

EHV-1 och virusinducerad abort

Johanna Bager Björzén



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014: 81

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2014



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

EHV-1 och virusinducerad abort

EHV-1 and virus-induced abortion

Johanna Bager Björzén

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: 2014

Omslagsbild: Seth Zeigler at the Nokota Horse Conservancy, Linton, North Dakota

Serienamn, delnr: 2014:81

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

Nyckelord: EHV-1, Ekvint herpesvirus-1, Abort, Virusabort, Ekvint herpesvirus,

Key words: EHV-1, Equine herpesvirus-1, Abortion, Viral abortion, Equine herpesvirus

Innehåll

<u>Sammanfattning</u>	1
<u>Summary</u>	2
<u>Introduktion</u>	3
<u>Metoder och material</u>	3
<u>Patogenes- från första smitta till infektion av foster och placenta</u>	4
<u>Första smitta</u>	4
<u>Smittovägar</u>	4
<u>Respiratorisk infektion</u>	4
<u>Infektion av unga naiva hästar</u>	4
<u>Infektion av dräktiga ston</u>	5
<u>Viremi</u>	5
<u>Latens</u>	5
<u>Latens i immunceller</u>	5
<u>Latens i nervceller</u>	6
<u>Reaktivering av latent virus</u>	6
<u>Infektion av foster och placenta</u>	6
<u>Tidsintervall</u>	8
<u>Olika vägar för spridning från endometrium till foster och/eller fosterhinnor</u>	8
<u>Abort utan infektion av foster</u>	9
<u>Lesioner och fynd av virus i vävnader samt tolkningar av dessa</u>	10
<u>Förekomst av virus och känslighet i metoder</u>	11
<u>Tillbakahållning av replikation i placenta</u>	11
<u>Separation av placenta</u>	11
<u>Trombos</u>	11
<u>Sammanfattad patogenes</u>	12
<u>Andra viktiga egenskaper hos EHV-1</u>	13
<u>Skillnader på infektion i tidig och sen dräktighet</u>	13
<u>Infektion av cellen</u>	15
<u>Protein på cellen och virusets yta</u>	15
<u>Mikrotubuli och dynein</u>	15

<u>Kinaser</u>	16
<u>Påverkan av hormoner och cytokiner</u>	16
<u>Infektion av endotelceller i endometrium</u>	16
<u>Reaktivering av latent virus genome eCG och IL-2</u>	17
<u>Smitta och smittskydd</u>	17
<u>Utsöndring av virus hos föl och ston</u>	17
<u>Fallbeskrivningar av utbrott</u>	17
<u>Råd om smittskydd</u>	18
<u>Immunsvaret emot EHV-1</u>	18
<u>Antikropsvar</u>	18
<u>IFN γ</u>	18
<u>Immunitet och vaccin</u>	18
<u>Immunitet</u>	18
<u>Effekt av vaccin</u>	19
<u>Cytotoxiska T-lymfocyter</u>	19
<u>Virusstammar</u>	19
<u>Skillnader i virusgenetik mellan stammar av viruset</u>	19
<u>Förekomst av olika stammar</u>	20
<u>Latens och reaktivering av olika stammar</u>	20
<u>Stammar som används i studier</u>	20
<u>Diskussion</u>	21
<u>Referenser</u>	24

Sammanfattning

Syftet med detta arbete var att redogöra för hur EHV-1 orsakar abort hos dräktiga ston samt patogenes och egenskaper hos viruset som leder fram till abort. Ekvint herpesvirus typ 1 (EHV-1) är ett α -herpesvirus som finns över hela världen och kan orsaka tre olika typer av sjukdomar hos häst: Respiratorisk sjukdom, neurologisk sjukdom och abort. EHV-1 överförs främst genom inandning av aerosoler från infekterad häst och orsakar först luftvägssjukdom och viremi. Viruset bildar sedan latens, främst i lymfknutor nära de övre luftvägarna samt i trigeminala ganglier. En stor del av hästpopulationen är latent infekterad med EHV-1. Latent EHV-1 kan reaktiveras vid stress och då spridas via leukocyter i blodet till livmodern. Det har gjorts flera studier med obduktion av aborterade foster, fosterhinnor, placenta och livmodern hos dräktiga ston som har varit infekterade med EHV-1. Exempel på fynd vid dessa obduktioner är: Vaskulit och skador i endotelceller, infekterade leukocyter i fosterhinnor och livmoder, infarkter och infektion av celler i mikrokotyledon samt skador i lever, respirationsorgan och flera andra organ hos foster. Utifrån detta har man dragit slutsatsen att EHV-1 överförs från leukocyter i moderns blod till leukocyter i fostrets blod. Detta sker antingen genom att leukocyter går igenom korions epitellager och sprids efter det vidare från cell till cell eller att infarkter och vaskulit i endometrium leder till att en stor mängd virus kan infektera trofoblasterna i korion. För infektion av endotelceller krävs att adhesionsmolekyler (AMs) uttrycks hos endotelceller så att leukocyter kan binda in. Detta kan induceras av hormonen equine chorionic gonadotrophin (eCG) som utsöndras från fetala celler vid dräktighet och 17-B östradiol som är en viktig form av östrogen. Infarkterna i endometrium kan orsakas av trombos. Trombos kan induceras av infekterade monocyter *in vitro*, vilket delvis kan förklara infarkterna i endometrium. Aborter kan även ske utan att fostret blir infekterat, det kan räcka med att placenta blir infekterad. Aborter inducerade av EHV-1 sker nästan alltid i sen dräktighet och man ser mer allvarliga vaskulära skador i endometrium vid infektion i sen dräktighet. Detta kan bero på hormonutsöndring, immunologiska reaktioner eller ha fysiologiska orsaker. Det finns en neuropatogen stam (G2254) av viruset och en abortogen stam (A2254). Det som skiljer dessa stammar åt är en så kallad single nucleotide polymorphism. Den abortogena stammen finns betydligt oftare hos aborterade foster än den neuropatogena. Ett problem i arbetet var att många studier handlade om små studiepopulationer med stora variationer mellan individerna som studerades i till exempel vaccinationsstatus, ålder och tidigare sjukdomshistoria. Av praktiska och etiska skäl kan det vara svårt att göra stora experimentella studier av sjukdomen. För att få en bättre överblick över patogenesen vore det intressant att obducera fler foster samt göra större fältförsök med till exempel blodprov och nasala svabbprov av avelsston. Det vore även intressant att veta mer om skillnader i hur olika stammar orsakar sjukdom.

Summary

The aim of this study was to describe how EHV-1 cause abortion in pregnant mares and the pathogenesis and properties of the virus which causes the mare to abort the fetus. Equine herpes virus, type 1 (EHV-1) is an α -herpesvirus. It causes disease all over the world. EHV-1 is the cause of 3 different diseases in horses: Respiratory disease, neurological disease and abortion. The virus is primarily transmitted by aerosols from infected horses and causes respiratory disease and viremia after infection. Following primary infection, the virus becomes latent. The most important sites of latency are lymph nodes close to the upper respiratory tract and trigeminal ganglia. A large part of the equine population is latently infected with EHV-1. Stress can cause reactivation of the virus, the virus can then be spread via blood leukocytes to the uterus. Several studies have been done with autopsy of fetuses, fetal membranes, placenta and uterus from mares infected with EHV-1. Examples of lesions found in these studies are: Vasculitis and lysis of endothelial cells, infected leukocytes in fetal membranes and the uterus, infarctions and infections of cells in micro cotyledons and lesions in the liver, respiratory tract and many other organs of the fetus. It is believed that the virus is transmitted from maternal blood leukocytes to blood leukocytes of the fetus. This transmission happens either by leukocytes passing through the epithelial layers of the chorion followed by cell-to-cell transmission or by infarctions and vasculitis of the endometrium causing a large portion virus to infect the trophoblasts of the chorion. For leukocytes to bind to the endothelium and infect it, endothelial cells must express adhesion molecules (AMs). The AMs can be induced by the hormones Equine chorionic gonadotropin (eCG) and 17-beta oestradiol. eCG is excreted from the fetal membranes and 17-beta oestradiol is an important form of oestrogen. Infarctions of the endometrium can be caused by thrombosis. Thrombosis can be induced by infected monocytes *in vitro*, this can partly explain the infarctions of the endometrium. If the placenta is infected but not the fetus, the fetus can still be aborted. Abortions caused by EHV-1 usually happen in the late-term of the pregnancy and vascular damage of the endometrium caused by late term infection is more severe. These differences are caused by hormonal factors, immunological reactions or physiological factors. There are two strains of EHV-1: One neuropathogenic strain (G2254) and abortogenic strain (A2254). The different strains are differentiated by a so called single nucleotide polymorphism. The abortogenic strain is more commonly found in aborted fetuses than the neuropathogenic strain. One problem in writing this essay was that many study populations referenced were very small and had many variations between individuals like vaccination status, age and earlier history of disease. It can be hard to create big experimental studies of horses, for ethical and practical reasons. To get a better overview of the pathogenesis, it would be interesting to examine more aborted fetuses and have bigger field studies with blood samples and nasal swabs from brood mares. It would also be interesting to know more about how different strains of the virus cause disease.

Introduktion

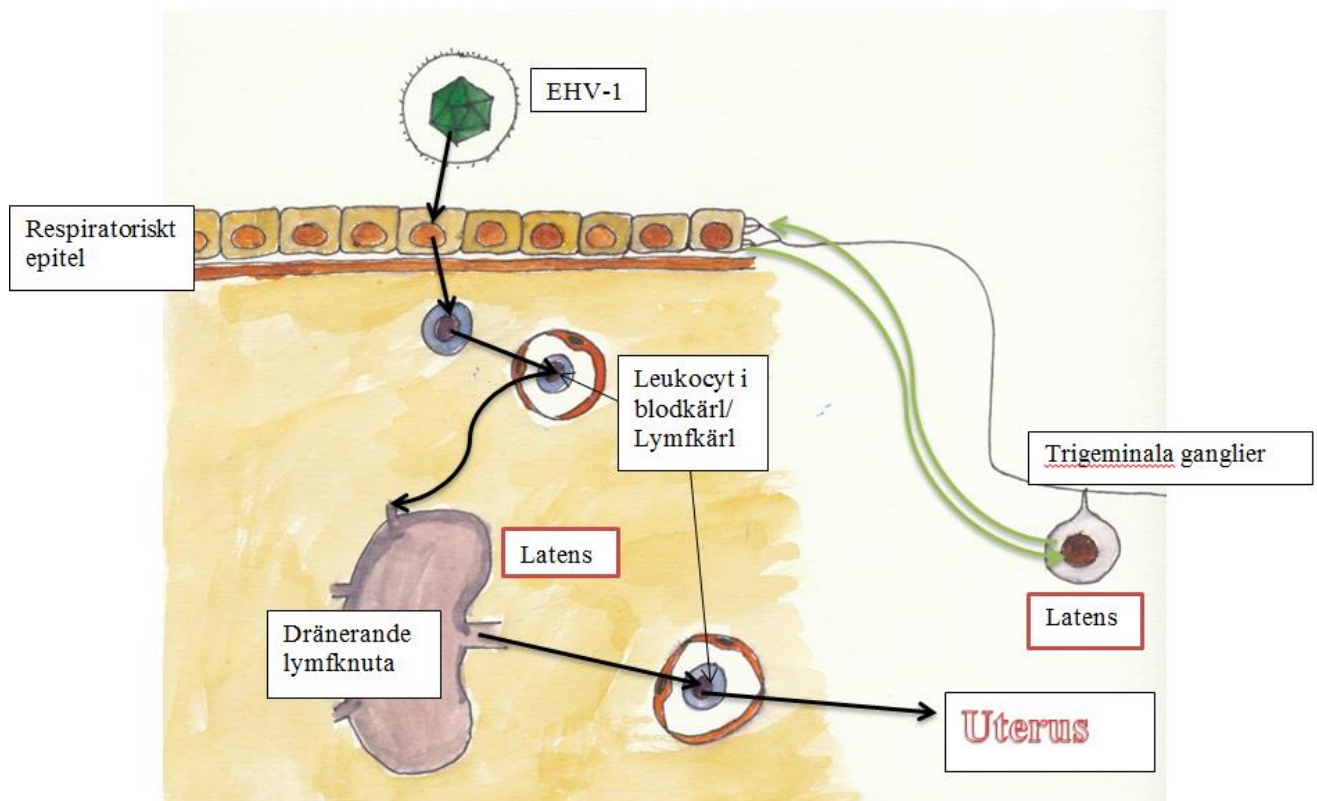
EHV-1 är ett α -herpesvirus som angriper hästar över hela världen. Det finns tre typer av ekvina herpesvirus som är α -herpesvirus: EHV-1, EHV-3 och EHV-4. EHV-4 är ett virus som är närbesläktat med EHV-1. Även EHV-4 kan orsaka aborter och det har tidigare varit svårt att skilja virusen åt (SVA). Liksom andra α -herpesvirus kan EHV-1 etablera sig som latent infektion. EHV-1 orsakar tre olika typer av sjukdomar: Infektion i respirationsorganen som främst drabbar unga hästar, sjukdom som ger neurologiska symtom som förlamning samt abort hos dräktiga ston. Det finns en neuropatogen stam av viruset som främst är förknippad med den neurologiska sjukdomen och en abortogen stam som främst är förknippad med aborter. Dock kan även den neurologiska formen orsaka aborter. Ab4 är en neuropatogen stam av viruset som har isolerats ifrån ett paralyserat sto. Denna stam har använts vid många experimentella infektioner med viruset. Denna text kommer främst att fokusera på hur viruset orsakar aborter, med patogenes och egenskaper hos viruset som leder till sjukdom.

Aborter hos ston leder till ekonomiska förluster inom hästuppfödningen. Årligen rapporteras 10-20 fall av virusabort i Sverige, men mörkertalet är troligen stort. Cirka 20 procent av de kastade fölen som obduceras diagnosticeras med EHV-1 (Sjukdomsrapporteringen 2011, SVA) Mycket forskning har gjorts om EHV-1 under flera årtionden men det finns fortfarande mycket som inte är känt om viruset. Genom ökad kunskap om viruset och dess sjukdomar kan vi skapa bättre metoder för kontroll och förebyggande av sjukdomar.

Metoder och material

Sökningar på Pubmed, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> med sökorden "EHV-1" samt "abortion". Efter det söktes artiklar på "web of science" utifrån artiklar som var refererade i den tidigare sökningens artiklar. Även andra artiklar som verkade vara aktuella för ämnet och som dök upp i sökningar på "web of science" sparades. Eftersom antalet artiklar blev väldigt stort gallrades de mest relevanta källorna ut från dessa. Även en bok om reproduktion hos djur användes som källa. Källorna var begränsade till de artiklar som gick att ladda ner via internet.

Patogenes- från första smitta till infektion av foster och placenta



Figur 1. Teori för Patogenes från infektion av respiratoriskt epitel till infektion av uterus.

Första smitta

Smittovägar

EHV-1 överförs primärt genom respiration av aerosoler (Noakes et al., 2009, Reed, & Teribio 2004). EHV-1 DNA har även isolerats ifrån sperman hos hingstar med hjälp av PCR (Hebia-Fellah et al., 2009) Det är osäkert om virusen i sperman är virulenta och om de kan smitta ston. Det är även osäkert varför DNA-fragmenten har funnits där och om viruset är aktivt eller latent. Direkt överföring via aborterade foster eller delar av placenta kan möjligen också överföra smitta (Reed, och Teribio, 2004; van Maanen et al., 2000). Om ett föl föds och överlever trots att modern har varit infekterad kan fölet utsöndra virus under första veckan i livet. Vid en studie med Ab4 där två av sju föl föddes levande började fölen inte utsöndra virus förrän dag fyra respektive fem efter födseln vilket betyder att dessa föl blev smittade först efter födseln. Placantan som kom med fölen innehöll däremot EHV-1 (Gardiner et al., 2012). Det finns kopplingar mellan infektion av EHV och andra reproduktiva störningar som aborter orsakade av bakterier eller för tidig separation av placenta, men det är oklart om de andra reproduktiva störningarna är en konsekvens av infektionen eller predisponerar för den (Marenzoni et al., 2013).

Respiratorisk infektion

Infektion av unga naiva hästar

Primär replikation sker i mukosans epitel i den övre respiratoriska delen, lytisk skada följer av epitelcellerna. Nasopharynx tros vara den viktigaste delen där replikation sker (Sutton et al.,

1998). EHV-1 kan upptäckas i övre luftvägarna timmar efter exponering hos föl, med tecken på celllys (Sutton et al., 1998). Detta följs av att viruset vandrar till respiratoriska lymfknotor där det förökar sig och orsakar viremi (Noakes et al., 2009; Reed och Toribio, 2004). Typiska symtom av viruset hos unga hästar som ej har immunitet emot viruset är pyrexia, förändrat allmäntillstånd, inaptens och näsflöde (Wilsterman et al., 2011; Slater et al., 1994). Symtomen kan persistera i 10-12 dagar efter inokulation (Slater et al., 1994). Det kan utvecklas en sekundär bakterieinfektion med fler symtom (Reed och Toribio, 2007). Vid en experimentell infektion av ponnyföl sågs det en statistiskt signifikant minskning av leukocyter i blodet tredje dagen efter inokulation jämfört med dag 0 som primärt verkade orsakas av neutropeni men värdena av monocyter och neutrofiler var ändå normala för föl i denna åldersgrupp (Sutton et al., 1998).

Infektion av dräktiga ston

De flesta dräktiga ston som infekteras har endast subkliniska symtom som oftast ej förvarnar om abort (Noakes et al., 2009). Vid en experimentell infektion av 5 dräktiga ston visade alla milda luftvägssymtom en vecka efter infektion med mukoida näsflöden, anorexi och slöhet (Smith et al., 1996). Det anges inte om dessa ston var smittade innan men eftersom de kom ifrån en avelsanläggning är det troligt att flera var det. Det hade funnits utbrott av EHV-1 med enstaka ston som visat neurologiska symtom före abort. Dessa ston var smittade med den neuropatogena formen av viruset men alla ston som aborterar av den neuropatogena formen har inte neurologiska symtom innan (Fritsche och Borchers, 2010).

Viremi

Viremi sker genom att EHV-1 infekterar leukocyter. Det har funnits olika uppgifter om vilka celler som EHV-1 primärt finns i vid viremi. Man har påvisat att viruset kan finnas i CD4+, CD8+, B-lymfocyter och monocyter *in vivo* (Wilsterman et al., 2011). I en studie av 1-åringar fann man att CD4+ populationen var minst infekterad och CD8+-lymfocyter och B-lymfocyter var mest infekterade (Wilsterman et al., 2011). *In vitro* har viruset främst infekterat B-celler och monocyter (Yeo et al., 2013). Det kan dock finnas andra faktorer än antal infekterade celler som kan påverka hur viruset sprids från leukocyter till endotel som påverkar hur viktiga olika celler är (Wilsterman et al., 2011). Vissa dendritiska celler (DCs) kan infekteras av EHV-1 *in vitro* för att sedan möjligen aktivera T-celler som då blir produktivt eller latent infekterade. DCs kan vara viktiga för transport av virus till andra delar av kroppen vid viremi (Siedek et al., 1999).

Latens

Liksom vid viremi finns det olika uppgifter om den viktigaste platsen för latens och reaktivering hos EHV-1.

Latens i immunceller

Enligt Allen et al. (2008) vid en studie av 132 vuxna fullblodsston från ett stuteri i Kentucky är de lymfknotor som dränerar respirationsorganen en viktig vävnad för latens. Detta mättes med "sequence capture" PCR som skall vara mer känslig än konventionell PCR. EHV-1 fanns i de submandibulära lymfknutorna hos 54 % av fullblodsstona. Vid en studie där man

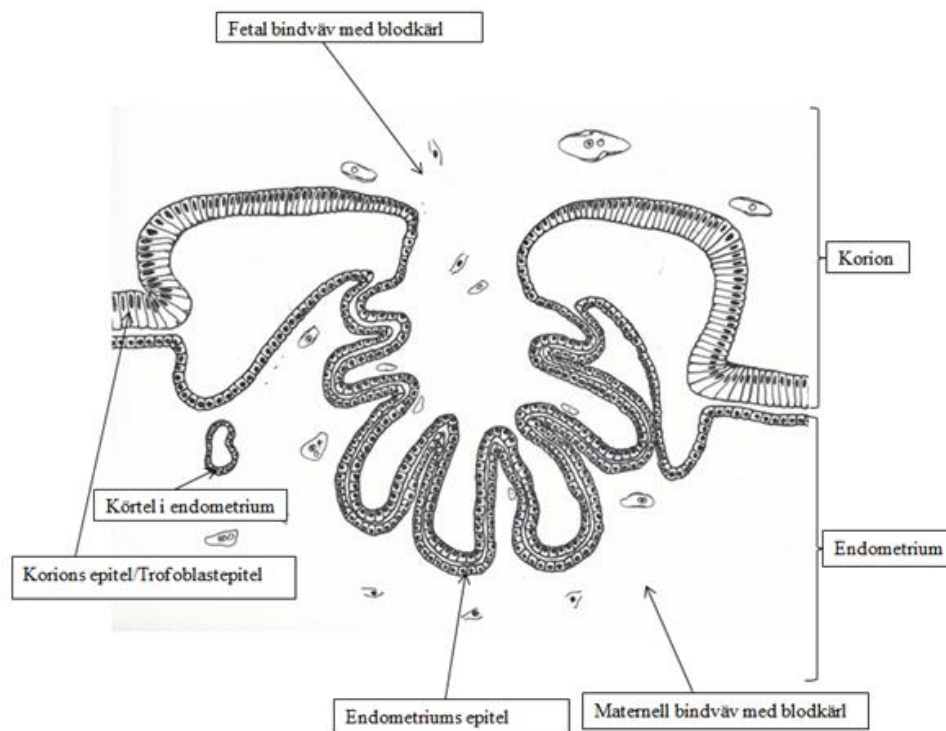
reaktiverade latent infekterade celler *in vitro* har man främst funnit reaktivering av EHV-1 i CTL/CD8⁺ (Ca 80 %) och minst i CD5⁺/CD8⁻/CD4⁻ (ca 20 %) i venöst blod. Detta tolkades som att det motsvarade fördelningen av latent virus i lymfocyterna samt att T-lymfocyter är den primära platsen för latens (Smith et al., 1998). Vid en annan studie av ponnyfölar som troligen var naiva, gjordes PCR-analys och odling virus av ifrån flera vävnader. Latens fanns då i främst i lymfvävnad som dränerade de övre luftvägarna, särskilt de peribronkiala lymfknutorna. Latens i de peribronkiala lymfknutorna tyder på tropism för T-lymfocyter (Welch et al., 1992).

Latens i nervceller

Enligt en studie där 6 naiva ponnyfölar infekterades med EHV-1 påvisades det att EHV-1 är neurotropt och EHV-1 kan reaktiveras ifrån trigeminal ganglion (Slater et al., 1994). Viruset har enligt studien även latens i lymfvävnad, luftvägar, PBMCs (peripheral blood mononuclear cells) samt andra vävnader men bara begränsad möjlighet att reaktiveras därifrån, viruset kunde bara påvisas i dessa vävnader genom PCR. Vid kokultivering (en typ av virusodling) gick det bara att isolera viruset ifrån nasala epitelet och trigeminal ganglia. Teorin behöver dock undersökas genom fler studier (Slater et al., 1994).

Reaktivering av latent virus

Viruset kan reaktiveras hos stressade ston och kan då trigga abort (Noakes et al., 2009; van Maanen et al., 2000). Vid experimentell infektion av ponnyfölar har man kunnat reaktivera latent infektion genom dexametason och cyclofosamid som båda är immunnedsättande (Slater et al., 1994).



Figur 2. Uppbyggnaden av ett normalt mikrokotyledon. Korions villi tränger här in i endometrium. Körtlar i uterus utsöndrar sekret i små områden mellan mikrokotyledon.

Tabell 1. Fynd av virus i olika vävnader vid obduktion av foster och sto

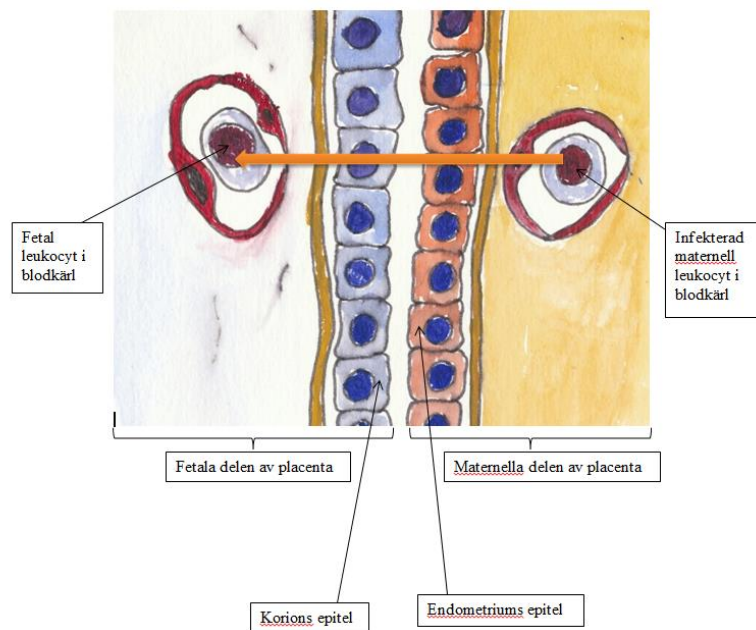
Vävnader (Se figur 2, 3, och 4)	Fynd och undersökningsmetoder	
	Antigen med hjälp av Immunohistokemi	DNA med hjälp av in situ hybridization
Fetala membran	Trofoblastceller i varierande grad	Trofoblastceller, särskilt korions villi. Epitelceller till fosterhinnorna
Immunceller	Intravaskulära monocyter. Intravaskulära makrofager i allantois Monocyter mellan villus	Perivaskulära och intravaskulära monocyter och lymfocyter i fetala delen av placenta.
Celler i kärlvägg	Endotelceller i korions villi Myocyter och endotelceller i endometriums arterioler Blodkärl i amnion	Myocyter och endotelceller i endometriums arterioler. Endotelceller i mikrokotyledon. Endotelceller i korions villi
Körtlar		Cellulärt debris i endometriums körtlar
Debris		Områden nära infarkter av mikrokotyledon, celler i nekrotisk debris
Foster		Hepatocyter och endotelceller i levern. Endotelceller i Mjälten

Infektion av foster och placenta

Tidsintervall

Det passerar en tidsperiod mellan infektion/reakivering, viremi och abortering. 90 % av aborterna sker 60 dagar efter infektion. Tid från infektion till abort kan sträcka sig 14-120 dagar (Noakes et al., 2009).

Olika vägar för spridning från endometrium till foster och/eller fosterhinnor



Figur 3. Uppbyggnaden av placentabariär hos häst. Stora molekyler kan normalt inte passera barriären. Den brandgula bilden visar hur viruset måste passera för att infektera fetala leukocyter.

Passage av leukocyter genom trofoblastepitel

Infekterade monocyter från endometrium passerar genom korions epitellager, sedan sprids viruset vidare genom smitta från cell till cell. Bara ett litet antal viruspartiklar tros ha möjlighet att passera genom de fetala membranerna på detta sätt och infektionen sprids därför långsamt från endometrium till placenta. Viruset hinner då nå placentas underliggande lager innan placentaseparation sker (Szeredi et al., 2003). Till exempel, vid fyra fall visade placenta vid analys med immunohistokemi ett mönster med antigen, bara i enstaka trofoblastceller som täckte villi och ibland i kryptorna. Många myocyter, endotelceller och intravaskulära monocyter i blodkärlen var däremot positiva. Oftast var antigenpositiva cellerna jämnt fördelade i de fetala membranerna. Dessa fynd styrker att viruset sprids genom passage av leukocyter (Szeredi et al., 2003). Att virus-DNA fanns i relativt små mängder i de leukocyter som hade ansamlats runt kärnen och att inget DNA fanns i dessa celler på den maternella sidan i en del andra fall tyder på att ansamlingarna är en reaktion från immunsvaret, snarare än ackumulering av infekterade leukocyter. Detta tyder på att överföring av virus via leukocyter, inte spelar en viktig roll (Smith och Borchers, 2001). Vid en annan studie av 7 aborterade foster sågs leukocyter som passerade placenta sällan, varken viralt antigen eller genom fanns i dessa leukocyter. Däremot fanns mycket RNA från viruset i trofoblaster samt epitelceller som täcker allantokorions villi i hos alla foster (Mukaiya et al., 2000).

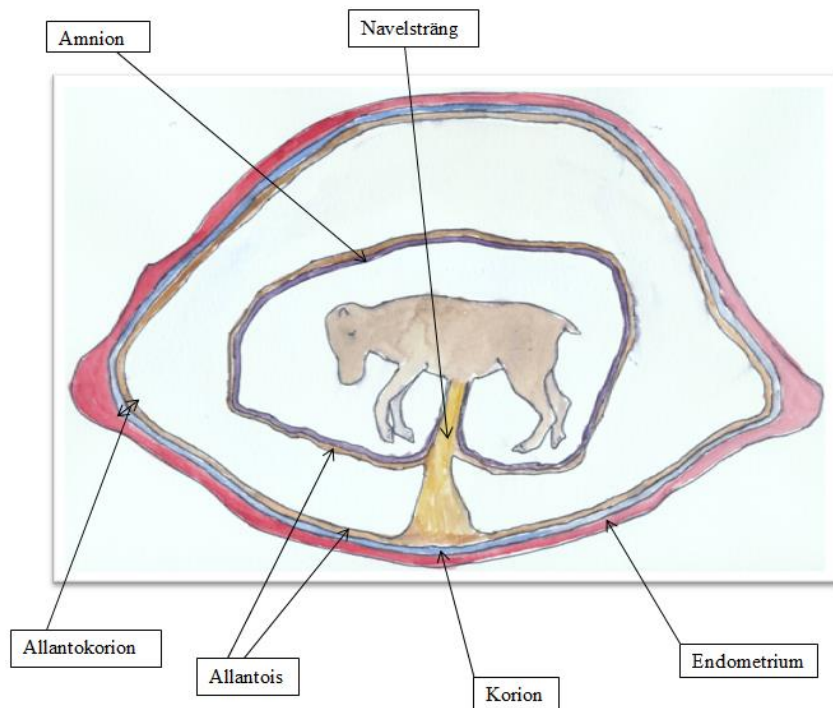
Virus frigörs genom infarkter i endometrium

Viruset når placenta direkt genom infarkter i endometrium med vaskulit och lysering av endotelceller. Stora mängder virus når då trofoblasterna. Till exempel, i ett fall påvisades antigen genom immunohistokemi i majoriteten av trofoblastcellerna, antigen fanns hos denna häst i avstötta, nekrotiska celler men bara ibland i intravaskulära monocyter och intravaskulära makrofager i allantois (Szerdi et al., 2003). Enligt Gerst et al. (2003) är EHV-1 endoteliotropt. Viruset lokaliserades även i korions villi, endotel i stroma och epitel i trofoblaster. Fynd av virus i nekrotisk debris runt mikrokotyledon påvisar att infarktorna gör att virus kan infektera trofoblastepitel (Smith och Borchers, 2001).

Andra möjliga spridningsvägar

Det har även funnits fynd av virus i endometriums körtlar, som töms direkt på trofoblastcellernas yta. Detta visar på en annan, parallell väg för den transplacentala spridningen (Smith and Borchers 2001). En annan möjlig spridningsväg är från cell till cell, ifrån endotelceller i mikrokotyledonens kapillärer till trofoblaster (Smith och Borchers 2001).

Figur 4 Normala fosterhinnor och endometrium i genomskärning hos häst



Abort utan infektion av foster

Infektion av foster krävs inte för att abort ska ske

och det finns atypiska fall av abort orsakad av EHV-1 då detta inte sker. I en post mortemstudie av 6 atypiska EHV1-aborter hade det skett en onormal separation av placenta hos alla fall. I två fall fanns fragment av endometrium som hade stötts ifrån uterus, i ett av dessa fanns vaskulit i endometrium. Det frånstötta endometriedelarna tros bero på infarkter i endometrium. Det fanns en del annat som var ovanligt med de atypiska aborterna. I ett av fallen fanns en annan skada med torsion av navelsträngen som orsakade aborten och i ett annat fall visade stoet koliksymtom och pyrexia innan abort. Artikeln spekulerar om samband mellan abort av EHV1 och andra abortorsaker som att viruset kan läcka in om placenta separeras (Smith et al 2004).

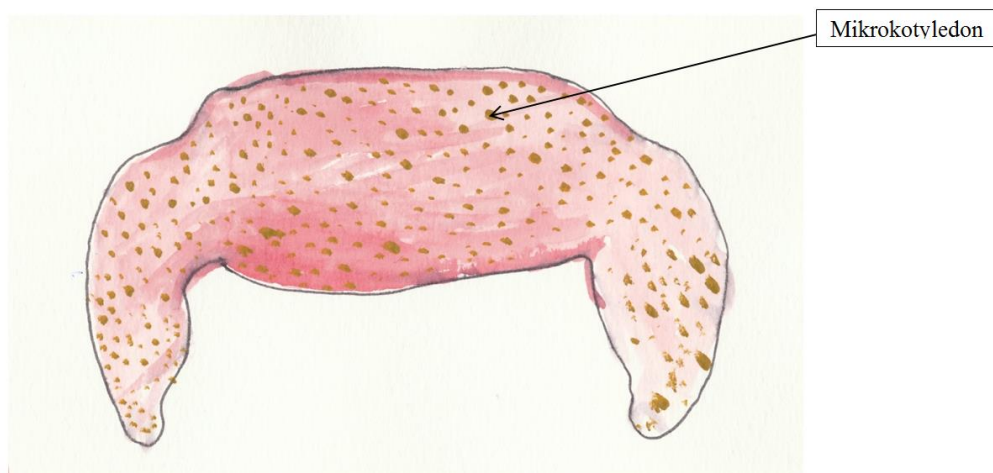
Lesioner och fynd av virus i vävnader samt tolkningar av dessa

Tabell 2. Obduktionsfynd hos kastade foster och placenta

Organ	Obduktionsfynd
Lever- Primärt målorgan	Hepatocellulär nekros. Fokala hepatiska nekroser. Eosinofila intranukleära inklusionskroppar (Patognomiskt). Viss infiltration av makrofager. Mild lymfotisk periportal hepatit. Mild mononukleär portal hepatit.
Respirations- organ- Primärt målorgan	Fokala hepatiska nekroser. Eosinofila intranukleära Inklusionskroppar (Patognomiskt) i bronkiolernas epitelceller, Alveolara epitelceller och alveolara makrofager. Haemorrhage i alla organ. Nekrotiserande bronkopneumoni. Akut, diffus bronkointerstitiell pneumoni med ödem, fibrinexsudation och fokala haemorrhage Interstitiell pneumoni. Syncytiala jätteceller och nekrotisk debris i bronkiala lumina.
Lymfoida organ	Förstorad mjälte. Reaktiv follikulär hyperplasi i mjälten. Eosinofila intranukleära inklusionskroppar i mjälten (Patognomiskt). Lymfocytolys. Sönderfallande och nekrotisk thymus.
Placenta och fosterhinnor (Se figur 2,3 och 4)	Serös placenta Ikterus av placentamembran. Onormal separation av placenta. Mild, multifokal, neutrofil korionit. Vaskulär nedbrytning. Förhöjning av korions epitel som täcker mikrokotyledon. Infekterade korionceller som förlorar kontakt med basallamina, lossnar, bildar debris mellan villi. Infarkter och vaskulit i mikrokotyledon med nekrotisk debris. Proliferation av trofoblastceller med intracytoplasmatisk vakuolisering. Vakuolisering av cytoplasman i allantois endotelceller Ödem, fibrin, fibrös förtjockning, cystor, nekros, områden med avsaknad av villi i fosterhinnor
Bukhålan	Vätska i peritoneum
Njurar	Perirenala ödem.
Binjurar	Nekros i zonula gloerulosa och zonula fasciculata.

Förekomst av virus och känslighet i metoder

Hur mycket antigen som man har funnit i olika celler har varierat mellan olika fall och olika studier. Antigen eller arvs massa finns inte alltid i fostret eller i placenta vid obduktion. Vid en post mortem studie av placenta och aborterade foster ifrån 49 ston där EHV var diagnosticerat varav 46 var EHV-1 analyserades virusförekomst i olika vävnader. PCR visade att 84 % av placentorna hade EHV-1 DNA samt att 10 % hade EHV-4 DNA. Analys av foster visade att 94 % var positiva för EHV-1 DNA och 6 % var positiva för EHV4 DNA. Immunohistokemi av PCR-positiv placenta hade relativt låg sensitivitet för detektion av EHV-1. Flera metoder bör användas för att undvika falskt negativt svar vid diagnosticering av EHV-1 (Gerst et al., 2003).



Figur 4 Fosterhinnor sedda från utsidan. Hästen har så kallad diffus placenta med områden som kallas mikrokotyledon där korions villi tränger in i endometrium.

Tillbakahållning av replikation i placenta

Vid en studie av Mukaiya et al. (2000) fanns virala antigen ej i placenta, vilket kan tyda att virus smittar från endometrium till den fetala cirkulationen och replikationen i placenta trycks tillbaka. Däremot fanns mycket RNA från viruset i trofoblaster samt epitelceller som täcker allantokorions villi i hos alla foster (Mukaiya et al., 2000). Även i en annan studie fanns det endast små mängder virus-DNA i trofoblastepitel hos placenta (Smith och Borchers, 2001).

Separation av placenta

En möjlighet är att vaskulära skador påverkar uterus mukosa, detta styrs möjligen av prostaglandinutsöndring (Smith et al., 2004).

Trombos

Mekanismen för hur trombos kan utvecklas vid EHV-1 infektioner har inte etablerats. En hypotes är att viruset inducerar prokoagulativ aktivitet genom uttryck av "tissue factors" (TF) i monocyter. TF triggar den initiala fasen av koagulationen *in vivo*. Vid en *in vitro* studie kunde ekvina monocyter inducera prokoagulativ aktivitet hos monocyter som medierades av uttryck av TF-genen (Yeo et al., 2013). Viruset inducerade prokoagulativ aktivitet genom en process i

två steg: 1: Den initiala bindningen eller upptaget av virus till cellen, detta inducerade den största delen av aktiviteten. 2: Virus-replikation, detta krävdes för maximal aktivitet. Svaret var dosrelaterat, det vill säga högre infektionsdos ger högre prokoagulativ aktivitet. Signalvägen som viruset använder för att uttrycka TF i cellen är ej känd. Det är möjligt att viruset utnyttjar värdens immunförsvar för att replikeras och då inducerar TF eller att den prokoagulativa aktiviteten är en normal reaktion av immunförsvaret emot viruset. Nivåerna av prokoagulativ aktivitet var extra höga en timme efter infektion. Detta tyder på att EHV-1 kan inducera att TF släpps ut från intracellulära områden där TF förvaras som golgi eller endosomer eller uttryck av TF på cellytan (Yeo et al., 2013). Det är dock bara trombos i vissa kärl som brukar ses vid EHV1-infektion, kärl som arteriolerna i nasala mukosan, kärl i CNS och arterioler i placenta. Detta tyder på att det måste finnas fler faktorer som inducerar trombosen och som gör att den ses i just dessa kärl (Yeo et al., 2013).

Sammanfattad patogenes

Som sammanfattning kan man säga att EHV-1 är ett virus som är mycket utbrett och oftast ej orsakar stora skador förutom i fall av abort och neurologisk sjukdom. Det finns många olika faktorer som påverkar hur viruset går ifrån första smittan till att infektera foster och/eller placenta. EHV-1 orsakar först förkylningssymtom och viremi. Viruset kan sedan ha latens i olika vävnader och reaktiveras vid stress. För att spridas till livmodern måste viruset infektera leukocyter i blodet. Spridning från livmoder till fosterhinnor kan ske genom flera vägar. En väg är genom att infekterade leukocyter passerar genom korions epitellager, en annan väg är genom infarkter och infektion av endotelet i endometrium som leder till att EHV-1 infekterar trofoblaster. Om viruset angriper fostret kommer lever, lungor och flera andra organ hos fostret att skadas. Abort kan även orsakas utan att fostret infekteras, genom skador i placenta.

Andra viktiga egenskaper hos EHV-1

Skillnader på infektion i tidig och sen dräktighet

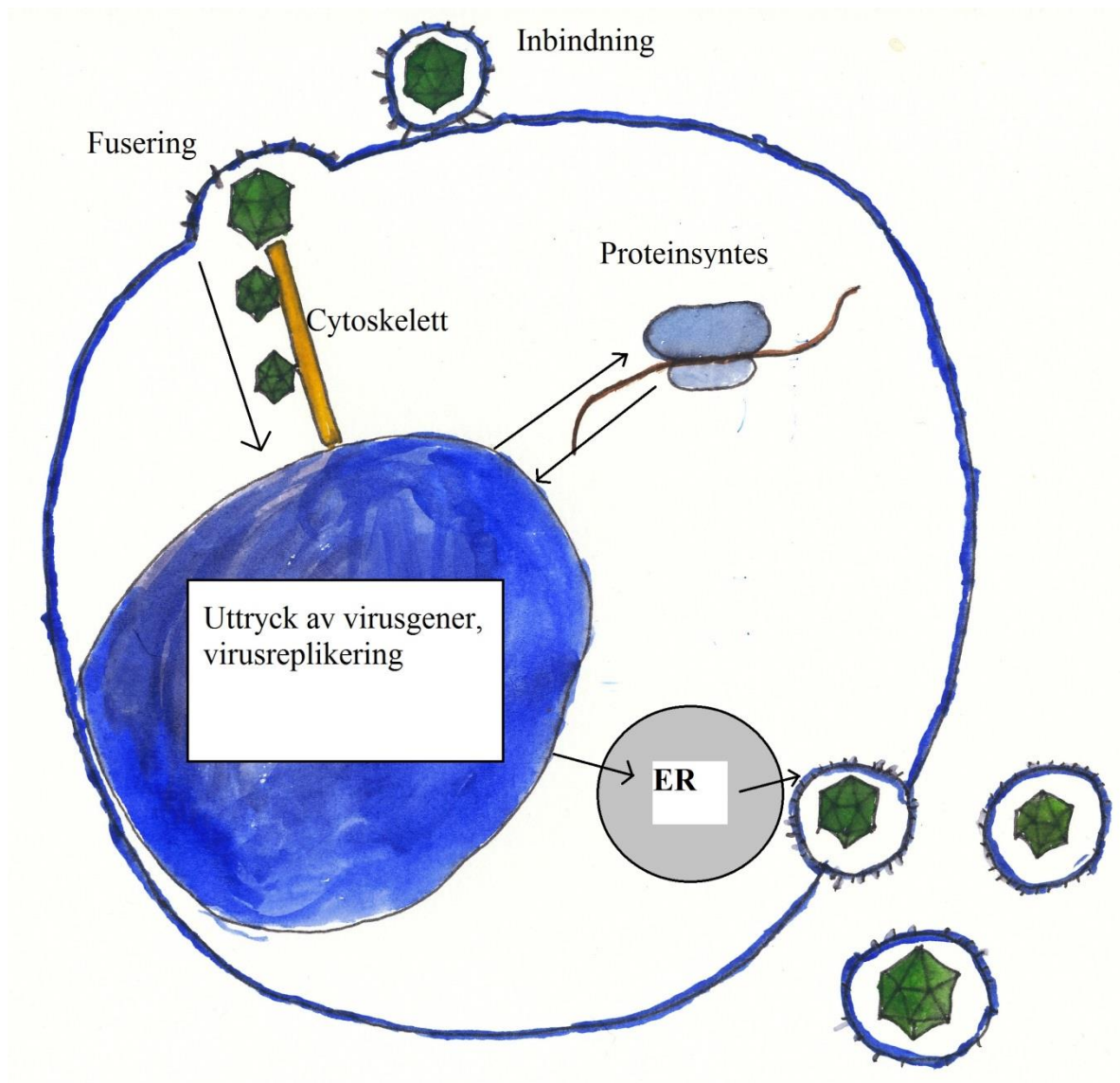
Trots att ston vanligen aborterar av EHV-1 sent i dräktigheten förekommer det även tidigare aborter i femte månaden (Noakes et al., 2009). 5 ponnyston inokulerades med viruset 3-5:e månaden i dräktigheten och 6 ponnyston inokulerades 9 månader in i dräktigheten i en studie för att studera varför ston i sen dräktighet är mer mottagliga. Hästarna avlivades när de var dräktiga och föl, placenta och sto obducerades.

Tabell 3. Lesioner vid obduktion efter experimentell infektion av dräktiga ston

Vävnader	Månader in i dräktigheten (Antal ston)		
	3 månader (4 ston)	5 månader (1 sto)	9 månader (5 ston)
Endometrium	Mikrokotyledon delvis degenererade hos 2 ston med mukoid vätska i cup depressions. Diffust utspridda lymfocyter, haemosiderophager och plasmaceller i stroma. Bildade ibland aggregat runt körtlar och venuler. Mild lymfocytisk vaskulit eller ansamling av leukocyter runt kärl hos 2 ston. Sällsynta fynd av murala, ej ocklusiva fibrintrombi. Vaskulit och nekros hos vissa arterioler hos ett sto.	Avstötning av endometrial cups med fibrös ärrvävnad i det dräktiga uterushornet. Frekvent lymfohistiocytisk vaskulit och ansamlingar av leukocyter runt kärl i endometrium och myometrium. Fibrinoid nekros. Ibland trombos. Ödematöst endometrium, kongestion. Svullna endotelceller med fynd av viralt antigen.	Perivaskulära ansamlingar av leukocyter. Vaskulära skador. Virala antigen i myocyter och endometriums arterioler.
Placenta	Primär och sekundär förgrening hos villi i korion	Utveckling av mikrokotyledon, men i mindre grad än normalt.	Infarkter i mikrokotyledon, kopplade till trombos i endometriums arterioler. Ansamling av leukocyter runt kärl
Foster, allantokorion, amnion	Inga betydande lesioner	Inga betydande lesioner eller uttryck av viralt antigen	Antigen i lever och lungor, se tabell 2 för mer om skador hos föl.

På grund av liten mängd försöksdjur kunde man ej uppnå statistiskt signifikant resultat genom t-test när man jämförde grupperna av ston, istället användes så kallad "principal components analysis" (PCA). Resultaten påvisade att vaskulära förändringar och uttryck av virala antigen i endotelceller sker i mindre grad om stoet infekteras i tidig dräktighet jämfört med om hon infekteras i sen dräktighet. Detta trots att inkubationstiden är densamma. Tromboser var också mycket ovanliga i den tidiga dräktigheten. Att livmodern i tidig dräktighet verkar ha ett bättre försvar emot EHV-1 måste bero på 1: Specifika immunologiska eller endokrina effekter som påverkar antalet infekterade arterioler och 2: Ej specifika effekter som beror på placentabariärens anatomi och de mekanismer som uppehåller dräktigheten (Smith et al., 1996). De små vaskulära förändringar som finns hos de ston som var i tredje månaden kan troligen ej leda till transplacental infektion eller abort, men det är möjligt att viruset hade orsakat mer skada senare i dräktigheten om viruset blir latent och sedan reaktiveras igen (Smith et al., 1996). Fynd hos de ston som var i dräktighetens nionde månad finns i en tidigare studie av Smith et al. (1992 och 1993). Uppgifterna i tabellen är hämtade ifrån en annan studie av Smith och Borschers (2001) där fynd hos 5 av de 6 stona beskrivs. Det är möjligt att resultaten har påverkats av att proven var mindre färska i den senare studien.

Infektion av cellen



Figur 5. Förenklad bild av hur herpes simplex virus, ett annat α -herpesvirus infekterar celler. Mekanismen är lik EHV-1.

Protein på cellen och virusets yta

Liksom andra α -herpesvirus kräver EHV-1 gD (glykoprotein D) och GAG:s på cellytan för att effektivt kunna ta sig in i en cell (Frampton Jr et al., 2005). En okänd receptor tros vara medierande när EHV-1 tar sig in i cellen. Denna receptor är inte lik någon av de tidigare identifierade α -herpesvirusreceptorerna. EHV-1 har bredare värdspecificitet än EHV-4 i odlingar. Att EHV-1 har en annan homolog av gD än EHV-4 har visat sig vara orsaken till att EHV-1 har en annan cell tropism, men det är osäkert om detta är orsaken till att patogeniciteten skiljer sig mellan dessa två virus (Whalley et al., 2007).

Mikrotubuli och dynein

När EHV-1 infekterar en cell använder sig viruset av nätverket av mikrotubuli och den negativa delen av motorproteinet dynein som finns i cellen (Frampton Jr et al., 2010). Viruset

kan på detta sätt transportera sig intracellulärt till nukleus där det replikeras. Frampton Jr et al. (2010) presenterar två modeller för intracellulär trafik:

Den direkta modellen: Nukleokapsiden binder till dynein via virusets kapsid eller tegumentprotein, detta kan bara ske efter att virusets hölje har fuserats helt med cellens plasmamembran eller endosommembranet.

Den indirekta modellen: Viruset transporteras i en endosom och ett protein eller komplex hos endosomen interagerar med dynein. När viruset är nära nukleus kommer viruset att fusera och släppas ut ur endosomen.

Den direkta modellen ses som mest trolig, men även den indirekta är möjlig. Vilken modell som används kan vara beroende av celltyp. I ett *in vitro* test visade det sig att viruset använder sig av en ej klassisk väg med endocytos eller phagocytos för att ta sig in i CHO (chinese hamster ovary)-K1 celler men fuserar direkt med cellmembranet för att komma in i andra celler som ED (equine dermal) celler och RK13 (Rat kidney) celler (Frampton Jr et al., 2010). EHV-1 inducerar stabilisering av mikrotubuli genom acetylering tidigt efter infektion. Det är oklart om acetyleringen krävs för virustransport (Frampton Jr et al., 2007).

Kinaser

Inhibering av tyrosinkinaser inhiberar effektiv infektion med EHV-1 vilket tyder på att cellulära kinaser har en roll i produktiv infektion. Eftersom infektion av både CHO-K1 och ED celler hindras och dessa tar in viruset initialt på skilda sätt antas det infektionen blockeras efter det att viruset har kommit in i cellen. Rho kinas, ROCK1, är viktigt för intracellulär trafik av EHV-1 (Frampton Jr et al., 2010). Inhibering av denna kinas reducerar signifikant EHV-1 infektion (Frampton Jr et al., 2007). När ROCK1 inhiberas kommer antalet kapsider som ackumulerar vid nukleus att minska (Frampton Jr et al., 2010). Det är möjligt att ROCK1 krävs för att mediera reaktion mellan virus och mikrotubuli och/eller komponenter i cytoskelettet eller att ROCK1 krävs för att virusets hölje ska fusera med cellmembranet. ROCK1 regleras negativt av små GTP-bindande protein som hör till Ras. Även RhoE kan inhibera kinasaktiviteten hos ROCK1. Det är inte klart hur viruset startar kaskadreaktionen, en teori är att viruset binder till integriner på cellytan och triggar signalvägen (Frampton Jr et al., 2007).

Påverkan av hormoner och cytokiner

Infektion av endotelceller i endometrium

In vitro med flödessystem har infektion av endotel ej kunnat ses om inte leukocyter binder till endotelet (Smith et al., 2002). Överföring av EHV-1 i leukocyter kräver uttryck av molekyler som krävs för adhesion av leukocyter hos endotelet. Dessa molekyler måste vara aktiverade före det att viruset infekterar endotelcellen (Smith et al., 2002). Adhensionsmolekyler (AMs) kunde med hjälp av flödessystemet *in vitro* induceras i venösa och arteriella kärl från uterus, äggstockar, arteria carotis communis och kärl i mesenteriet. Förmågan att uttrycka AMs tros vara en utbredd egenskap hos endotelceller men måste aktiveras av rätt mediatorer. Artikelförfattarna har i tidigare forskning visat att AMs uppreglas *in vivo* i hästens

reproduktionsorganets kärl under dräktighet. De reagenter som inducerade AMs *in vitro* var equine chorionic gonadotropin (eCG) som utsöndras av fetala celler och 17- β östradiol, en viktig form av östrogen, vilket stämde in på hypotesen att AMs induceras vid dräktighet i reproduktionsorganets kärl (Smith et al., 2002). Andra mediatorer som inducerade AMs var cytokiner eller mediatorer som inducerar cytokiner. Alltså ämnen som är kopplade till inflammation som ses i nasala mukosan vid EHV-1 infektion (Smith et al 2002).

Reaktivering av latent virus genom eCG och IL-2

Hormonet equine chorionic gonadotrophin (eCG) som det utsöndras mycket av vid tidig dräktighet kan aktivera latent EHV-1 (Smith et al., 1998) *in vitro*. Det antas att endometriums mikromiljö kommer att ha högre nivåer av eCG än andra vävnader. Den mekanism som eCG använder sig av för att reaktivera är okänd. Det kunde påvisas att eCG ej är mitogen och ej beroende av IL-2 för att verka (Smith et al., 1998). Även IL-2 kunde reaktivera EHV-1 *in vitro*. Både IL-2 och eCG aktiverade EHV-1 indirekt, när det bara odlades en typ av leukocyter separat skedde ingen reaktivering. Resultaten tydde även på att både IL-2 och eCG binder till receptorer på monocyter och kan genom dessa aktivera latent virus i CD3+ lymfocyter, det mest troliga är att viruset reaktiverades av IL-1 från monocyter men teorin testades inte. Många andra mediatorer än IL-1 kan också vara möjliga (Smith et al., 1998).

Smitta och smittskydd

Utsöndring av virus hos föl och ston

En experimentell studie har gjorts hos ponnyer som var 3-4 månader vid infektion av Ab4. Utsöndring av virus från den nasala mukosan av Ab4 pågick 11 dagar efter infektion, virus hade slutat utsöndras från mukosan 16 dagar efter infektion (Slater et al., 1994). Utsöndring vid experimentell reaktivering som gjordes 8-10 veckor senare började 4 dagar efter reaktivering och fortsatte i 10 dagar (Slater et al., 1994). En annan studie (Welch et al., 1992) av 6 månader gamla ponnyer visade virus vid nasala svabbprov hos alla ponnyer upp till 4 dagar efter infektion och sporadiskt upp till 12 dagar efter infektion. Vid experimentell infektion av dräktiga ston fann man virus i nasopharynx upp till 5 dagar efter infektion (Smith et al., 1996).

Fallbeskrivningar av utbrott

Vid ett utbrott av EHV-1 på en anläggning med avelshästar och sporthästar i södra Tyskland spreds viruset från ett stall med avelsston till närliggande stall med sporthästar i anläggningen (Walter et al., 2013). Man fann inga kliniska symtom i ett stall som befann sig 50 meter bort där hästarna hanterades av annan personal. Unghästar i ett stall som låg 500-1000 meter bort och hanterades av andra personal visade inte heller kliniska symtom. Man mätte dock ej feber hos unghästarna. Utbrottet började med att ett avelssto aborterade sitt föl vilket följdes av att fler hästar insjuknade och fler ston aborterade. Bidragande faktorer till att smittan kunde spridas tros här vara många ovaccinerade sporthästar och mycket trafik av hästar till och från anläggningen utan karantän för sporthästarna. Avelsstona var däremot vaccinerade men smittan spreds trots det ibland dem. Stallet med avelsston sattes i karantän från det att första stoet aborterade men man kunde ej isolera avelsstona ifrån varandra. Ett annat utbrott av abort

i Nederländerna 1991 tros ha startat med latent EHV-1 hos ett dräktigt sto som hade reaktiverats av transportstress och spridit sig till andra hästar (van Maanen et al., 2000). I detta fall var det 42 hästar som hade transporterats en lång väg och introducerats i en ny anläggning, 21 av dem hölls separat från andra hästar och varav dessa var 12 dräktiga ston. 7 av de 12 stona aborterade och 1 födde ett föl som dog efter 8 dagar, 4 av fölen undersöktes och diagnosticerades med EHV-1.

Råd om smittskydd

Enligt Noakes et al. (2009) ger blandade åldrar i grupper ökad risk och det är bra att separera unga hästar från dräktiga ston. Det är även bra att skilja förstagångsfödare från flergångsfödare och skilja ston som är i olika stadier i dräktigheten. Nya djur ska ej blandas med dräktiga ston.

Immunsvaret emot EHV-1

Antikropsvar

Under 1960 och 50-talet utvecklades metoder för att mäta serumantikroppar som hade VN (virusneutraliserande) och CF (complement fixerande) egenskaper *in vitro*. Man demonstrerade serokonversion av både CF och VN antikroppar som beräknades starta 2 veckor efter infektion vid EHV-1 infektion (Kydd et al., 2006). VN-antikroppar finns kvar upp till ett år efter infektion emedan CF-antikroppar inte brukar finnas kvar längre än 3 månader efter infektion. VN-antikroppar är specifika emot antingen EHV-1 eller EHV-4 och angriper primärt glykoprotein B (gB) och glykoprotein C (gC). EHV-1 kan starta ett lokalt antikropsvar i mukosan vid intranasal infektion (Brethnach et al., 2001). Specifika IgA är den viktigaste antikroppen som utsöndras i näshålan. Detta visades vid infektion av 5-7 månader gamla föl som tidigare hade blivit vaccinerade (Brethnach et al., 2001). Vaccinationen skedde inte enligt samma metod som rekommenderas för dräktiga ston utan olika typer av vaccin gavs till olika föl. Vissa föl hade högre nivåer av IgG under en kort period vilket man tror berodde på utsöndring av specifika serumantikroppar som avtog när det respiratoriska epitelet restaurerades. Antikropsvaret avtog efter några veckor men perioden kunde förlängas med upprepade stimulering (Brethnach et al., 2001).

IFN γ

IFN γ tros produceras av ekvina T-lymfocyter vid infektion med EHV-1 och vara en del av immunförsvaret emot viruset. Vid en *in vitro* studie av blod från 6 ponnys producerade CD5+ T-lymfocyter och cytotoxiska T-lymfocyter (CTL) mer IFN γ efter infektion än före infektion, när cellerna stimulerades med EHV-1 (Brethnach et al., 2005). Utsöndring av IFN γ från B-lymfocyter förändrades inte. Ökningen av specifika IFN γ kopplades till ökningen av CTL efter infektion.

Immunitet och vaccin

Immunitet

Immunitet emot återinfektion varar 3-6 månader efter infektion (Kydd et al., 2006). De flesta vuxna ston har klinisk immunitet emot respiratorisk sjukdom (Noakes et al., 2009). Vid en *in*

vivo studie sågs minskning i virusspecifika svar efter 19-22 veckor vilket tyder på att immuniteten efter infektion är kortvarig och avtar efter ca 4-6 månader (Siedek et al., 1999).

Effekt av vaccin

Det rekommenderas att vaccinera ett dräktigt sto 5, 7 och 9 månader in i dräktigheten (Noakes et al., 2009). Olika typer av vaccin och vaccinationsstrategier har testats och det finns motsägelsefulla uppgifter om hur pass effektiv vaccinering är (Kydd et al., 2006). Sammantaget är det inte ovanligt att vaccinerade ston aborterar sina foster. Vid ett fall av utbrott på en anläggning i Tyskland 2009 aborterade 7 av 8 ston som hölls i samma stall och var i sen dräktighet (Walter et al., 2013). Detta trots att alla ston var vaccinerade enligt rekommendationer. I detta fall rörde det sig om utbrott av både den neuropatogena och den icke neuropatogena formen av viruset (Kydd et al., 2003).

Cytotoxiska T-lymfocyter

CTL tros vara viktiga för hästens försvar emot EHV-1. Ston som har höga nivåer av CTL som är specifika för EHV-1 har ökat skydd emot aborter. Man har påvisat en skillnad i nivåerna av CTL före infektion mellan 3 grupper, 1: Ston som har vaccinerats med inaktiverat virus enligt rekommendationer, 2: ston som har varit experimentellt infekterade fyra gånger under en period av fyra år och 3: en kontrollgrupp med okänd infektionshistoria, varav många troligen hade infekterats förut, då latent EHV-1 är vanligt i hästpopulationen (Kydd et al., 2003). Ston i alla dessa grupper var dräktiga, 32-42 veckor in i dräktigheten när de infekterades. Grupp 3 hade lägst CTL-frekvens och de i grupp 2 hade högst medan grupp 1 hade medelhögt. Det var även en skillnad på CTL-nivåer före infektion hos de ston som aborterade och de som födde fölet levande. 3 veckor efter infektion kunde man också se en skillnad i CTL-nivåer mellan de ston som sedan aborterade och de som födde levande föl. Det är osäkert utifrån studien om enbart vaccinationen kan ha orsakat minskad risk för abort då flera av de vaccinerade hästarna tros ha haft en infektion tidigt i dräktigheten före den experimentella infektionen som kan ha påverkat senare immunsvaret. En slutsats som studien drog var att den tidiga infektionen hos de vaccinerade djuren troligen stimulerade minnes-CTL och tillsammans med vaccinationen bidrog detta till att stona ej aborterade. Troligen är antalet tidigare infektioner av EHV-1 en viktig faktor i att avgöra hur mycket minnes-CTL en häst har. Nivåerna av CTL som är specifika för EHV-1 minskade under en period av 6 månader om de inte stimulerades med andra antigen (Kydd et al., 2003).

Virusstammar

Skillnader i virusgenetik mellan stammar av viruset

Neuropatogen och ej neuropatogen stam skiljer sig åt genom att neuropatogen har guanin på position 2254 i ORF30 (gen för virusets DNA-polymeras). Den neuropatogena stammen har istället adenin på samma position. Det rör sig om så kallad "single nucleotide polymorphism" (SNP). När nukleotiderna byts ut leder det till att aminosyran N (Aspargin) byts ut emot D (Asparginsyra) på position 752, virusen kan då betecknas som N752 (Ej neuropatogen) eller D752 (Neuropatogen)(Tewari et al., 2013). Även en annan mutation har funnits hos EHV-1 i en del aborterade foster, adenin kan bytas ut emot cystein på position 2258 vilket leder till att

aminosyran tyrosin ersattes med serin på position 753. Denna förändring betecknas C2258 och kan påverka virusets funktion men det är ännu ej klart hur (KL Smith et al., 2010). En studie av isolat från 66 aborterade foster i Tyskland hade också fynd med G2254 och C558 i samma virus (Fritsche och Borchers, 2010).

Förekomst av olika stammar

Vid en studie av 21 aborterade foster var 9,6 % av virusen G2254 och 90,4 % var A2254 (Tewari et al., 2013). En studie av virusisolat från 426 aborterade foster från 1950-talet till 1990-talet visade på en liknande fördelning, 8,9 % var ej neuropatogena och 89,4 % neuropatogena. Resten var falskt negativa eller feldiagnosticerade. Hos hästar med myeloepati var däremot G2254 betydligt vanligare än A2254 (Tewari et al., 2013). Det var ingen skillnad i hur pass allvarliga lesionerna som fostren hade, beroende på vilken stam som hade orsakat aborten (Tewari et al., 2013). Det har påvisats en ökning av den neuropatogena stammen hos latent infekterade fullblodsston i centrala Kentucky från 1960-talet till 1990-talet, men viruset förekom i populationen redan på 1950-talet. Det anges ej om detta resultat kan överföras på andra hästpopulationer men det är möjligt att det kan ha negativa konsekvenser för hästindustrier i framtiden om ökningen fortsätter (Smith et al., 2010).

Latens och reaktivering av olika stammar

Vid en studie av isolat från 419 EHV-1 positiva foster fanns inga bevis för samtidig infektion av A2254 och G2254, detta tyder på att samtidig reaktivering av de båda stammarna antingen ej är möjlig, eller är mycket ovanlig (Smith et al., 2010). Vid en annan studie av fullblodsston i Kentucky var 13 av 71 latent infekterade hästar positiva för neuropatogen stam, av dessa 13 var 11 även positiva för latent abortogen stam. Det är alltså möjligt för vuxna ston att ha två latent infektioner samtidigt (Allen et al., 2008).

Stammar som används i studier

Ab4 är namnet på en stam av EHV-1 som isolerades för ungefär 30 år sedan ifrån ett sto som var förflamat. Denna stam har används i experimentella studier av abort och har visat sig kunna orsaka respirationssjukdom, abort och neurologisk sjukdom vid experimentell infektion (Gardiner et al., 2012). Ab4 tillhör den neuropatogena varianten. Olika stammar kan ha olika patogenitet trots att de båda tillhör den neuropatogena varianten. Vid en studie av dräktiga ston som infekterades experimentellt visade det sig att Ab4 orsakade fler aborter än den neuropatogena stammen OHO3 som hade isolerats 2003 (Gardiner et al., 2012). En *in vitro* studie av prokoagulativ aktivitet inducerad hos monocytter visar att stammen RacL11 ger mer prokoagulativ aktivitet än Ab4 (Yeo et al., 2013).

Diskussion

Grundfrågeställningen om hur EHV-1 orsakar aborter har i det stora hela besvarats av denna litteraturstudie. Det finns dock en hel del motsägelsefulla uppgifter ifrån olika studier samt detaljer som ej är klarlagda.

EHV-1 är ett virus som finns i en stor del av hästpopulationen, hur pass stor del av hästpopulationen det rör sig om är inte helt utrett. Det är troligt att det finns ett mörkertal av aborter orsakade av EHV-1 eftersom alla aborterade foster ej skickas till obduktion och det finns inga specifika symtom som ston visar innan abort som gör att just EHV-1 antas vara orsaken. Dessutom kan andra problem som för tidig placentaseparation ha EHV-1 som bidragande orsak utan att det anges. Tidigare blandades EHV-1 ibland ihop med EHV-4, därför kan en del äldre studier över EHV-1 egentligen vara studier av både EHV-1 och EHV-4. I framtiden om bättre och känsligare metoder utvecklas för att diagnosticera EHV-1 kan vi få en bättre överblick över antalet latent bärare och hur vanlig EHV-1 är som abortorsak.

Skillnader i patogenicitet mellan olika virus verkar inte heller vara helt kända. Skillnader i hur patogena olika virus vid experimentella infektioner är skulle delvis kunna förklaras med försöksdjurens mottaglighet och livskraftigheten hos virusstammarna. Men även egenskaper hos virus, som den mutation där adenin kan byts ut emot cystein på position 2258 kan påverka virusets egenskaper. Det behövs vidare forskning i detta område. Om Ab4 skiljer sig på flera sätt ifrån andra virus kan det vara så att de studier som har gjorts med Ab4 ej kan överföras till alla fall av EHV-1 i fält. Det kan också vara så att tester ibland är falskt negativa för EHV-1 som har en mutation som ej tidigare är känd, alla fall av EHV-1 blir då inte rätt diagnosticerade. Stammarna G2254 och A2254 kan båda orsaka aborter, det som skiljer sig åt är hur ofta man har funnit virusstammarna vid obduktion av foster. Det kan vara så att A2254 har någon egenskap som gör att stammen är extra abortogen. Eller så kan variationen enbart bero på att A2254 är vanligare och G2254 har egentligen lika stor eller större förmåga att orsaka abort. Ab4 som har använts i de flesta studier är G2254 och har visat sig effektivt orsaka aborter.

Alla studier som tas upp i denna artikel över smitta är fallrapporter ifrån utbrott i fält. Det är svårt att dra någon definitiv slutsats om smitta och smittskydd emot EHV-1 då många andra faktorer som rapportering och hästarnas mottaglighet kan påverka. Isolering av sjuka djur och att sjuka och friska djur hanteras av olika personal verkar minska risken för smittspridning. Det tyder på att viruset kan spridas via kläder, redskap och händer hos människor men att det ej kan transporteras via luften långa sträckor. Vaccination verkar inte ha någon negativ effekt på smittspridning i de fall som tas upp. Om viruset kan reaktiveras lätt vid stress, som transportstress är detta en orsak till att karantän av nya hästar är viktigt. Alla fall av EHV-1 handlar inte heller om utbrott utan det rör sig även om sporadiska fall då enbart enstaka hästar insjuknar. Varför leder EHV-1 ibland till utbrott på en anläggning och ibland bara till enstaka sjukdomsfall? Det skulle kunna förklaras med typ av anläggning, vilken form av viruset det rör sig om och resistens hos hästarna på anläggningen. Det har inte gått att hitta uppgifter om hur länge ett infekterat sto sprider smitta till andra hästar. Att man ofta inte ens märker att ett sto är sjukt förrän hon aborterar och att tiden mellan infektion och abort varierar kraftigt gör nog att detta kan vara svårt att veta.

Det vore intressant att veta mer om immunsvaret hos dräktiga ston, de flesta studie som har gjorts av immunsvaret har varit hos ej dräktiga hästar. Det har ej gått att hitta någon större studie över om vaccin emot EHV-1 ger en statistiskt signifikant minskning i aborter. Hos de studier där vaccinationsstatus hos försöksdjuren ej har angetts angavs inte heller vaccinationsstatus i studien eller studiepopulationen var en blandning av vaccinerade och ej vaccinerade djur. Upprepad stimulering av immunförsvaret, särskilt CTL emot EHV-1 verkar kunna öka resistensen emot viruset och förlänga immuniteten men bara vaccinering i sig räcker inte för fullt skydd. Att latent virus är så vanlig i hästpopulationen men det ändå har ses relativt få fall av virusaborter tyder på att de flesta hästar har bra försvar emot klinisk sjukdom av EHV-1. För att öka skyddet emot EHV-1 vore det bra att fokusera på aktivering av CTL eftersom de spelar en så stor roll i immunsvaret.

Det verkar ha gjorts fler studier av klinisk bild och patogenes vid första infektion hos unga hästar än dräktiga ston. Utifrån symtomen kan man anta att dräktiga ston har en sjukdomsutveckling med infektion av näshålan som liknar den hos unghästar men är mindre allvarlig. Det vore intressant att veta vilka skillnader som finns i till exempel spridning till lymfknotor och utveckling av viremi för att veta mer om hur infektionen leder till abort.

Ökad kunskap om vilka egenskaper som krävs hos viruset och hos cellen för att EHV-1 ska kunna infektera skulle kunna leda till ökad kunskap om patogenes och utveckling av vaccin emot EHV-1. Just nu verkar det vara mycket i detta ämne som ännu är oklart. Om det kunde påvisas skillnader i hur olika virusstammar infekterar celler skulle det också ge mer kunskap om vilka vävnader som infekteras av viruset.

Uppgifter ifrån *in vitro* studier skiljer sig ifrån uppgifter ifrån *in vivo* studier när det gäller vilka celler som infekteras vid viremi. Det kan finnas flera faktorer i hästens kropp som påverkar vilka celler som infekteras, alla dessa går ej går att återskapa *in vitro*. Därför blir resultaten olika. Uppgifterna om infektion av DCs kommer bara ifrån endast en studie, det vore intressant att se fler studier som kunde visa mer om hur stor roll DCs spelar i viremi.

När det gäller latens fanns det fler studier som pekar på primär latens i immunceller än i nervceller. Flera studier pekar på lymfknotor som dränerar de övre luftvägarna som en viktig plats för latens och att viruset har tropism för T-lymfocyter. Enbart en studie fanns som pekar på primär latens i trigeminala ganglion. Studien var ifrån 1994 och endast 6 hästar var med i den. Å andra sidan anges det ej i många andra studier om man har testat förekomst av latent virus i trigeminala ganglion. α -herpesvirus brukar i allmänhet vara neuroropa så primär latens i lymfvävnad är en avvikelse. Slater et al. (1994) utgår i sitt resonemang ifrån att virus ifrån lymfvävnad ej går att isolera från lymfvävnad genom kokultivering och detta är därför ingen viktig vävnad för latens. DNA från EHV-1 har funnits i många olika vävnader, så att man enbart finner DNA i en vävnad behöver ej vara ett tecken i sig på att viruset har latens och kan reaktiveras därifrån. Kokultivering av virus ifrån lymfvävnad har dock kunnat göras i senare studier. Trigeminala ganglion är troligen en plats för latens men hur pass viktig den är är oklart.

Det reaktiverande hormonet eCG utsöndras mycket i tidig dräktighet men abort brukar ske i sen dräktighet, så en fråga är om viruset alltid infekterar i tidig dräktighet och hur det går till om det väntar till sen dräktighet innan det orsakar abort.

Vid sammanställningen av lesioner hos föl var en del fynd var mer vanliga och andra sågs sporadiskt. Ett mönster som upprepade var dock skador i lungor, lever och mjälte. Uppgifterna i tabell 1 och 2 kommer ifrån artiklar som har publicerats sen flera år tillbaka. Det kan vara så att bättre detektionsmetoder som har utvecklats på senare år har lett till fler fynd i olika vävnader. Kanske har för små delar av fosterhinnor och placenta analyserats i vissa fall och vissa lesioner har missats. En väg som beskrivs i en studie för infektion placenta och foster beskriver hur infekterade monocyter infekterar korion, men tidigare artiklar om förekomst i immunceller visar att EHV-1 förekommer relativt sällan i monocyter *in vivo*. Det anges inte varför man tror att det är just monocyter som sprider infektionen till korion och om infekterad T-lymfocyter i så fall har någon roll i infektionen av placenta. Det har funnits monocyter med virusantigen så det är helt klart möjligt att denna infektionsväg används. Det finns andra studier som inte beskriver skillnader mellan de två olika vägarna lika tydligt, men där infektion genom lymfocyter ses som en möjlighet. Så troligen kan denna väg egentligen gälla för olika typer av leukocyter. Många studier visar fler fynd som tyder på att en väg är mer vanlig. Flera vägar kan förekomma men om någon av dem är mer viktig är oklart. Det verkar inte finnas en enhetlig patogenes för hur viruset orsakar abort utan flera olika vägar. Olika vägar kanske kan variera beroende på omständigheter, det vill säga ej kända faktorer. Exempel på sådan faktor skulle kunna vara olika immunsvaret emot viruset, olika fysiologi eller olika virusstammar. Det skulle behövas mer forskning med studier av många foster och placenta där man kunde ta reda på hur pass vanliga olika typer av fynd är för att få en bättre överblick över patogenesen.

Ett problem med många artiklar var att de handlade om små studiepopulationer, ibland så små att resultaten ej var statistiskt signifikanta. Det var också ofta stora variationer mellan försöksdjuren i ålder, vaccinationsstatus med mera. Därför är det ofta svårt att veta hur säkert man ska ta enskilda studier. Det är av praktiska och etiska skäl svårt att göra stora experimentella studier av EHV-1 men det kanske skulle gå att veta mer genom en större fältstudie med till exempel blodprov och nässvabbsprov ifrån smittade hästar och undersökning av fler aborterade foster. En viktig framgång vore om det utvecklades ett vaccin emot viruset som fungerar bra.

Referenser

Allen, G.P., Bolin, D.C., Bryant, U., Carter, N., Giles, R.C., Harrison, L.R., Hong, C.B., Jackson, C.B., Poonacha, K., Wharton, R. & Williams, N.M. (2008) Prevalence of latent, neuropathogenic equine herpesvirus-1 in the Thoroughbred broodmare population of central Kentucky. *Equine veterinary journal*, vol. 40, ss 105-110. Tillgänglig: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2746/042516408X253127/abstract> [2014-03-30]

Breathnach, C.C., Yeagan, M.R., Sheoran, S. & Allen, G.P. (2001) The mucosal humoral immune response of the horse to infective challenge and vaccination with Equine herpesvirus-1 antigens. *Equine Veterinary Journal*, vol. 33, ss 651-657. Tillgänglig: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2746/042516401776249318/abstract> [2014-03-31]

Breathnach, C.C., Soboll, G., Suresh, M. & Lunn, D.P. (2005) Equine herpesvirus -1 infection induces IFN-gamma production by equine T lymphocyte subset. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 103, ss 207-215. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242704002697> [2014-03-31]

Frampton Jr, A.R., Goins, W.F., Cohen, J.B., von Einem, J., Osterrieder, N., O'Callaghan, D.J. & Glorioso, J.C. (2005) Equine Herpesvirus 1 Utilizes a Novel Herpesvirus Entry Receptor. *Journal of Virology*, vol. 79, ss 3169-3173. Tillgänglig: <http://jvi.asm.org/content/79/5/3169>

Frampton Jr, A.R., Stolz, D.B., Uchida, H., Goins, W.F., Cohen, J.B. & Glorioso, J.C. (2007) Equine Herpesvirus 1 Enters Cells by Two Different Pathways, and Infection Requires the Activation of the Cellular Kinase ROCK1. *Journal of Virology*, vol. 81, ss 10879-10889. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2045510/> [2014-03-30]

Frampton Jr, A.R., Uchida, H., von Einem, J., Goins, W.F., Grandi, P., Cohen, J.B., Osterrieder, N. & Glorioso, J.C. (2010) Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) utilizes microtubules, dynein, and ROCK1 to productively infect cells. *Veterinary microbiology*, vol. 141, ss 12-21. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113509003575> [2014-03-30]

Fritche, A.-K & Borchers, K. (2010) Detection of neuropathogenic strains of Equine Herpesvirus 1 (EHV-1) associated with abortions I Germany. *Veterinary microbiology*, vol. 147, ss 176-180. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113510003160> [2014-03-30]

Gardiner, D.W., Lunn, D.P., Goehring, L.S., Chiang, L.S., Cook, C., Osterrieder, N., McCue, P., Del Piero, F., Hussey & S.B. Hussey, G.S.(2012)

Strain impact on equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion models: Viral loads in fetal and placental tissues and foals. *Vaccine*, vol. 30, ss 6564-6572. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X1201239X> [2014-03-31]

Gerst, S., Borchers, K., Gower, S.M. & Smith, K.C. (2003) Detection of EHV-1 and EHV-4 in placental sections of naturally occurring EHV-1 and EHV-4-related abortions in the UK: use of the placenta in diagnosis. *Equine Veterinary Journal*, vol. 35, ss 430-433. Tillgänglig: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2746/042516403775600451/abstract> [2014-03-30]

Gunilla Blomqvist, Erika Chenais, Helena Eriksson, Linda Ernholm, Jenny Frössling, Gittan Gröndal, Gunilla Hallgren, Anders Hellström, Cecilia Hultén Désirée Jansson, Elina Lahti, Eva Osterman Lind, Ann Lindberg, Ylva Lindgren, Maria Nöremark, Veronika Rondahl, Therese Råsbäck, Henrik Uhlhorn, Helle Unnerstad, Karin Persson Waller, Per Wallgren, Kerstin de Verdier, Dolores Gavier Widén, Stefan Widgren, Ulrika Windahl, Erik Ågren, Estelle Ågren (2012) *Sjukdomsrapportering 2011* (SVA:s rapportserie 23 ISSN 1654-7098) Uppsala: Sveriges veterinärmedicinska anstalt: Enheten för sjukdomskontroll och smittskydd [2014-03-30].

Hebia-Fellah, I., Léauté, A., Fiéni, F., Zientara, S., Imbert-Marcille, B-M., Besse, B., Fortier, G., Pronost, S., Mischczak, 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*, vol. 71, ss 1381-1389. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X09000272> [2014-03-30]

Kydd, J.H., Townsend, H.G.G. & Hannant, D.(2006) The equine immune response to equine herpesvirus-1: The virus and its vaccines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 111, ss 15-30. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242706000146> [2014-03-30]

Kydd, J.H., Watrang, E. & Hannant, D. (2003) Pre-infection frequencies of equine herpesvirus-1 specific, cytotoxic T lymphocytes correlate with protection against abortion following experimental infection of pregnant mares *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 96, ss 207-217. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242703001867> [2014-03-30].

Léon, A., Fortier, G., Fortier, C., Freymuth, F., Tapprest, J., Leclercq, R. & Pronost, S. (2008) Detection of equine herpesvirus in aborted fetuses by consensus PCR *Veterinary Microbiology*, vol. 126, ss (20-29).

Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811350700315X> [2014-03-30]

Marenzoni, M.L., Bietta, A., Lepri, E., Proietti, P.C., Cordioli, P., Canelli, E., Stefanetti, V., Coletti, M., Timoney, P.J. & Passamonti, F. (2013) Role of equine herpesvirus as co-infecting agents in cases of abortion, placental disease and neonatal foal mortality. (2013)*Veterinary Research Communications*, vol. 37, ss 311-317
Tillgänglig: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11259-013-9578-6> [2014-03-30]

Mukaiya, R., Kimura, T., Ochiai, R., Wada, R. & Umemura, T. (2000) Demonstration of Equine Herpesvirus-1 Gene Expression in the Placental Trophoblasts of Naturally Aborted Equine Fetuses *Journal of comparative pathology*, vol. 123, ss 119-125. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997500904018> [2014-03-30]

Noakes, DE, Parkinsson, TJ, & England, GCW (2009) *Veterinary Reproduction and Obstetrics* 9th Läggtill förlagsort och förlag

Reed, S.M. & Toribio, R.E. (2004) Equine herpesvirus 1 and 4. *Veterinary clinics: Equine Practice*, vol. 20, ss 631-642.
Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749073904000641> [2014-03-30]

Siedek, E.M., Whelan, M., Edington, N. & Hamblin, A. (1999) Equine herpesvirus type 1 infects dendritic cells in vitro: stimulation proliferation and cytotoxicity by infected dendritic cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 67, ss 17-32
Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242798002037> [2015-03-30]

Slater, J.D., Borchers, K., Thackray, A.M. and Field, H.J. (1994) The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse
Journal of General Virology, vol. 75, ss 2007-2016
Tillgänglig: <http://vir.sgmjournals.org/content/75/8/2007.full.pdf+html> [2014-03-31]

Smith, D., Hamblin, A. & Edington, N. (2002) Equid herpesvirus 1 infection of endothelial cells requires activation of putative adhesion molecules: an *in vitro* model. *Clinical and experimental Immunology*, vol. 129, ss 281-287.
Tillgänglig: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2249.2002.01463.x/pdf> [2014-03-30]

Smith, D.J., Iqbal, J., Purewal, A., Hamblin, 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*, vol. 79, ss 2997-3004.
Tillgänglig: <http://vir.sgmjournals.org/content/79/12/2997.long> [2014-03-30]

Smith, K.C., Whitwell, K.E., Binns, M.M., Dolby, C.A., Hannant, D. & Mumford, J.A. (1992)

Abortion of virologically negative fetuses following experimental challenge of pregnant pony mares with equid herpesvirus-1. *Equine Veterinary Journal*, vol. 24, ss 256-259.

Smith, K.C., Whitwell, K.E., Mumford, J.A., Gower, S.M., Hannant, D. & Tearle, J.P. (1993) An immunohistological study of the uterus of mares following experimental-infection by equid herpesvirus-1. *Equine Veterinary Journal*, vol. 25, ss 36-40.

Smith, K.C., Mumford, J.A. & Lakhani, K. (1996) A Comparison of Equid Herpesvirus-1 (EHV-1) Vascular Lesion in the Early versus Late Pregnant Equine Uterus. *Journal of Comparative Pathology*, vol. 114, ss 231-247. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001.21997596800454> [2014-03-30]

Smith, K.C. & Borchers, K.(2001) A Study of the Pathogenesis of Equid Herpesvirus-1 (EHV-1) Abortion by DNA In-situ Hybridization. *Journal of Comparative Pathology*, vol. 125, ss 304-310. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997501905134> [2014-03-30]

Smith, K.L., Allen, G.P., Branscum, A.J., Cook, R.F., Vickers, M.L., Timoney, P.J. & Balasuruya, U.B.R. (2010) The increased prevalence of neuropathogenic strains of EHV-1 in equine abortions. *Veterinary Microbiolog*, vol. 141, ss 5-11. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113509003526>

Sutton, G.A., Viel, L., Carman, P.S. & Boag, B.L.(1998) Pathogenesis and Clinical Signs of Equine Herpesvirus-1 in Experimentally Infected Ponies in vivo. *Canadian journal of veterinary research*, vol. 62, ss 49-55. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189442/> [2014-03-30]

Sveriges veterinärmedicinska anstalt (2013-08-19) *Virusabort(EHV-1)* <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Hast/Avelsrelaterade-sjukdomar/?lid=25009> [2014-03-30]

Szeredi, L., Aupperle, H. & Steiger, K. (2003) Detection of Equine Herpesvirus-1 in the Fetal Membranes of Aborted Equine Fetuses by Immunohistochemical and In-situ Hybridization Techniques *Journal of Comparative Pathology*, vol. 129, ss 147-153. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997503000227> [2014-03-30]

Tewari, D., Del Piero, F., Cieply, S., Feria, Willard & Acland., H.(2013) Equine herpesvirus 1 (EHV-1) nucleotide polymorphism determination using formalin fixed tissues in EHV-1 induced abortions and myelopathies with real time PCR and pyrosequencing.

- Journal of Virological Methods*, vol. 193, ss 371-373. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016609341300253X> [2014-13-30]
- Van Maanen, C., Willink, D.L., Smeenk, L.A.J., Brinkhof, J. & Terpstra, C. (2000) An equine 1 (EHV-1) abortion storm at a riding school *Veterinary Quarterly*, vol. 22, ss 83-87. Tillgänglig: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01652176.2000.9695030#.UziA3fmqlsE> [2014-03-30]
- Walter, J., Seeh, C., Fey, K., Bleul, U. & Osterrieder, N.(2013) Clinical observations and managements of a severe equine herpesvirus type 1 outbreak with abortion and encephalomyelitis. *Acta Veterinaria Scandinavia*, vol. 55, ss 19. Tillgänglig: <http://www.actavetscand.com/content/55/1/19> [2014-03-30]
- Welch, H.M., Bridges, C.G., Lyon, A.M., Griffiths, L. & Edington, N.(1992) Latent equid herpesvirus 1 and 4: detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissues. *Journal of General Virology*, vol. 73, ss 261-268. Tillgänglig: <http://vir.sgmjournals.org/content/73/2/261.full.pdf+html> [2013-03-30]
- Whalley, J.M., Ruitenber, K.M., Sullivan, K., Seshardi, L., Hansen, K., Birch, D., Gilkerson, J.R. & Wellington, J.E. (2007) Host cell tropism of equine herpesvirus: glycoprotein D of EHV-1 enables EHV-4 to infect non-permissive cell line. *Archives of virology*, vol. 152, ss 717-725. Tillgänglig: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00705-006-0885-x> [2014-03-30]
- Wilsterman, S., Soboll-Hussey, G., Lunn, D.P., Ashton, L.V., Callan, R.J., Hussey, S.B., Rao, S. & Goehring, L.S.(2011) Equine herpesvirus-1 infected peripheral blood mononuclear cell subpopulation during viremia *Veterinary microbiology*, vol. 149, ss 40-47. Tillgänglig: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113510004773> [2014-03-30]
- Yeo, W.M., Osterrieder, N. & Stokol, T. (2013) Equine herpesvirus type 1 infection induces procoagulant activity in equine monocytes *Veterinary Research*, vol. 44, ss 16. Tillgänglig: <http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/16> [2014-03-30]

