



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Hendravirusets epidemiologi och framtida spridning av viruset

Alice Mannewald



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 40

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Hendravirusets epidemiologi och framtida spridning av viruset

The Hendra virus epidemiology and the future spread of the virus

Alice Mannewald

Handledare:

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2013

Omslagsbild: A. Seebens och F. Gloza-Rausch

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 40
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Hendra virus, infästning och inträde, reservoar, utbrott, spridning, vaccnutveckling

Key words: Hendra virus, attachment and entry, reservoir, outbreaks, spread, vaccine development

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning.....	1
Summary.....	2
Material och metoder	4
Litteraturoversikt	4
Historia.....	4
Henipavirusets Egenskaper.....	4
<i>Infästning och inträde i cellen</i>	5
Henipavirus höga mortalitet.....	6
Spridningsvägar.....	6
Geografisk utbredning	7
Årstidsbundna utbrott?	8
Fladdermöss	8
<i>Förändrat livsmönster hos reservoaren</i>	9
Experimentella infektioner	11
<i>Häst</i>	11
<i>Mus</i>	11
Vaccinutveckling.....	13
Diskussion.....	14
Litteraturförteckning.....	16

SAMMANFATTNING

Hendravirus är ett zoonotiskt virus som finns i Australien. Dess naturliga reservoar är fladdermöss. Fladdermössen kan föra över smitta till hästar och från hästar har man sett smittspridning till människor. Smittspridning från fladdermöss direkt till människa har inte observerats. Viruset upptäcktes första gången 1994. Det tillhör genus *Henipavirus* i familjen *Paramyxoviridae*. Det har hög mortalitet och de flesta utbrott av viruset har förekommit under den torra årstiden. Förändrat livsmönster hos reservoaren har kunnat observeras och kommer antagligen att kunna leda till fler utbrott. Vid experimentella infektioner så har man kunnat se att äldre möss är mer mottagliga för viruset än yngre och i hästar kunde man se olika sjukdomsförlopp, men alla individer hade symptom i form av förhöjd kroppstemperatur och vilopuls. Nyligen har man gjort framsteg gällande vaccinutveckling mot viruset. Man har hittat ett vaccin som verkar mot det närbesläktade Nipah virus, men det har även gett skydd i hälften av fallen mot Hendra virus. Vi kan konstatera att man fortfarande vet relativt lite om Hendra virus och för att förhindra utbrott och vidare smittspridning behöver man mer kunskap. Att viruset gynnas av den torra årsperioden är ett faktum och detta kan leda till ökad globalutbredning i takt med klimatförändringar.

SUMMARY

A zoonotic bat-borne virus is the Hendra virus, which exists in Australia. Fruit bats may spillover virus to horses and infect these. There have been cases where humans have been infected after contact with infected horses. No spillovers from bat to human have been reported. The virus was first discovered in 1994 and belongs to the genus *Henipavirus* within the family of *Paramyxoviridae*. It has a high mortality rate. Most outbreaks have been observed during the dry season of the year. Recently it has been more common with urban habitation among the fruit bats and this may lead to more spillover of infectious agents. Experimental infection with Hendra virus has been done in mice and horses and it was observed that older mice were more susceptible to infection than juvenile mice. In horses the infection led to different symptoms, but all had a raised body temperature and heartbeat. Recently there has been success in the development of potential vaccines. A vaccine against the closely related Nipah virus has been developed and in 50% of the cases this vaccine was shown to work against Hendra virus likewise. However we still have a lot to learn about the Hendra virus, to prevent further outbreaks and global spread. There are signs that the Hendra virus take advantage of the dry season and that may lead to global spread due to climate changes.

INLEDNING

Hendra virus är ett relativt nyupptäckt virus, det första registrerade utbrottet uppkom 1994 i Hendra, förort till Brisbane i Australien. Utbrottet orsakade svår sjukdom hos hästar med bland annat respiratoriska symptom. Under detta utbrott dog 13 av 20 hästar och två människor hade också drabbats av sjukdomen, varav en dog. Detta var den första rapporten av en respiratorisk virusinfektion med zoonospotential som förs från häst till människa (Marsh & Wang, 2012). Vad är det som gör viruset så farligt? Är det något i spridningsvägen som orsakar detta? Hur ser virusets epidemiologi ut och hur kan detta komma att påverka framtida spridning?

I denna litteraturstudie undersöks det hur spridningen av viruset ser ut både när det tar sig in i värdjuret och mer övergripande om spridningen mellan arter och globalt. Även huruvida det finns någon form av verksamt vaccin tillgängligt kommer att behandlas.

MATERIAL OCH METODER

Under litteraturstudien har databaserna PubMed och Web of Knowledge använts. Då Hendra virus är ett relativt nyupptäckt virus var det ganska enkelt att avgränsa antalet relevanta artiklar. Sökord som användes var sådana såsom "hendra*" AND "epidemiology", men även "vaccine" användes bland annat. Detta gav de flesta av de relevanta artiklarna där de bästa original artiklarna sällades ut och review-artiklar endast användes för generell orientering av ämnet. Efter relativt kort tid hittades en hel del artiklar inom området som var intressanta.

LITTERATURÖVERSIKT

Historia

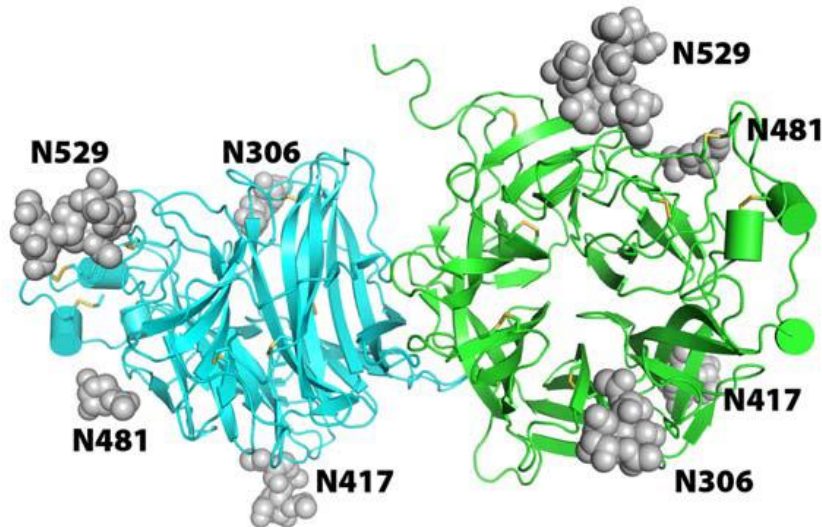
Under ett utbrott i Australien år 1994, i ett stall med fullblodshästar, av akut respiratoriskt syndrom, kom det fladdermusburna Hendra virus att beskrivas. Sjukdomen karakteriserades av sina svåra respiratoriska symptom och höga dödlighet (Field et al., 2011). Den naturliga reservoaren för viruset är fruktätande fladdermöss eller så kallade flygande hundar av genus *Pteropus*. (Field et al., 2007). Det finns fyra olika arter av fruktätande fladdermöss som kan sprida Hendra virus (Wood et al., 2012). Dessa är *Pteropus Alecto*, *Pteropus Scapulatus*, *Pteropus Conspicilatus* och *Pteropus Poliocephalus* (McFarlane et al., 2011).

Hästar har visat sig vara tillfälliga värdar av viruset efter att de kommit i kontakt med fruktätande fladdermöss. Från hästar har man därefter observerat smittspridning av viruset till människor (Center for Food Security and Public Health, 2009). Namnet Hendra virus kom efter utbrottsplatsen och benämndes först som equint morbillivirus. Vid detta utbrott infekterades 20 hästar och även två människor. En av människorna och 13 av hästarna dog (Field et al., 2007). Efter detta fram till september år 2012 har ytterligare 38 utbrott bekräftats, utmed mellersta till nordöstra Australiens kust. (Xu et al., 2012) Ytterligare fem människor har blivit infekterade varav tre har dött. Ett stort antal hästar har blivit infekterade och hos dem har en hög mortalitet rått. Däremot finns det inga epidemiologiska bevis som stödjer att viruset skulle kunna smitta från fladdermus till människa, utan endast från häst till människa (Marsh & Wang, 2012).

Henipavirusets egenskaper

Hendra virus tillhör familjen *Paramyxoviridae* (Field et al., 2007). Hendra virus är ett enkelsträngat negativt RNA-virus, klassificerat inom genus *Henipavirus*, där även Nipah virus ingår (Marsh & Wang 2012). Nyligen har man isolerat och karakteriserat ett nytt virus som man vill klassificera inom genus *Henipavirus*. Detta är Cedar virus och har signifikanta likheter med Henipavirus. (Marsh et al., 2012) Henipavirusens genom har en uppskattad längd på 18,2 kb och de innehåller sex transkriptionella enheter, som kodar för nio proteiner (Marsh & Wang, 2012). Cedar virus genom är ungefär lika långt som Hendra och Nipah virus och organisationen är nästan identisk. De använder samma receptormolekyl för inträde vid

infektion. Cedar virus har liknande prevalens i flygande hundar som de andra Henipavirusen och är antigeniskt besläktad med nuvarande Henipavirus (Marsh et al., 2012).



Figur 1. Strukturen av Hendra virus G-protein (Xu et al. 2012).

Infästning och inträde i cellen

Hendra virus som är ett höljeförsett virus har samma infästningsmetod som resten av paramyxovirusen. Infästningen och membran fusionen utförs av två separata höljeförsetta glykoproteiner. Henipavirusen innehåller ett infästningsglykoprotein som vi benämner G och ett fusionsglykoprotein som vi benämner F. Dessa glykoproteiner jobbar i samspel för att se till att viruset kan fästa in och passera över membranet. G glykoproteiner har en typ-2 transmembran topologi, denna innehåller en kort cytoplasmatisk N-terminal svans och ett långt extracellulärt globformat huvud som C-terminal. De är sedan sammankopplade med transmembran och extracellulära stamregioner och membranförankrade G former disulfid linkade proteiner som håller samman i par som en tetramerisk oligomer (Fig 1; Xu et al., 2012).

Till skillnad från de flesta medlemmar ur *Paramyxoviridae*, så är Henipavirusens infästnings glykoproteiner speciella på det sätt att de inte hemagglutinerar blodceller och binder inte heller till sialinsyra. De har inte neuraminidas aktivitet, utan binder till ytproteinreceptorer på cellen. Man upptäckte att ephrin-B2 och ephrin-B3 fungerar som receptorer för både Hendra och Nipah virus (Xu et al., 2012).

Dessa virus har som tidigare nämnt även ett F glykoprotein, som är ett typ-1 transmembran protein. Till en början är det syntetiserat som en precursor som formar trimeriska oligomerer. Dessa omvandlas sedan till disulfid-linkade subenheter, F₁ och F₂ (Xu et al., 2012).

En nuvarande vedertaget accepterad metod av Paramyxovirus fusion föreslår att vid receptorbindningen aktiveras F glykoproteinet. Här antas att direkt kontakt mellan infästnings och fusions glykoproteiner förekommer. När F glykoproteinet aktiveras sätter det in sin fusionspeptid i värdcellsmembranet. Aktiveringsprocessen förenklar en serie av konformella förändringar i F och förenklar glykoproteinernas övergång till deras helikala knippe efter

fusion och konformation. Därefter följande sammansmältning av det virala membranhöljat och värdcellsplasmamembranet. Mycket runt denna process är dock ännu oklart och det är mycket kvar att klargöra runt processen (Xu et al., 2012).

Henipavirus höga mortalitet

Henipavirus anses vara ett av de mest dödliga virus genus, med en mortalitet på mellan 50-100%, som är kända att infektera människor. Användningen av starkt konserverade cellytemolekyler, såsom ephrin, till passage in i cellen tror man är en viktig egenskap för deras höga patogenicitet. Varför det antas vara kan bero på att ephrin-B2 har en bred distribution cellulärt. Det har de framförallt i vaskulära endotelets celler och det kan vara detta som gör att viruset kunnat sprida sig systemiskt. Dess höga patogenicitet antas även bero på den effektiva replikationen och fusions strategierna hos viruset (Marsh & Wang, 2012).

De arter där man har studerat en naturlig infektion hos Hendra virus är hästar, människor, fladdermöss och en hund. Nipah virus däremot har man studerat hos människor, grisar, hundar, katter, hästar och getter (Marsh & Wang, 2012).

Inkubationsperioden har uppskattats till att vara 7-10 dagar i människor vid Hendra virus infektion. Sjukdomen börjar oftast med influensaliknande symptom med feber, letargi, huvudvärk, muskelsmärter, illamående och kräkningar. Den utvecklas sedan till en kraftig hjärninflammation (encefalit), därefter kollaps av många av kroppens organ (Marsh & Wang, 2012).

I naturliga utbrott av sjukdom som man har studerat är den oro-nasala vägen den huvudsakliga infektionsvägen. I studier gjorda på människor som dött av infektionen har man kunnat se en kraftig antigen inmärkning av lymfoid och respiratorisk vävnad vilket indikerar att dessa kan vara primära ställen för den virala replikationen. I ett tidigt viremiskt stadie hos människor har man kunnat se ett utbrett simultant uppträdande av vaskulit och patologiska lesioner i många och olika varierande organ detta indikerar en systemisk spridning (Marsh & Wang, 2012).

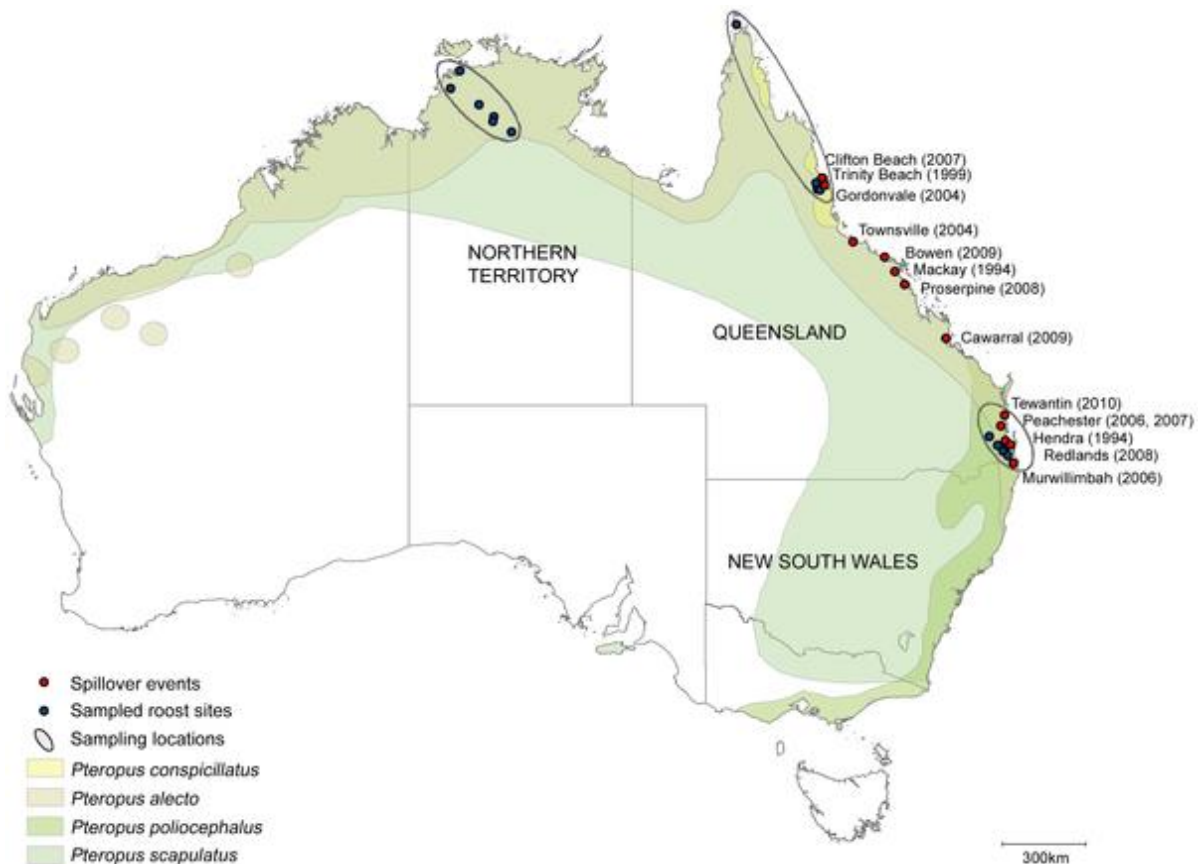
Henipavirusen har visat sig ha möjlighet att motverka värdens naturliga immunsvär. Strukturer hos viruset har antagonistiska egenskaper mot interferon, varvid man tror att behandling med interferon skulle kunna förhindra ett dödligt sjukdomsförlopp (Marsh & Wang, 2012).

Spridningsvägar

Man har kunnat se överföring av smitta från häst till häst, det har dock varit sällsynt då hästarna har hållits på bete, men i de fall då man tagit in sjuka hästar i stall har man kunnat se att smittan överförts till andra djur (Center for Food Security and Public Health, 2009). Däremot har inte någon observation av spridning av viruset mellan fruktätande fladdermöss och människor gjorts gällande Hendra virus (Field, 2009).

Geografisk utbredning

Utbrott av Hendra virus infektioner hos människor och hästar har rapporterats från Australien och infektioner av Nipah virus har rapporterats från Malaysia, Bangladesh. Denna spridning överensstämmer med den geografiska utbredningen av *Pteropus*. Henipavirus och virus närbesläktade med Henipavirus i fladdermöss har rapporterats från Australien, Malaysia, Thailand, Kambodja, Indonesien, Bangladesh, Indien och Madagaskar. I Australien isolerades Hendra virus och i Malaysia och Kambodja har Nipah virus isolerats (Drexler et al., 2009). Infektioner orsakade av Hendra virus har endast setts i Australien. Här är viruset endemiskt hos flygande hundar och man har hittat seropositiva djur från Darwin i nordcentrala Australien till Melbourne i sydöstra Australien. En häst rapporterades infekterad i New South Wales, annars har de flesta utbrott förekommit i Queensland.



Figur 2. Karta över utbrottens lokalisering i Australien, samt fladdermössens utbredning: Dessutom indikeras var studier och insamlat studiematerial gjorts (Field et al., 2011).

Dock har man funnit antikroppar mot Hendra virus hos flygande hundar, i Papa Nya Guinea. Antikroppar mot Nipah virus har också hittats hos flygande hundar i Madagaskar och Kambodja (Center for Food Security and Public Health, 2009). Serologiska bevis på att olika Henipavirus kan finnas hos afrikanska fladdermöss har hittats. I en studie från 2009 kunde man för första gången även bevisa virus starkt besläktade med Hendra virus och Nipah virus i arten *Eidolon helvum* i Ghana. Detta tyder på en enorm expansion av den geografiska omspanningen av detta virus genus (Drexler et al., 2009).

Årstidsbundna utbrott?

Det finns studier som tyder på att infektion av viruset har ett mönster bundet till årstiden och att Hendra virus är knutet till den torra årstiden, som är maj till oktober. I rapporter har man studerat nederbörd, temperatur och vegetativ primär produktivitet under denna period. Maj till oktober har man den lägsta temperaturen och minsta nederbörden på platser där man haft utbrott av viruset. Under denna period har man låg primär produktivitet, även om den sjunker först 1-2 månader efter att de torra månaderna börjat. Studier har dock ej gjorts mellan orterna där utbrott skett, gällande temperatur, nederbörd och primär produktivitet. Dock fanns det variationer mellan dessa ställen (McFarlane et al., 2011).

Man har även tittat på temperatur och nederbörd gällande virusets persistenta förmåga att överleva i miljön. Primära produktiviteten undersöktes angående tillgång på föda som kunde vara av intresse för fladdermöss och på så sätt undersöka hur många fladdermöss som kunde befinna sig inom områden där utbrott hade skett (McFarlane et al., 2011). Det man tittade på var om dessa faktorer skiljde sig från där utbrott skett mot där man ej hade haft något utbrott. Dock hittades ingen variation inom säsongen som kunde styrka att någon specifik faktor utlöste utbrott eller inte. Det var alltför varierande data mellan ställen där utbrott skett gällande temperatur, nederbörd och primär produktivitet. När man gjorde undersökningen kunde man dock se att majoriteten av utbrott förekom inom områden där fruktätande fladdermössen höll till nattetid i tätort och kringliggande landsbygdsområden med stor befolkningsmängd och hästar (McFarlane et al., 2011).

Fladdermöss

Fladdermöss är bärare av många olika zoonotiska virus. Gemensamt är att alla är RNA virus som kan orsaka sjukdomar som i nuläget inte går att behandla. I samband med detta så lever fladdermöss ofta nära människor och ofta i stort antal. Dock har fladdermöss viktiga ekologiska funktioner genom att de pollinerar växter och sprider deras frön. De reglerar även insektspopulationen vilket är viktigt för att behålla ekosystemen intakta (Wood et al., 2012). Många arter kan ta sig relativt långt under kort tid. Frekventa förflyttningar på långa distanser ger tillgång till stor variation på mat och även för att använda olika områden för födosök och sovplatser. För att förstå hur de förflyttar sig har försök gjorts där man satt dit satellit transmittorer på fladdermöss av arten *Pteropus Poliocephalus* (Fig 3; Roberts et al., 2012). Man har relativt lite information om hur förflyttningsmönstret hos fladdermössen ser ut, men genom använda satellittransmittorer på *Pteropus Poliocephalus* konstaterades att de är väldigt rörliga och kan flytta sig frekvent mellan olika bestämda platser i en närliggande area, likväl som de kan göra väldigt långa förflyttningar över stora områden. Med denna studie har man fått en ökad kunskap om deras förflyttningsmönster, som kommer att kunna vara värdefull inför framtida studier (Roberts et al., 2012).



Figur 3. *Pteropus poliocephalus*, med sändare. *Pteropus poliocephalus* övernattar gärna i tätortsbyggen, vilket är ytterligare en risk till smittspridning (Roberts et al., 2012).

Förändrat livsmönster hos reservoaren

Den naturliga reservoaren för viruset är sannolikt fruktätande fladdermöss från familjen *Pteropodidae* i genus *Pteropus* som vardagligt benämns som flygande hundar (Field et al., 2007). Flygande hundar lever oftast i stora skiftande kolonier och alla arter får en unge per år. Trots att det i Australien finns fyra olika arter som kan sprida viruset, har man inte belyst ämnet om eventuell överföring av viruset mellan fladdermusarterna när det gäller utbredningen överhuvudtaget (Wood et al., 2012).

Man har ännu ett problem gällande viruset och det är ett förändrat livsmönster hos en del av fruktätande fladdermöss konstellationer. I dagsläget är många av Australiens östkuststäder kontinuerligt ockuperade av fruktätande fladdermöss, vilket de ej har varit tidigare. Utöver detta så förekommer en stads- och landsbygdsutveckling i områden där fruktätande fladdermöss har sina habitat (Plowright et al., 2011). Denna urbanisering har lett till högre sannolikhet för smittspridning, då människor, hästar och fruktätande fladdermöss korsar varandras områden mer än tidigare (McFarlane et al., 2011).

Varför en del grupper har minskat på migreringar kan vara en orsak till att man i en studie tagit upp den stora temperaturskillnaden som kan förekomma. Den maximala skillnaden kan vara så hög som 12 grader mellan en stor stad och den omgivande miljön. Detta utgör en källa

till förändrat habitat hos växter och djur i området. De som påverkades var bland annat *Pteropus poliocephalus* som etablerat ett permanent område inne i Melbourne. Här gjordes en studie på kolonier. Kolonierna delades in i om de användes under sommar till höst, eller vinter och ytterligare en grupp där kolonierna användes året om. Man studerade klimatet på dessa ställen och jämförde sedan det med Melbournes klimat. Studierna indikerade att Melbournes klimat skiljde sig från de andra grupperna. När man sedan studerade medeltemperaturen för Melbourne från 1986, det år då det först användes som vinterkoloni, till 2000 så kunde man se en förhöjd medeltemperatur från 14.9 till 15.8 grader. Detta var inom den årliga medeltemperaturen (15.6 till 21.3 grader) för andra vinterkolonier. Man kunde bland annat se en minskad andel dygn med frost. Dessa och flera värden gjorde att Melbourne hamnade inom ramarna för vad som uppmättes på de andra vinter och sommarkolonier (Parris & Hazell, 2004).

Man kunde se att lokala populationer av flygande hundar utsattes för periodiska epidemiska utbrott som tömde resurserna för utbrott av viruset, vilket ledde till att viruset utrotades under en period. Dock kom det alltid tillbaka med förnyad kraft i samband med födslar som följdes av återinfektion. Hur omfattande dessa lokala epidemier blev, berodde till stor del på den lokala gruppens immunitet, alltså hur många av individerna som redan var immuna mot viruset (Plowright et al., 2011). Under sådana här epidemiska utbrott i kolonierna så kunde det resultera i en topp av virus exkretion med påföljden att sannolikheten att en infektion av hästar i området ökade (Field et al., 2007).

Man har studerat att vissa flygande hundkonstellationer har ett minskat migrationsbeteende, vilket leder till en minskning av djur som rör sig mellan populationerna. Detta tillsammans med den allt större samlingen flygande hundar i närheten av bebodda delar har haft en signifikant påverkan på virusutvecklingen hos samlingar av lokala populationer (Plowright et al., 2011). Närvaron av fruktätande fladdermöss inne i städer pekar på deras förmåga att kunna anpassa sig bra till förändrade miljöer, detta ökar dock interaktionen mellan fladdermöss och människor (Wood et al., 2012).

När kontakten mellan grupperna minskade så ökade epidemierna till antal, när denna studie sedan kombinerades med tätortssamlingen av flygande hundar så skiljde sig amplitud och frekvens åt i tätorts- och lantmiljöer. Denna omvända relation mellan utbrottsstorlek och kontakt mellan grupper kan förklaras med förändringen i interepidemiska intervaller. Eftersom färre individer migrerar så minskar risken att infekterade individer förflyttar sig mellan populationerna. Därmed leder detta till att risken att en population återinfekteras, efter att vi har fått en lokal utrotning av viruset, minskar. Det gör att det går längre tid tills dessa populationer kan få nya individer som är mottagliga via fortplantning. Det man såg var kortare, mer sporadiska och intensivare epidemier och ett större antal infekterade individer. Via simulering över en 20 årsperiod kunde man dock se att minskad migration ledde till färre infekterade individer totalt. Man kunde även se att andelen infekterade individer var större i stadsansamlingarna än hos de som var spridda på landet (Plowright et al., 2011).

Experimentella infektioner

Man har använt ett flertal arter att inducera infektion i. Däribland har man använt iller, gris, katt, marsvin, häst och afrikansk grönapa. Den stora variationen av arter som viruset kan infektera är ovanligt för virus i familjen *Paramyxoviridae*. Detta beror på den välkonserverade värdreceptorn för viruset, ephrin-B2 och ephrin-B3 (Dubs et al., 2012).

Häst

Sjukdomsbilden kring Hendra virus har varit väldigt oklar och experiment har gjorts för att försöka klargöra sjukdomsbilden. Under ett utbrott 2008 i Queensland så upptäckte man att de mest förekommande symptomen var kopplade till CNS. Tidigare har Hendra virus alltid varit sammankopplat med respiratoriska symptom hos hästar, även om CNS symptom har förekommit (Marsh et al., 2011).

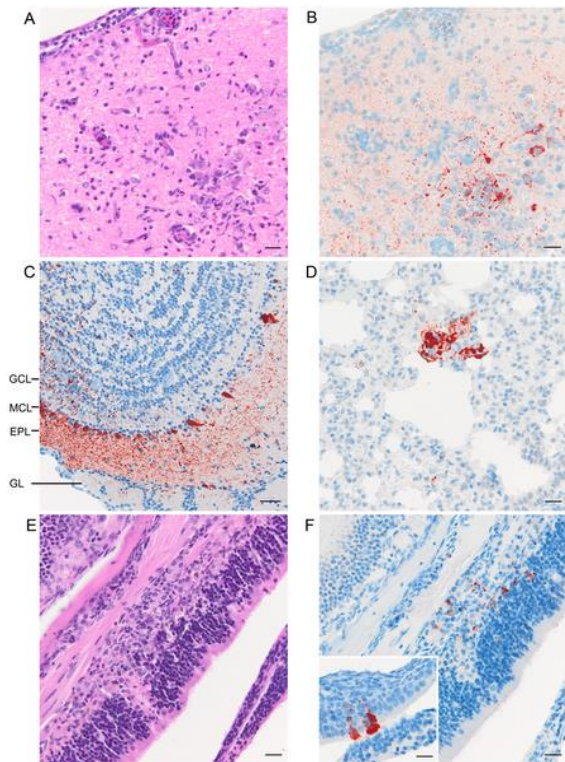
I ett experiment infekterades 3 ston som fick befinna sig i individuella inhysningar med en rumstemperatur på 22 grader. I en vecka fick de acklimatisera sig till miljön för att sedan exponeras för viruset. Man hade en slutpunkt för försöket där man ej ansåg det humant att hålla hästarna vid liv utan avlivade dem. Denna slutpunkt var när individen led av feber, tillsammans med depression eller andra tecken med lokalisering till respiration eller neurologiska system. De tre hästarnas sjukdomsförlopp tedde sig något olikt till varandra, men alla innefattade en höjning av kroppstemperaturen och en förhöjd vilopuls. Att sjukdomsförloppen tedde sig olika tror man beror på att man har sett ett så brett mönster av symptom hos hästar under olika utbrott, som bland annat feber, aptitlöshet, depression, rastlöshet och tachykardi (Marsh et al., 2011).

Man tog även svabbprov ur näshålan under studien och i två av tre svabbprov konstaterades Hendra virus i ett tidigt stadie, vilket indikerar att man ska vara väldigt försiktig vid undersökning av hästar och ha den tidigt i åtanke som möjlig diagnos vid undersökning av hästar (Marsh et al., 2011).

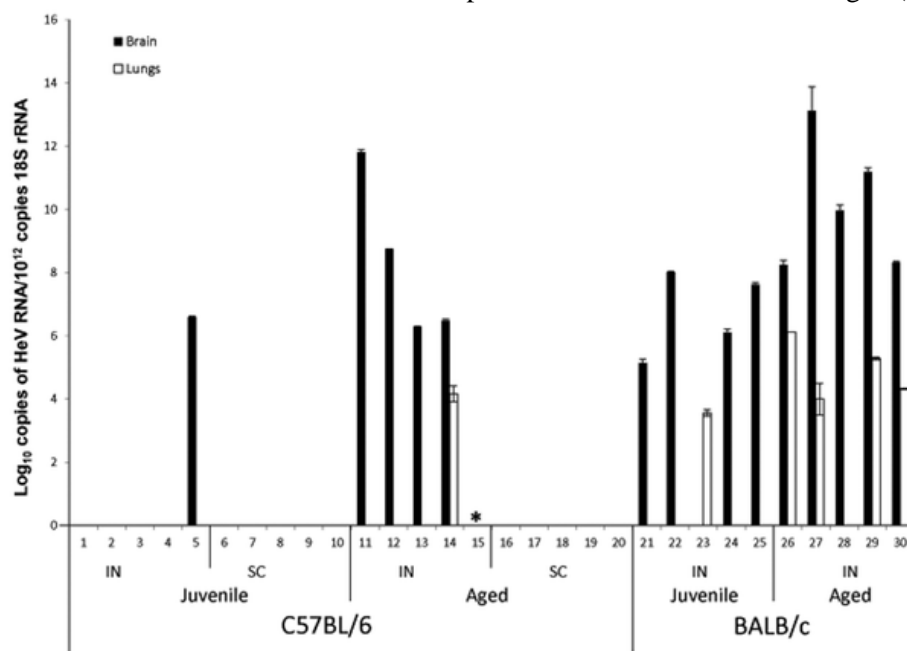
Mus

Det man upptäckte när man inducerat infektion hos mus är att man får en klargjord infektion när de exponeras intranasalt, men ingen infektion uppkommer vid parenteral administrering. De möss man använde för studien var C57BL/6 möss. Man använde sig av tio åtta veckor gamla möss och tio 12 månaders möss, man använde intranasal eller subkutan exponering av Hendra virus. De som exponerades subkutant visade inga tecken på infektion och hade god hälsa under hela försöket. De äldre mössen som exponerades av Hendra virus intranasalt dog eller hade perakuta neurologiska symptom vilket krävde avlivning. Påverkade möss uppvisade symptom såsom ataxi, muskelkramper och hypersensitivitet. Alla möss som utvecklade klinisk sjukdom hade höga halter av viralt genom i hjärnvävnaden (Fig 4; Dubs et al., 2012). Vidare ville man undersöka om detta resultat endast gällde C57BL/6 möss och upprepade därför försöket på BALB/c möss. Fem unga och fem vuxna möss utsattes för Hendra virus intranasalt. Dessa undersöktes sedan dagligen i 21 dagar och man såg att de kliniska tecknen generellt sett var lika de man sett i C57BL/6 mössen (Fig 5; Dubs et al., 2012). Precis som i dessa möss kunde man inte se någon viktnedgång eller förändring av temperatur i BALB/c

mössen. Tre av de vuxna mössen utvecklade klinisk neurologisk sjukdom och avlivades. De fem unga mössen var vid god hälsa under hela försöket. Resultaten visade att äldre möss är mer mottagliga till klinisk sjukdom vid intranasal exponering. Under studien kunde man även se att viruset inte spreds hematogent utan det pekade på att det spreds via anterograd nervinvasion via sensoriska neuroner, men även transneuronal spridning av hendra virus inuti hjärnan (Dups et al., 2012).



Figur 4. Detta visar antigen inmärkning hos möss och även lesioner som studerats i vävnader. Detta kommer från vuxna möss som blivit exponerade via den intra-nasala vägen (Dups et al., 2012).



Figur 5. Till skillnad från C57BL/6 mössen så hittade man viralt antigen och lesioner hos både de möss som uppvisat symptom och hos de som var symptomfria (Dups et al., 2012).

Vaccinutveckling

Trots dess pandemiska potential och höga mortalitet har man väldigt lite kunskap om viruset ifråga. Inte förrän till alldeles nyligen har man nått framsteg i utvecklingen av ett vaccin. I december 2012 kunde man i Richmonds tidningsartikel läsa att ett Hendra vaccin hade utvecklats. Det är ett vaccin som används till hästar. Man kan använda det på hästar som är över 4 månader gamla och det fungerar som ett hjälpmedel att förhindra klinisk sjukdom orsakad av Hendra virus och sägs även kunna reducera den virala utsöndringen. Doseringen är två doser intramuskulärt med 21 dagars mellanrum, men för att behålla skyddande nivåer av antikroppar behövs påbyggnadsdoser. Vaccinet heter equivac (Richmond., 2012).

Eftersom det ej finns några effektiva behandlingar mot sjukdomen och både Hendra och Nipah virus har så hög mortalitet har de klassificerats i biosäkerhets nivå 4 ,vilket innebär extremt strikta restriktioner vid hantering av virus och är omnämnda som potentiella biologiska hot. Den huvudsakliga vaccinationsstrategin för att förhindra Henipavirusinfektion har gått ut på att man fokuserat på direkt administrering av lösliga former av viralt F eller G glykoprotein för att inducera en skyddande immunrespons. Nackdelen är dock att denna vaccination kräver många injektioner av rekombinanta proteiner kopplade till adjuvans för att få en betydande immunrespons. Dock har en ny studie utförts som presenterar en ny vaccinationsstrategi som istället är baserad på användningen av rekombinanta vektorer som härstammar från adeno-associerade virus. I studien har man utvärderat förmågan hos adeno-associerade virus vektorer (AAV vektorer) att uttrycka Nipah virusets G protein för att inducera en skyddande immunrespons. Efter en jämförelse med 3 olika AAV serotyper och 2 olika vaccinations ingångar kunde man se att en enda injektion av en AAV8 vektor som uttryckte Nipah virus G protein i möss inducerade en antikroppsrespons som var långtidsverkande. Denna blev endast något ökad av en påbyggnadsinjektion med en alternativ AAV serotyp. Hamstrar är väldigt mottagliga för Henipavirusinfektion och studier som gjorts på hamster indikerar att en enda injektion av AAV8-NiV.G vektor var tillräcklig för att skydda mot en infektion med dödlig utgång av Nipah virus. 50 procent av dessa djur överlevde även en infektionsinducering av Hendra virus vilket indikerar på att det gav bra immunitet även mot Hendra virus (Ploquin et al., 2013).

Vissa studier har påvisat att *in vivo* framställning av ett lösligt Hendra virus G protein kan resultera i skydd mot både Nipah och Hendra virus (Nipah virus och Hendra virus G protein är till 83 procent homologa), dock anser man generellt att Nipah virus G protein inte kan inducera skydd mot Hendra virus. Däremot visades som tidigare nämnts i studien att 50 procent av hamstrarna ändå verkade ha fått ett fullgott skydd mot Hendra virus. Alltså indikerar studien att förutom att inducera en steril immunitet mot Nipah virus så utvecklades ett skydd mot Hendra virus tillräckligt i 50 procent av fallen (Ploquin et al., 2013).

DISKUSSION

Efter denna litteraturöversikt kan man konstatera att vi fortfarande har relativt lite kunskap om Hendra virus. Vi har mycket kvar att undersöka för att nå en ökad kunskap om viruset. Om man exempelvis ser till studien om att Hendra virus utbrott skulle kunna vara årstidsbundna (McFarlane et al., 2011) så har man bristande kunskap huruvida andra faktorer än årstiden i sig påverkar utbrotten och därav svårt att fastställa om vi har en direkt koppling till årstiden. I den studien hade ej någon jämförelse mellan utbrottsplatserna gjorts, man såg endast att det var en variation i klimatet mellan platserna. Man skulle eventuellt kunna göra en studie mellan dessa platser i syfte att hitta en gemensam faktor. Man skulle kunna fundera på om det hänger ihop med fladdermössens fortplantningscykler, eftersom nya individer ofta blir infekterade av viruset (Plowright et al., 2011) och kan sprida det och om denna infektion har något samband med nya fladdermöss och den torra årstiden.

Något som konstaterats styra utbrott är det förändrade livsmönstret för reservoaren. När de stannar längre på tätbefolkade områden kan helt klart en ökad smittspridning utvecklas. Dock som diskuterades i studien (Plowright et al., 2011) så skulle denna förändring endast i första hand leda till fler utbrott, för att sedan stanna av på grund av minskad migrering. Om fladdermössen i stort minskar sin migrering över flera olika kolonier och stannar kvar på en och samma plats så skulle det på sikt kunna leda till färre utbrott.

Att den oronasala vägen skulle vara huvudingången för smittspridning (Marsh & Wang, 2012) stämmer bra överens med rapporterade fall på grund utav att man sett smittspridning mellan hästar när de befinner sig inomhus i en trång miljö där luften cirkulerar. Att de då är mindre rapporterade fall av det hos hästarna utomhus beror troligen på att man har en frisk luft som inte cirkulerar virus på samma sätt. Av studien framgår även att man tror att det är essentiellt att värddjuret innehar ephrin-B2 och ephrin-B3 receptorerna för att kunna bli smittad (Xu et al., 2012).

I takt med att vi reser allt mer, får vi fler människor som flyttar sig över större distanser under en kort tid. Vi har även med våra husdjur i större utsträckning och däribland även hästar. Detta kan vara ett problem vad gäller Hendra virus. Som nämnts i studien finns det fall där man har observerat spridning från häst till häst när de har varit installerade. Detta kan utgöra en risk vid transporter och flytt av djur både inom landet och utanför. Som studierna har visat verkar det inte heller vara en omöjlighet för viruset att få fäste i ett annat land i och med att man har stött på seropositiva fladdermöss utanför Australien. Att det påträffats seropositiva utanför Australien har nog som grund bland annat att fladdermöss är en väldigt kompetent smittreservoar. De finns ofta i vår närmiljö och de har en förmåga att flytta sig långt över stora arealer och på så sätt kunna orsaka utbrott på många ställen inom en kortare tidsperiod. Det man kan konstatera är att samtliga verkar vara överens om att ökad kontakt mellan fladdermöss och människors samhällen kommer att kunna leda till ökade utbrott av viruset.

Upptäckten av ännu ett tänkbart Henipavirus pekar på det nödvändiga i att få mer kunskap om relationen mellan virus och fladdermöss i generell mening, vilket Marsh et al. (2012) anser. I

dagsläget har vi fyra fladdermössarter som naturliga smittreservoarer, men ingen studie har hittats som indikerar på undersökning av hur virus kan föras över mellan olika fladdermusarter. Detta är relevant, för att undersöka till vilka ytterligare fladdermusarter viruset skulle kunna spridas, med tanke på att man har hittat seropositiva i Afrika av arten *Eidolon Helvum*. Om viruset skulle visa sig kunna persistera i princip vilken fladdermusart som helst, skulle detta kunna innebära en stor risk för vidare smittspridning till andra världsdelar.

Att man i dagsläget fått flera rapporter om ett vaccin (Richmond, 2012), indikerar att det ser ljusst ut för ett välfungerande vaccin mot Hendra virus. Problemet med de vacciner som man hittills har diskuterat är att de kräver många påbyggnadsinjektioner (Ploquin et al., 2013), vilket gör att vaccinet antagligen kan bli kostsamt och det är ingen bra praktiskt lösning att behöva återvaccinera väldigt ofta. Ett konstaterande är det faktum att vaccinutvecklingen är utav stor betydelse då Hendra virus har en pandemisk potential och mycket hög mortalitet. Ploquin et al. (2013) har utvecklat ett vaccin mot Nipah virus som även till viss del visade sig ha effekt mot Hendra virus är av stor vikt. Här har man utvecklat ett en-dos vaccin mot Nipah som gör att man inte behöver någon återvaccination, det är ett viktigt steg mot ett funktionellt vaccin mot Hendra virus. Vad man kan utläsa av studien så är det fortfarande något oklart varför det fungerar och för att kunna arbeta vidare med detta kommer ytterligare forskning att krävas på området.

Innan vi vet mer om virusets egenskaper krävs det förebyggande åtgärder för att minska smittspridning, bland annat så bör hästägarna tänka på att skaffa skydd åt vatten och mat, så att inte fladdermöss kommer åt att kontaminera det så enkelt. På samma sätt bör man se till att hästar inte kommer åt att beta under speciella träd som fladdermössen använder då marken under trädet med största sannolikhet är kontaminerad. Något annat som kan vara relevant är att göra djurägare och allmänhet medvetna om viruset och symptom på sjukdom för att iakttaga största försiktighet och undvika att smitta sprids till människor.

Man kan summera det som att vaccinutvecklingen har tagit stora kliv framåt, men ännu har inga studier eller rapporter bekräftat att det finns ett helt fungerande vaccin. Det finns fortfarande luckor i kunskapen kring hur viruset sprids inom arter och mellan arter, vilket gör att vi inte vet varför smittan går fladdermus, till häst och sedan till människa. Det finns inte heller några studier som kan bekräfta vilka arter som med säkerhet kan infekteras, utan endast att experimentell infektion är möjlig på ett stort antal djur. Detta gör att mycket kring hur viruset kan spridas globalt fortfarande endast är spekulationer, men det som står klart är att viruset är oerhört letalt och kan orsaka stor skada. Man kan dock hittills konstatera att de flesta utbrotten sker runt den torra årstiden, men varför det är på detta sätt råder det fortfarande mycket spekulationer till. Dock är det viktigt att man arbetar med detta då viruset med sin höga mortalitet utgör ett hot mot samhället.

LITTERATURFÖRTECKNING

Field H., (2009) Hendra virus infection risks. *Neurology Asia*, 14, 77-78

Marsh, G. & Wang L., (2012) Hendra and Nipah viruses: why are they so deadly?. *Current Opinion in Virology*, 2, 242-247.

Parris M. & Hazell D., (2004) Biotic effects of climate change in urban environments: The case of the grey-headed flying-fox (*Pteropus poliocephalus*) in Melbourne, Australia. *Biological Conservation*, 124, 267-276.

Drexler J., Corman V., Gloza-Rausch F., Seebens A., Annan A., Ipsen A., Kruppa T., Müller M., Kalko E., Adu-Sarkodie Y., Oppong S. & Drosten C., (2009) Henipavirus RNA in African Bats. *PLoS ONE*, 7, e6367

Dubs J., Middleton D., Yamada M., Monaghan P., Long F., Robinson R., Marsh G. & Wang L., (2012) A New Model for Hendra Virus Encephalitis in the Mouse. *PLoS ONE*, 7, e40308

Field H., Breed A., Shield J., Hedlefs R., Pittard K., Pott B. & Summers P., (2007) Epidemiological perspectives on Hendra virus infection in horses and flying foxes. *Australian Veterinary Journal*, 85, 268-270.

McFarlane R., Becker N. & Field H., (2011) Investigation of the Climatic and Environmental Context of Hendra Virus Spillover Events 1994-2010. *PLoS ONE* 6, e28374

Marsh G., Haining J., Hancock T., Robinson R., Foord A., Barr A., Ridell S., Heine H., White J., Cramer G., Field H., Wang L. & Middleton D., (2011) Experimental Infection of Horses with Hendra Virus/Australia/Horse/2008/Redlands. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 2232-2238.

Marsh G., Jong C., Barr J., Tachedijan M., Smith C., Middleton D., Yu M., Todd S., Foord A., Haring V., Payne J., Robinson R., Broz I., Cramer G., Field H. & Wang L-F., (2012) Cedar virus: A Novel Henipavirus Isolated from Australian Bats. *PLoS Pathogens*, 8, e1002836.

Ploquin A., Szécsi J., Mathieu C., Guillaume V., Barateau V., Ong K., Wong K., Cosset F-L., Horvat B. & Salvetti A., (2013) Protection Against Henipavirus Infection by Use of Recombinant Adeno-Associated Virus-Vector Vaccines. *The Journal of Infectious Diseases*, 207, 469-478.

Plowright R., Foley P., Field H., Dobson A., Foley J., Eby P. & Daszak P., (2011) Urban habituation, ecological connectivity and epidemic dampening: the emergence of Hendra virus from flying foxes (*Pteropus* spp.). *Proceedings of the Royal Society B*, 278, 3703-3712.

Roberts B., Catterall C., Eby P. & Kanowski J., (2012) Long-Distance and Frequent Movements of the Flying-Fox *Pteropus poliocephalus*: Implications for Management. *PLoS ONE*, 7, e 42532.

Wood J., Leach M., Waldman L., MacGregor H., Fooks A., Jones K., Restif O., Dechmann D., Hayman D., Baker K., Peel A., Kamins A., Fahr J., Ntiemoa-Baidu Y., Suu-Ire R., Breiman R., Epstein J., Field H. & Cunningham A., (2012) A framework for the study of zoonotic disease emergence and its drivers: spillover of bat pathogens as a case study. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 367, 2881-2892.

Xu K., Chan Y-P., Rajashankar K., Khetawat D., Yan L., Kolev M., Broder C. & Nikolov D., (2012) New Insights into the Hendra Virus Attachment and Entry Process from Structures of the Virus G Glycoprotein and Its Complex with Ephrin-B2. *PLoS ONE* 7, e48742