat, negativt RNA-virus. Tre undergrupper (genus) finns, betecknade A, B och C (Dubovi & MacLachlan, 2011; Webster et al., 1992). Indelningen är gjord utifrån antigena skillnader i två av virusets proteinantigen, dess nukleoprotein (NP) och matrixprotein (M1) (Webster et al., 1992).

Subtyper

Influenza A delas även in i olika serotyper eller subtyper. Det finns idag 16 kända HA-subtyper (H1, H2 etc.) samt nio NA-subtyper (N1, N2 etc.) (Dubovi & MacLachlan, 2011) och dessa förekommer i olika kombinationer. Exempel på detta är H1N1 (svininfluensan), H5N1 (fågelinfluensan) och H3N2 (säsongsinfluensan).

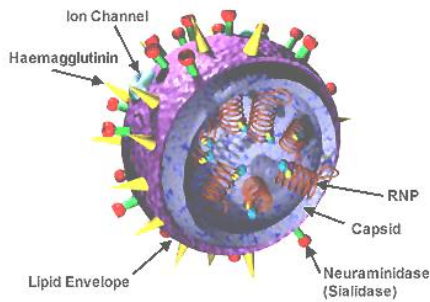
Eventuellt förekommer även ytterligare en HA-typ (H17) hos fladdermöss (opublicerade uppgifter), men ytterligare serologiska studier krävs för att kunna säkerställa att det rör sig om en ny HA-typ.

Olika subtyper återfinns hos olika djurslag. Fågel är det djurslag som har bredast specificitet och där alla HA-subtyper och NA-subtyper finns representerade. Hos häst förekommer H3N8 och H7N7 men som tidigare nämnt tycks enbart H3N8 cirkulera idag. Hos gris finns H1 och H3 representerade i kombination med olika N och hos människor har man funnit H1, H2 och H3 (Webster et al., 1992) tillsammans med N1 och N2. Hos hundar har tidigare sporadiska utbrott noterats, med bland annat influensa av aviärt ursprung. Den typ som tycks ha etablerat sig i hundpopulationer i USA är av typen H3 med ekvint ursprung.

Viruspartikeln

Viruspartikeln (se figur 2) är liten och höljeklädd med ett dubbelt lipidlager härrörande från värdscellens membran. I höljet sitter virusets glykoproteiner: hemagglutinin (HA) och neuraminidas (NA). Höljet linjeras av matrixprotein. Centralt i partikeln ligger virusets genom indelat i åtta enkelsträngade RNA-segment vilket hålls samman av ett nukleoproteinhölje (nukleokapsid). För att viruspartikeln ska vara infektiös krävs att den innehåller alla segment. I ändarna av nukleokapsiden sitter komplex med tre virala polymerasprotein, PB1, PB2 och PA (Dubovi & MacLachlan, 2011).

NA tycks till skillnad från HA inte vara jämt fördelad över virusytan och dess utbredning är inte klarlagd. Den är dock viktig för spridningen av viruset och dess funktion är att genom klyvning av sialinsyra från glykoproteiner eller glykolipider få viruspartikeln att släppa från receptorerna i värdcellen (Webster et al., 1992).



Figur 2. Illustration av influensaviruspartikeln
(http://www2.uwrf.edu/caseit/ps/3D_virus_influenza.png).

Virusreplikation sker i värdcellens kärna och för att möjliggöra detta måste viruset ta sig in i cellen. Detta sker genom att virusets HA-del känner igen och binder till ytreceptorer på värdcellen (Dubovi & MacLachlan, 2011). Dessa receptorer är uppbyggda av bland annat sialinsyra (SA) bundet till galaktos (Gal). Det är kopplingen mellan SA och Gal som HA känner igen och viruspartikeln kan på så vis fästa till och infektera cellen. Dessa kopplingar kan vara olika och ger då en skillnad i receptoruttryck, exempel på detta är SA α 2,6Gal β -1,4-*N*-acetylglukosamin (SA α 2,6Gal) och SA α 2,3Gal β -1,3-*N*-acetylgalaktosamin (SA α 2,3Gal) (Connor et al., 1994; Rogers & Paulson, 1983). Receptoruppsättningen i epitelcellerna tycks variera mellan djurslag (Suzuki et al., 2000) vilket har setts vid jämförande studier. Ett par sådana studier tas upp senare i uppsatsen.

Receptorspecificitet

Även influensavirusets receptorspecificitet varierar, beroende på vilket ursprung viruset har (Connor et al., 1994) och utifrån vilka ytreceptorer värdjurets epitelceller uttrycker. Olika virusstammar har olika preferenser för dessa ytreceptorer (Suzuki et al., 2000). Humana stammar av H3 virus tycks främst binda till SA α 2,6Gal och detsamma gäller isolat från svin (Rogers & Paulson, 1983). Aviära och ekvina H3-virus tycks istället föredra receptorer med SA α 2,3Gal (Connor et al., 1994; Rogers & Paulson, 1983). Bakomliggande orsak till att receptorspecificitet varierar mellan H3-virus hos olika djurslag tros ligga i en skillnad i vilken aminosyra som finns i position 226, lokaliserad i den receptorbindande delen av HA (Tu et al., 2009). Hos de virus som föredrar SA α 2,6Gal återfinns här leucin medan de virus som känner igen SA α 2,3Gal istället har glutamin på position 226 (Tu et al., 2009).

Vissa virusstammar binder enbart till en receptortyp medan andra kan känna igen och binda till båda om än med viss preferens för ena typen. Detta undersöktes av Rogers och Paulson (1983) genom analys av neuraminidasaktiviteten ("viral-associerad") hos tre virusstammar: A/Aichi/2/68 (human H3), A/duck/Ukraine/1/63 (aviär H3) och A/PR/8/34 (human H1). Resultaten bekräftade slutsatsen och visade att A/Aichi/2/68 enbart binder till SA α 2,6Gal medan A/duck/Ukraine/1/63 istället binder till SA α 2,3Gal. A/PR/8/34 visade sig binda till båda typer av receptorer.

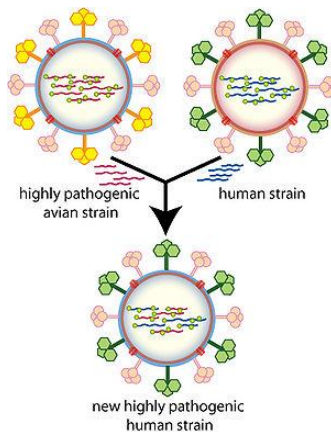
Reassortment och antigen drift

Influensavirusets möjlighet till mutation är en av dess viktigaste egenskaper för att skapa variation och driva utvecklingen vidare. Att det har lätt att mutera beror på RNA-

polymerasets avsaknad av korrigerande av fel, så kallad ”proof reading” under virusreplikationen och att det därför lätt kan bli förändringar i genomet (Webster et al., 1992).

Det finns olika sätt för viruset att mutera, dels genom överföring av hela gensegment (reassortment) och dels genom punktmutationer (antigen drift) (Webster et al., 1992). De vanligaste punktmutationerna sker via substitution av nukleotider medan deletioner och insertioner förekommer mer sällan.

Reassortment (omarrangering) kan ske hos segmenterade virus och innebär att gensegment från två eller fler virus byter plats med varandra (se figur 3). Normalt sett kan det ske mellan virus i nära släktskap med varandra och det är en viktig process i utvecklingen av nya humana pandemiska influensa-A virus. Reassortment kan leda till genetisk variation, förändringar i virulens, utveckling av nya virus samt möjliggöra för virus att etableras i ett annat djurslag (Quinn et al., 2002).



Figur 3. Reassortment eller ”genetic shift” (http://www2.uwrf.edu/caseit/ps/300px-Influenza_geneticshift.jpg).

Receptoruttryck

Häst och hund

Suzuki et al. (2000) har undersökt förekomst av SA α 2,6Gal och SA α 2,3Gal i trakeala epitelceller hos häst genom att använda SA-Gal-specifika lektiner. Lektin specifikt för SA α 2,6Gal gav ingen effekt men reaktion kunde ses hos svin vilken fungerade som positiv kontroll. Vid användning av lektin specifikt för SA α 2,3Gal kunde däremot reaktion ses i epitelcellerna hos båda djurslagen. Slutsatsen drogs att liten förekomst eller avsaknad av en viss SA i epitelcellerna kan utgöra en barriär mellan djurslag och förhindra överföring av ett specifikt influensavirus.

Muranaka et al. (2011) gjorde en jämförelse i utbredning av ytreceptorer i trakea hos häst och hund. Tio hästar och fem hundar användes i studien. SA α 2,3Gal fanns uttryckt på ytan av epitelet i övre luftvägarna hos båda djurslag. Däremot sågs en skillnad i bronkiolerna där SA α 2,3Gal fanns uttryckt hos hund medan häst saknade både SA α 2,3Gal och SA α 2,6Gal. På cilierna i övre luftvägarna hos häst sågs enbart uttryck av SA α 2,6Gal vilket inte sågs hos hund. I bägarcellerna hos häst fanns båda typer representerade medan hund enbart uttryckte SA α 2,6Gal. Tidigare studier har enbart visat uttryck av SA α 2,3Gal hos både hund och häst,

något som kan bero på att enbart delar av luftvägarna undersökts eller att varken bägarceller eller accessoriska körtlar kontrollerats. Resultaten tyder på att EIV har möjlighet att fästa till och ta sig in i epitelcellerna även hos hund och att det finns en möjlighet för direkt överföring mellan häst och hund.

Rapporter har visat på överföring med EIV från experimentellt infekterade hundar (Jirjis et al., 2010) och även naturligt till hundar i nära kontakt med hästar vid sjukdomsutbrott i Australien (Kirkland et al., 2010). Utifrån från dessa studier och vetenskapen att receptoruppsättningen i princip är densamma, drogs slutsatsen att hundar kan vara mottagliga för EIV utan att en föregående förändring i receptorspecificiteten hos viruset behöver ske (Muranaka et al., 2011).

Ytterligare en studie, gjord i Storbritannien har via vävnadsfärgning och histologisk undersökning av trakeala epitelceller hos hund och häst bekräftat att dessa har liknande ytreceptorer (Daly et al., 2008). Även här drogs slutsatsen att receptorspecificiteten har betydelse i överföringen av influensavirus mellan olika djurslag.

Fågel

Hos fåglar ses främst uttryck med SA α 2,3Gal i tarmepitelet, vilket är den huvudsakliga platsen för virusreplikation för aviära influensavirus (Suzuki et al., 2000). Häst och fågel uttrycker samma typ av receptorer men på olika ställen i kroppen vilket borde innebära en minimal risk för infektion av hästinfluensa hos fågel, eftersom EIV sprids via andningsvägarna och replikering sker i luftvägsepitelet.

Människa

Hos människa uttrycks främst SA α 2,6Gal i luftvägsepitelet (Connor et al., 1994; Suzuki et al., 2000). Då HA hos EIV H3N8 tycks föredra receptorer av typ SA α 2,3Gal (Connor et al., 1994; Rogers & Paulson, 1983) är det tveksamt om en direkt överföring av hästinfluensa till människa är möjlig.

Svin

Grisar uttrycker både SA α 2,6Gal-receptorer och SA α 2,3Gal-receptorer i luftvägarna (Suzuki et al., 2000) med skillnaden att SA α 2,6Gal tycks finnas i stor mängd utspridda i alla delar av respirationssystemet medan SA α 2,3Gal enbart återfinns i epitelet i bronkiolerna och alveolerna (Trebien et al., 2011). Det här innebär att grisar uttrycker samma typ av receptor som människa likväl som den typ som återfinns hos exempelvis fåglar, vilket gör att man brukar se dessa som en slags mellanvärd. Influensa med olika receptorspecificitet kan binda in till epitelcellerna och orsaka en samtidig infektion och på så vis göra det möjligt att via reassortment utveckla nya virus med ett vidgat värdspektra.

Olika typer av sialinsyra (SA)

Det finns olika typer av SA. N-acetyl och N-glykolyllgrupper bildar N-acetylneuraminsyra (NeuAc) och N-glykolyllneuraminsyra (NeuGc). En skillnad i influensavirusets specificitet tycks finnas även för dessa. Hur stor betydelse detta har för värdjursspecificiteten är ännu oklart.

Vilken typ av SA som förekommer varierar mellan djurslag men också mellan olika organ. Till exempel är NeuGc den typ som dominerar i erythrocyter hos häst. Eftersom man inte vetat vilken typ som främst finns i trakeala epitelceller undersökte Suzuki et al. (2000) förekomsten av NeuAc relaterat till NeuGc i dessa celler hos häst. Resultaten visade att den dominerande typen i trakeala epitelceller är NeuGc α 2,3Gal.

EIV har tidigare visat en preferens för NeuGc α 2,3Gal i trakeala epitelceller medan human influensa istället är specifikt för NeuAc α 2,6Gal. Eftersom man ännu inte sett någon smittöverföring mellan häst och människa drogs slutsatsen att det troligtvis inte bara är bindningen mellan SA-Gal som har betydelse för djurslagsspecificitet hos viruset utan även vilken typ av SA som förekommer. För att testa denna slutsats gjordes också en undersökning av receptorspecificiteten hos både EIV och human influensa. Resultaten visade att human influensa känner igen NeuAc α 2,6Gal medan EIV föredrog NeuAc α 2,3Gal över NeuAc α 2,6Gal. Av detta drogs slutsatsen att specificiteten mellan HA och SA är en avgörande faktor i barriären mellan häst och människa (Suzuki et al., 2000).

DISKUSSION

Det finns många faktorer som har betydelse för influensavirusets möjlighet att korsa djurslagsbarriärer och etableras hos ett nytt värdjur. I den här uppsatsen har fokus legat på att utreda ytreceptoruppsättningens roll i denna process.

Sammanställning av ovanstående presenterade studier (Daly et al., 2008; Muranaka et al., 2011; Suzuki et al., 2000) visar på att hund och häst uttrycker samma typ av receptor (SA α 2,3Gal) i luftvägsepitelet medan människa uppvisar en annan typ (SA α 2,6Gal). Detta är troligtvis en viktig faktor i barriären mellan djurslagen och en del i att EIV ännu inte setts hos människa.

En annan faktor tycks vara egenskaper hos viruset (HA och NA) som specificerar vilka ytreceptorer hos värdcellerna som viruset föredrar. Generellt tycks H3-virus vara specifika för enbart en typ av receptor medan exempelvis vissa H1-virus har möjlighet att binda in till båda typer. EIV har visat en preferens för de ytreceptorer som finns i luftvägarna hos häst och hund, både utifrån SA-Gal bindning och utifrån vilken typ av SA som förekommer (Suzuki et al., 2000). Human influensa är istället specifikt för den typ av SA som finns i ytepitelcellerna hos människa. Detta tyder på en koppling mellan virusets ursprung och de djurslag det orsakar sjukdom hos.

Influensavirus förmåga att mutera är ytterligare en viktig faktor (Webster et al., 1992). Via reassortment kan nya virus uppstå och ge en möjlighet för passage över djurslagsbarriärer. Det intressanta med uppkomsten av CIV är att ingen mutation tycks ha skett, utan en direkt överföring av viruset har sannolikt skett från häst till hund. När den initiala överföringen har skett är dock svårt att säga. Eftersom symptomen vid CIV liknar de vid annan luftvägssjukdom (Dubovi & MacLachlan, 2011) kan det vara möjligt att eventuella tidigare fall av hundinfluensa har förväxlats med exempelvis kennelhosta och på så vis inte upptäckts. För att reda ut detta skulle fler retrospektiva studier behövas, vilket förutsätter att tillräckligt med provmaterial finns bevarat.

Att receptoruppsättningen är densamma hos djurslagen är troligtvis en av de viktigaste faktorerna i överföringen från häst till hund och av den anledningen känns inte en direkt överföring från EIV till människa särskilt trolig. Däremot kan man fundera över betydelsen av upptäckten att EIV även smittat svin. Eftersom dessa uttrycker samma typ av receptor som människor, borde möjligheten finnas för viruset att via mutationer utvecklas vidare och skapa nya subtyper som skulle kunna infektera även människor. Av samma anledning kan man tycka att risken för överföring av CIV från hund till människa är relativt liten. Att vi generellt håller våra hundar i hemmet och på så vis har en mer nära kontakt med dem än med våra hästar skulle möjligtvis kunna öka risken något.

Separata utbrott av CIV har observerats i USA, Europa och Australien. Av detta att döma är denna utveckling inte en engångsföreteelse. Jirjis et al. (2010) har visat att CIV kan smitta mellan hundar via direktkontakt. Då upprepade utbrott setts i USA hos både kapplöpningshundar och sällskapshundar, är det troligt att sjukdomen nu är endemisk i hundpopulationen.

I övriga länder tycks inte smittan ha etablerats på samma sätt och en anledning skulle kunna vara att initial infektion skett tidigare i USA och att CIV förekommit där under en längre tid än i Europa. Därför är det viktigt med fortsatt övervakning av virusets utveckling.

Av de hundar som drabbats är de flesta antingen hårt tränade kapplöpningshundar eller arbetande hundar som hålls i stora grupper. Detta tyder på att inte bara "rätt" receptorspecificitet och receptoruppsättning krävs, utan att också en påverkan på immunförsvaret hos det nya djurslaget har betydelse för att viruset ska ha möjlighet att infektera och etablera sig hos en ny värd. Inhysningssätt verkar också vara en faktor där gruppållning innebär en ökad direktkontakt mellan individer och ett större smittryck än då djuren hålls individuellt eller med ett fåtal hundar tillsammans.

Utifrån dessa slutsatser kan det vara lämpligt att inte hålla hundar i närheten av sjuka hästar och kanske också tänka på att ha dem i mindre grupper för att minska risken för infektion och etablering av nya virus.

Vid de första utbrotten av CIV i USA hade de flesta drabbade hundarna varit i kontakt med stallar eller kapplöpningsbanor där hästar infekterade med EIV vistats. Att vi ännu inte sett några fall av CIV i Sverige (Treiberg Berndtsson, L., SVA, pers. medd., 2012-03-02) skulle bland annat kunna bero på att hundkapplöpningar inte är lika utbredd här som i USA och England, vilket innebär att den initiala infektionsvägen mellan häst och hund hindras. Det kan det ändå vara lämpligt att som hundägare iaktta försiktighet i eller kring stall med misstänkt eller konstaterad smitta med EIV och inte låta hunden komma i kontakt med sjuka hästar. Framförallt när det gäller valpar, äldre och immunosupprimerade djur. Detta för att ytterligare minska risken för uppkomst av CIV även i Sverige.

REFERENSLISTA

Anderson, T.C., Bromfield, C.R., Crawford, P.C., Dodds, W.J., Gibbs, E.P.J., Hernandez, J.A., 2012. Serological evidence of H3N8 canine influenza-like virus circulation in USA dogs prior to 2004. *The Veterinary Journal*. 191, 312–316.

- Connor, R.J., Kawaoka, Y., Webster, R.G., Paulson, J.C., 1994. Receptor Specificity in Human, Avian, and Equine H2 and H3 Influenza Virus Isolates. *Virology* 205, 17–23.
- Crawford, P.C., Dubovi, E.J., Castleman, W.L., Stephenson, I., Gibbs, E.P.J., Chen, L., Smith, C., Hill, R.C., Ferro, P., Pompey, J., Bright, R.A., Medina, M.-J., Johnson, C.M., Olsen, C.W., Cox, N.J., Klimov, A.I., Katz, J.M., Donis, R.O., 2005. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science* 310, 482–485.
- Daly, J.M., Blunden, A.S., MacRae, S., Miller, J., Bowman, S.J., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Smith, K.C., 2008. Transmission of Equine Influenza Virus to English Foxhounds. *Emerging Infectious Diseases* 14, 461–464.
- Daly, J.M., Lai, A.C.K., Binns, M.M., Chambers, T.M., Barrandeguy, M., Mumford, J.A., 1996. Antigenic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses. *Journal of General Virology* 77, 661–671.
- Dubovi, E.J., MacLachlan, N. J. (2011). *Fenner's veterinary virology*. 4 ed. London. Academic Press Inc. Sid. 353-369.
- Jirjis, F.F., Deshpande, M.S., Tubbs, A.L., Jayappa, H., Lakshmanan, N., Wasmoen, T.L., 2010. Transmission of canine influenza virus (H3N8) among susceptible dogs. *Veterinary Microbiology* 144, 303–309.
- Kirkland, P.D., Finlaison, D.S., Crispe, E., Hurt, A.C., 2010. Influenza virus transmission from horses to dogs, Australia. *Emerging Infectious Diseases* 16, 699–702.
- Lai, A.C.K., Chambers, T.M., Holland Jr., R.E., Morley, P.S., Haines, D.M., Townsend, H.G.G., Barrandeguy, M., 2001. Diverged evolution of recent equine-2 influenza (H3N8) viruses in the Western Hemisphere. *Archives of Virology* 146, 1063–1074.
- Muranaka, M., Yamanaka, T., Katayama, Y., Hidari, K., Kanazawa, H., Suzuki, T., Oku, K., Oyamada, T., 2011. Distribution of influenza virus sialoreceptors on upper and lower respiratory tract in horses and dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 73, 125–127.
- Oxburgh, L., Klingeborn, B., 1999. Cocirculation of Two Distinct Lineages of Equine Influenza Virus Subtype H3N8. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 3005–3009.
- Payungporn, S., Crawford, P.C., Kouo, T.S., Chen, L., Pompey, J., Castleman, W.L., Dubovi, E.J., Katz, J.M., Donis, R.O., 2008. Influenza A Virus (H3N8) in Dogs with Respiratory Disease, Florida. *Emerging Infectious Diseases* 14, 902–908.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J., Leonard, F. C. (2009). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 9 ed. Oxford. Blackwell Science Ltd. Sid. 290-291.
- Rogers, G.N.G., Paulson, J.C.J., 1983. Receptor Determinants of Human and Animal Influenza Virus Isolates: Differences in Receptor Specificity of the H3 Hemagglutinin Based on Species of Origin. *Virology* 127, 361–373.
- Suzuki, Y., Ito, T., Suzuki, T., Holland, R.J., Chambers, T.M., Kiso, M., Ishida, H., Kawaoka, Y., 2000. Sialic Acid Species as a Determinant of the Host Range of Influenza A Viruses. *Journal of Virology* 74, 11825–11831.
- Timoney, P.J., 1996. Equine Influenza. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 19, 205–211.
- Trebbien, R.R., Larsen, L.E.L., Viuff, B.M.B., 2011. Distribution of Sialic Acid Receptors and Influenza A Virus of Avian and Swine Origin in Experimentally Infected Pigs. *Virology journal* 8, 434.
- Tu, J., Zhou, H., Jiang, T., Li, C., Zhang, A., Guo, X., Zou, W., Chen, H., Jin, M., 2009. Isolation and Molecular Characterization of Equine H3N8 Influenza Viruses from Pigs in China. *Archives of Virology* 154, 887–890.

- Waddel, G.H.G., Teigland, M.B.M., Sigel, M.M.M., 1963. A New Influenza Virus Associated with Equine Respiratory Disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 143, 587–590.
- Webster, R.G.R., Bean, W.J.W., Gorman, O.T.O., Chambers, T.M.T., Kawaoka, Y.Y., 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological reviews* 56, 152–179.