

Hevosen herpes- ja arteriittivirusten  
aiheuttamien tartuntojen ennaltaehkäisy ja  
leviämisen hallinta

Susanna Routila

Lisensiaatintutkielma

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Mikrobiologian ja epidemiologian oppiaine

Helsingin yliopisto

2015



Tiedekunta - Fakultet - Faculty		Osasto - Avdelning – Department			
Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto			
Tekijä - Författare - Author					
Susanna Routila					
Työn nimi - Arbetets titel - Title					
Hevosen herpes- ja arteriittivirusten aiheuttamien tartuntojen ennaltaehkäisy ja leviämisen hallinta					
Oppiaine - Läroämne - Subject					
Mikrobiologia ja epidemiologia					
Työn laji - Arbetets art - Level		Aika - Datum - Month and year		Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages	
Lisensiaatintutkielma		12.1.2015		51	
Tiivistelmä - Referat – Abstract					
<p>Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on kuvata hevosen herpes- ja arteriittivirusten aiheuttaman taudin kliininen kuva, epidemiologia ja diagnostiikka sekä tarkastella näiden pohjalta tartuntojen ennaltaehkäisyn ja leviämisen hallinnan keinoja. Katsauksessa pyritään kuvaamaan toimintatapoja tämänhetkisessä tautitilanteessa sekä esittämään vaihtoehtoja tautitilanteen mahdollisesti muuttuessa tulevaisuudessa.</p> <p>Hevosen herpes- ja arteriittivirukset ovat maailmanlaajuisesti esiintyviä hevosten viruksia, jotka aiheuttavat tavallisimmin lieväoireisia hengitystietulehduksia nuorille hevosille. Molempien virusten taudinkuvaan voi lisäksi liittyä kantavien tammojen abortteja. Suomessa esiintyy vuosittain muutamia sekä herpes- että arteriittiviruksen aiheuttamia tautitapauksia.</p> <p>Herpesviruksista EHV4 (Equine Herpesvirus 4) on tavallinen nuorten, alle kaksivuotiaiden hevosten akuutin hengitystietulehduksen aiheuttaja. EHV1 (Equine Herpesvirus 1) voi hengitystieinfektion lisäksi aiheuttaa lopputiineenä oleville tammoille abortteja. Herpesviruksen aiheuttamista luomisista puhutaan kansankielessä usein virusaborttina. EHV1-infektion harvinaisena ilmenemismuotona tunnetaan lisäksi neurologisiin oireisiin johtava enkefalomyeliitti. Hevosen arteriittiviruksen aiheuttama tauti tunnetaan nimellä EVA (Equine Viral Arteritis). Hengitystieinfektio on tyypillisesti lieväoireinen, mutta voimakkaaseen kliiniseen kuvaan saattaa liittyä korkea kuume ja laaja-alainen turvotus. Kantavilla tammoilla infektio voi johtaa sikiön abortoitumiseen 3. tiineyskuukauden jälkeen.</p> <p>Herpes- ja arteriittivirukset leviävät hevosesta toiseen hengitystie-eritteiden ja abortoituneiden sikiöiden välityksellä. Molempien virusten epidemiologia asettaa lisäksi tautikontrolloinnille haasteita, sillä myös oireettomat hevoset voivat levittää virusta. Herpesviruksille on tyypillistä latentit eli piilevät infektiot, jolloin myös kliinisesti oireettomat eläimet toimivat viruksenlevittäjinä. Arteriittivirus voi jäädä pitkittyneesti eli persistoivasti oireettomien kantajaoriiden spermaan ja levitä astutuksen tai siemennyksen yhteydessä tammoihin.</p> <p>Sekä herpes- että arteriittivirusten hallinta perustuu ensisijaisesti talleilla tehtävään tautisuojaukseen. Viruksen leviämistä pyritään ennaltaehkäisemään esimerkiksi sijoittamalla riskiryhmään kuuluvat hevoset pieniin ryhmiin erilleen muista hevosista. Etenkin nuoret, kilpailuissa käyvät hevoset tulisi pitää erillään tiineinä olevista tammoista. Uudet tulokkaat tulisi eristää riittäväksi ajaksi.</p> <p>Monissa maissa, ei kuitenkaan Suomessa, on käytössä nuorille oreille tarkoitettu persistoivalta infektiolta suojaava arteriittivirusrokote. Herpesviruksia vastaan Suomessa on käytettävissä rokote, joka antaa osittaisen suojan. Rokotetta voidaan käyttää lieventämään taudin oireita sekä apuna tautikontrollinnissa vähentämään sairastuneiden hevosten viruseritystä ja sitä kautta muihin hevosiin kohdistuvaa tautipainetta. Herpes- ja arteriittivirusten torjunnassa on kuitenkin pidettävä mielessä, että rokotteet antavat ainoastaan lyhytkestoisien ja osittaisen suojan ja tallien tautisuojauksella on edelleen keskeinen rooli tautivastustuksen onnistumisessa.</p>					
Avainsanat - Nyckelord - Keywords					
herpesvirus, arteriittivirus, hevonen, virus, EHV, EAV, tautivastustus, luominen					
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited					
Eläinlääke- ja elintarviketieteiden talon (EE-talo) Oppimiskeskus					
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktör och ledare - Director and Supervisor(s)					
Johtaja ja ohjaaja: Professori Liisa Sihvonen Ohjaaja: Dosentti Liisa Kaartinen					

## SISÄLLYS

1 Johdanto	1
2 Hevosen herpesvirustartunnat	2
2.1 Yleistä herpesviruksista	2
2.2 Hevosen herpesvirukset	3
2.2.1 EHV1 (Equine Herpesvirus 1)	4
2.2.1.1 EHV1:n epidemiologia	
2.2.1.2 EHV1:n kliininen kuva	
2.2.1.3 Herpesvirusten patogeneesi ja patologiset löydökset	
2.2.2 EHV4 (Equine Herpesvirus 4)	7
2.2.2.1 EHV4:n epidemiologia	
2.2.2.2 EHV4:n kliininen kuva	
2.2.3 Herpesvirusten latenssi	9
2.3 Hevosen herpesvirustartuntojen diagnostiikka	10
2.3.1 Näytteenotto virustutkimuksia varten	11
2.3.2 Herpesviruksen osoitus PCR-menetelmällä	12
2.3.2.1 PCR-menetelmän toimintaperiaate	
2.3.2.2 PCR herpesvirusten diagnostiikassa	
2.3.3 Serologiset tutkimukset herpesvirusdiagnoosiikassa	13
2.3.3.1 Neutralisaatiomenetelmän periaate	
2.3.3.2 ELISA-menetelmän periaate	
2.3.3.3 Serologiset tutkimukset herpesvirusdiagnoosiikassa	
2.4 Herpesvirusten esiintyminen	15
2.4.1 Herpesvirusten esiintyminen maailmalla	15
2.4.2 Herpesvirusten esiintyminen Suomessa	16
3 Hevosen arteriittivirustartunnat	18
3.1 Yleistä arteriviruksista	18
3.2 Hevosen arteriittivirus	19
3.2.1 EAV:n epidemiologia	20
3.2.1.1 Oriiden persistoivat infektiot	

3.2.2 EAV:n kliininen kuva	23
3.2.3 EAV:n patogeneesi ja patologiset löydökset	24
3.3 Hevosen arteriittivirustartuntojen diagnostiikka	25
3.3.1 Näytteenotto virustutkimuksia varten	26
3.3.2 Arteriittiviruksen osoitus PCR-menetelmällä	26
3.3.3 Serologiset tutkimukset arteriittivirusdiagnoosissa	27
3.4 Arteriittivirusten esiintyminen	27
3.4.1 EAV:n esiintyminen maailmalla	27
3.4.2 EAV:n esiintyminen Suomessa	28
4 Herpes- ja arteriittivirustartuntojen ennaltaehkäisy ja leviämisen hallinta	30
4.1 Hevosten väliset kontaktit	30
4.1.1 Herpesviruskontrollin erityispiirteet	31
4.1.2 Arteriittiviruskontrollin erityispiirteet	31
4.2 Rokottaminen	33
4.2.1 Rokotetyypit	33
4.2.1.1 Elävät heikennetyt virusrokotteet	
4.2.1.2 Inaktivoidut virusrokotteet	
4.2.1.3 Uuden sukupolven rokotteet	
4.2.2 Rokotevaikutuksen tehostaminen	35
4.2.3 Rokottaminen hevosen herpesvirusinfektioita vastaan	35
4.2.3.1 Käytössä olevat herpesvirusrokotteet	
4.2.3.2 Kehitteillä olevat herpesvirusrokotteet	
4.2.3.3 Rokotusohjelma hevosen herpesvirusinfektioita vastaan	
4.2.4 Rokottaminen hevosen arteriittivirusinfektioita vastaan	40
4.2.4.1 Käytössä olevat arteriittivirusrokotteet	
4.2.4.2 Kehitteillä olevat arteriittivirusrokotteet	
4.2.4.3 Rokotusohjelma hevosen arteriittivirusinfektioita vastaan	
5 Pohdinta	44
6 Lähdeluettelo	47

## 1 JOHDANTO

Hevosen herpes- ja arteriittivirukset ovat maailmanlaajuisesti esiintyviä hevosten viruksia, jotka aiheuttavat tavallisimmin lieväoireisia hengitystietulehduksia. Molempien virusten taudinkuvaan voi lisäksi liittyä kantavien tammojen luomisista. EHV-infektion harvinaisena ilmenemismuotona tunnetaan myös neurologisia oireita aiheuttava enkefalomyeliitti. Herpesviruksen aiheuttamista luomisista puhutaan yleisesti virusaborttina; arteriittiviruksen aiheuttama tauti tunnetaan nimellä EVA (Equine Viral Arteritis). Virukset leviävät hevosesta toiseen hengitystie-eritteiden ja abortoituneiden sikiöiden välityksellä, minkä lisäksi arteriittivirus voi levitä oireettomien kantajaoriiden sperman mukana tammoihin. Suomessa esiintyy vuosittain muutamia sekä herpes- että arteriittiviruksen aiheuttamia tautitapauksia.

Molempien virusten epidemiologia asettaa lisähaasteita tautikontrollinnille, sillä oireettomat mutta virusta kantavat hevoset levittävät virusta. Sekä herpes- että arteriittiviruksen hallinta perustuu ensisijaisesti talleilla tehtävään tautisuojaukseen, jossa viruksen leviämistä pyritään ennaltaehkäisemään esimerkiksi ryhmittelemällä riskiryhmään kuuluvat hevoset erilleen muista hevosista. Herpesviruksia vastaan Suomessa on lisäksi käytettävissä infektiolta osittain suojaava rokote; arteriittivirusta vastaan Suomessa ei ole rokotetta.

Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on kuvata herpes- ja arteriittivirusten aiheuttaman taudin kliininen kuva, epidemiologia ja diagnostiikka sekä tarkastella näiden pohjalta tartuntojen ennaltaehkäisyn ja leviämisen hallinnan keinoja. Katsauksessa pyritään kuvaamaan toimintatapoja tämänhetkisessä tautitilanteessa sekä esittämään vaihtoehtoja tautitilanteen mahdollisesti muuttuessa tulevaisuudessa.

## 2 HEVOSEN HERPESVIRUSTARTUNNAT

### 2.1 Yleistä herpesviruksista

Herpesvirusten lahkoon (Herpesvirales) kuuluvia viruksia tunnetaan lähes kaikilta eläinlajeilta, nisäkäs- ja lintulajeista kaloihin ja selkärangattomiin. Herpesvirukset aiheuttavat monia tauteja, joiden oireet ilmenevät usein voimakkaimpina sikiöissä, vastasyntyneissä ja immuunipuutoksissa yksilöissä. Sairastumisten seurauksena on monesti taloudellisia menetyksiä. (Knowles 2011).

*Alpha-, beta- ja gammaherpesvirinae*-alalahkoista alphaherpesvirusten lahko on eläinlääketieteellisesti merkittävin. Alphaherpesvirukset jaetaan neljään sukuun: *simplexvirukset* (esim. ihmisen herpes simplex), *varicellovirukset* (esim. hevosen EHV1, EHV3 ja EHV4), *mardivirukset* (esim. linnun Marekin tauti) sekä *iltovirukset* (esim. linnun infektiivinen laryngotrakeiitti). (Knowles 2011).

Herpesvirukset ovat kaksijuosteisia DNA-viruksia (dsDNA), joiden nukleokapsidi on ikosahedran muotoinen ja jotka ovat läpimitaltaan vaihtelevia (120-250 nm). Niiden genomi on lineaarinen ja kooltaan 125-290 kbp. Genomia ympäröi kapseli, tegumentti ja lipoproteiinikuori. Virionin glykoproteiinit kiinnittyvät isäntäsolun reseptoriin, minkä jälkeen lipoproteiinikuori fuusioituu solumembraanin kanssa ja DNA siirtyy replikoitumaan tumaan. Transkriptio tapahtuu vaiheittain varhaisista myöhäisiin geeneihin ( $\alpha$ -,  $\beta$ - ja  $\gamma$ -geenit). (Knowles 2011).

Herpesvirukset eivät säily hyvin ympäristössä, ja eläimestä toiseen siirtyminen vaatiikin usein limakalvokontaktin esimerkiksi parittelun tai nuolemisen yhteydessä. Pisarakontakti lyhyiden matkojen päähän on myös mahdollinen, etenkin suotuisissa olosuhteissa. Tällaiset sopivat olosuhteet tarjoaa muun muassa kostea, viileä tai tuulinen ympäristö. (Knowles 2011).

Herpesvirukset aiheuttavat tyypillisesti paikallisia leesioita iholle ja hengitysteiden tai genitaalisen limakalvoille. Sikiöillä, vastasyntyneillä ja immuunipuutoksilla eläimillä

infektiot ovat usein vakavia ja niihin liittyy yleistyneitä nekroosimuutoksia eri puolilla elimistöä. (Knowles 2011).

Herpesvirustartuntoihin liittyy tärkeänä ominaisuutena latenssi eli persistoiva, subkliininen infektio, jossa virusta erittyy jaksoittaisesti tai jatkuvasti. Persistoivaa viruseritystä esiintyy kaikissa herpesvirusinfektioissa. Piilevän infektiovaiheen aikana genomi tuottaa ainoastaan eräitä latenssiin liittyviä proteiineja, jotka inhiboivat apoptoosia. Reaktivaatio on usein seurausta jostakin immuunipuolustusta alentavasta tekijästä, esimerkiksi glukokortikoidilääkityksestä tai kuljetukseen, ympäristöolosuhteisiin tai toisiin infektioihin liittyvästä stressistä. Piilevinä pysyvillä infektioilla on suuri merkitys tartuntojen leviämisen kannalta, sillä myös kliinisesti terveet tai hyvin lieväoireiset eläimet saattavat olla viruksenerittäjiä. (Knowles 2011).

## 2.2 Hevosen herpesvirukset

Hevoseläinten herpesviruksia tunnetaan kaikkiaan kahdeksan. Näistä taloudellisesti ja eläinlääketieteellisesti merkittävimpiä ovat hevosen EHV1 (equine herpes virus 1) sekä EHV4 (equine herpes virus 4). Kolmas hevosen alphaherpesvirus on venereaalisesti leviävä EHV3 (coital exanthema virus), joka aiheuttaa yleensä lieviä, ulseratiivisia leesioita ulkoisten genitaalien alueelle. Ihottuma paranee ilman hoitoa parissa viikossa, ja seuraukset hevostaloudelle aiheutuvatkin lähinnä astutusten viivästymisistä. Hevosen luonnollisiin herpesviruksiin lukeutuu myös kaksi gammaherpesvirusta, hengitystieoireita aiheuttavat EHV2 ja EHV5. Näiden lisäksi tunnetaan kaksi asinin herpesvirusta: AHV1 (asinine herpesvirus 1) ja AHV3 (asinine herpesvirus 3), joista edellinen on EHV3:n ja jälkimmäinen EHV1:n kaltainen. Ryhmän uusin tulokas on muun muassa gaseleista eristetty neurotrooppinen herpesvirus, EHV9. (Patel & Heldens 2004).

EHV1 ja EHV4 esiintyvät maailmanlaajuisesti hevospopulaatiossa endeemisenä (Patel & Heldens 2004). Niiden aiheuttamista tautimuodoista tavallisin on nuorten hevosten akuutti rhinotrakeiitti. EHV1 voi lisäksi aiheuttaa kantaville tammoille virusaborttia sekä vastasyntyneille varsoille kuolemaan johtavan taudin. Harvinaisena systeemisen

EHV1-infektion ilmenemismuotona tunnetaan neurologisia oireita aiheuttava enkefalomyeliitti. (Knowles 2011).

EHV1 ja EHV4 ovat geneettisesti hyvin lähellä toisiaan, ja niitä pidettiinkin samana viruksena vielä 1980-luvun alussa. Tästä ”EHV1”-viruksesta oli erotettu tosin jo aiemmin hengitysmuotoinen ja abortigeeninen alatyyppe, mutta serologiset ja patologiset tutkimukset eivät riittäneet paljastamaan kantoja kahdeksi eri virukseksi. Erillisinä viruksina niitä päädyttiin pitämään vasta virusgenomin sekvenssoinnin myötä. (Crabb & Studdert 1995).

## 2.2.1 EHV1 (Equine Herpes Virus 1)

### 2.2.1.1 EHV1:n epidemiologia

Lopputiineillä tammoilla EHV1:n aiheuttama infektiio saattaa johtaa sikiön abortoitumiseen. EHV1 on yleisin viraalinen abortin indusoija ja sillä on maailmanlaajuisesti suurin merkitys aborttitapausten aiheuttajana. Satunnaisesti abortoituneista sikiöistä on eristetty myös EHV4:ää. Luomistapaukset esiintyvät yleensä sporadisesti, mutta suuret aborttiepidemiatkin ovat mahdollisia jos useat tiineenä olevat tammat altistuvat infektiiviselle materiaalille. Alkuperäinen kantaja on usein vaikea löytää, koska epidemia voi puhjeta täysin suljetussakin laumassa. Virus leviää abortoituneiden sikiöiden sekä sikiökalvojen ja -nesteiden välityksellä. (Crabb & Studdert 1995).

EHV1-infektion harvinaisena muotona esiintyy enkefalomyeliittia. Tapaukset ovat yleensä yhteydessä abortti- tai rhinopneumoniittiepidemioihin. Epidemiologisesti on osoitettu, että neurologisten oireiden taustalla on usein tiettyjä EHV1-kantoja (Crabb & Studdert 2005, Knowles 2011). Myöhemmissä genomitutkimuksissa on löydetty geenimutaatio, joka on pystytty yhdistämään neurologiseen tautimuotoon. Tällä viruskannalla infektioituneiden hevosten riski sairastua myeloenkefalopatiaan kasvaa 162-kertaiseksi villityypillä infektioituneisiin verrattuna. Tämä geenimutaatio ei kuitenkaan selitä kaikkia enkefalomyeliittitapauksia, sillä mutaatiota ei ole lähes



neljänneksellä viruskannoista, jotka on eristetty neurologiseen tautimuotoon sairastuneista hevosista. (Pusterla ym. 2009).

Viime vuosikymmenellä USA:ssa ja Euroopan suurissa hevostalouksissa on herättänyt huolta neurologisten taudinpurkausten lisääntyminen. Vuosien 2001-2005 aikana USA:ssa ja Iso-Britanniassa todettiin yhteensä 32 neurologista taudinpurkausta, kun aikaisempina vastaavina tarkastelujaksoina niitä oli ollut kuusi tai vähemmän. Infektion aiheuttaja oli lähes aina villityypistä poikkeava kanta. (APHIS 2007).

#### 2.2.1.2 EHV1:n kliininen kuva

EHV1:n aiheuttama infektio saattaa tiineillä tammoilla johtaa luomiseen. Yli 95 % luomisista tapahtuu tiineyden viimeisen neljän kuukauden aikana. Tamma abortoi yleensä ilman edeltäviä oireita, ja myöhemmät komplikaatiot ovat harvinaisia. Syntyvä sikiö on tavallisesti jo kuollut, vaikkakin aivan tiineyden viimeisinä päivinä infektoituneet sikiöt voivat syntyä ja selviytyä elävinä muutaman päivän ajan. Varsojen perinataalikuolemat saattavat joskus olla pääasiallinenkin virusabortin ilmenemismuoto. (Crabb & Studdert 1995, Patel & Heldens 2005).

EHV1:n aiheuttama hengitystieinfektio vaikuttaa kokeellisten tutkimusten perusteella olevan samankaltainen kuin EHV4-tartunnassa. Sen osuus hengitystiesairauksien aiheuttajana ei kuitenkaan ole yhtä ilmeinen kuin EHV4:llä, jota pidetään maailmanlaajuisesti yhtenä merkittävimmistä nuorten hevosten akuutin hengitystiesairauden aiheuttajana. EHV1 on eristetty hengitystietulehdusten yhteydessä itse asiassa vain suhteellisen harvoja kertoja. (Crabb & Studdert 1995).

Enkefalomyeliitin kliiniset oireet alkavat noin viikon kuluttua hengitysteitse tapahtuneesta altistumisesta (Allen 2002). Kliininen kuva vaihtelee suuresti riippuen vaurioiden sijainnista ja laajuudesta: lievissä tapauksissa sairastuneilla saattaa ilmetä vähäistä ataksiaa ja virtsanpidätyskyvyttömyyttä, vakavissa tapauksissa infektio voi johtaa täydelliseen paralyysiin ja kuolemaan. Prognoosi riippuu kliinisen kuvan vakavuudesta ja on tavallisesti huono makaavilla hevosilla (Knowles 2011). Pyreksiaa

esiintyy lähes aina ennen neurologisten oireiden alkamista, mutta harvemmin enää oireiden alettua (Pusterla ym. 2009). EHV1:lle aiemmin herkistyneet hevoset ovat alttiimpia kehittämään neurologisen oirekuvan kuin viruksen ensi kertaa kohtaavat (Allen 2002).

### 2.2.1.3 Herpesvirusten patogeneesi ja patologiset löydökset

Primaaristi virus replikoituu ylempien hengitysteiden epiteelisoluissa ja paikallisissa imusolmukkeissa. Viremia syntyy, kun virus siirtyy leukosyytteihin, etenkin T-lymfosyytteihin ja vähäisemmässä määrin monosyytteihin. Vasta leukosyyttivaiheen jälkeen virus voi aloittaa replikoitumisen verisuonten endoteelisoluissa, joko keskushermostossa tai tiineen tamman kohdussa. Luultavaa on, että sama patogeneesi toistuu reaktivoituvissa infektioissa. (Knowles 2011).

Abortoituneista sikiöistä on usein löydettävissä laaja-alaisia nekroottisia muutoksia eri puolilta elimistöä. Tiineyden loppuvaiheessa abortoituneet sikiöt eivät tyypillisesti ole autolyttisiä, mutta ennen 6. tiineyskuukautta abortoituneissa muutokset voivat olla selviä. (Crabb & Studdert 1995, Knowles 2011). Sikiö on usein ehjien sikiökalvojen sisällä ja istukka on irronnut mukana (Bazanov 2014). Makroskooppisesti voidaan nähdä ikterusta, mekoniumvärjäymiä, petekkioita limakalvoilla sekä ödeemaa ruumiinonteloissa ja subkutaanisesti. Maksan leikkauspinnalla saattaa esiintyä vaaleita nekroosialueita, keuhkot ovat usein ödemaattiset ja suurentuneessa pernassa on selviä lymfoidifollikkeleja. (Crabb & Studdert 1995, Knowles 2011).

Mikroskooppisesti havaittavia muutoksia voivat olla bronkioliitti, interstitiaalinen pneumoniitti, pernan valkoisen ytimen nekroosi sekä maksan ja lisämunuaisten vaaleat nekroosipesäkkeet. Leesioalueilla ja etenkin niitä ympäröivissä soluissa voidaan nähdä runsaina tyypillisiä intranukleaarisia herpesvirusinkluisioita. (Crabb & Studdert 1995, Knowles 2011).

Kokeellisesti on näytetty, että EHV1:lle altistuneet seroposiitiviset tammot saattoivat abortoida virusnegatiivisen sikiön. Patogeneesi vaikuttaa olevan samanlainen kuin

EHV1:n aiheuttamassa enkefalomyeliitissa: vasta-aineiden ja virusantigeenien muodostamat kompleksit aiheuttavat endometriumin verisuonissa tromboosia, vaskuliittia ja iskeemisiä vaurioita. Lievemmissä muutoksissa virus pystyy siirtymään uteroplasentaalisen esteen yli, jolloin abortoituva sikiö on viruspositiivinen. (Patel & Heldens 2005).

EHV1:n aiheuttama enkefalomyeliitti on seurausta keskushermostoa suonittavien arteriolien infektoitumisesta. Patogeneesi on siten erilainen kuin primäärästi neurotrooppisilla viruksilla (esimerkiksi pseudorabiesvirus), jotka infektoivat neuroneja tai gliasoluja. Viruksen monistuminen endoteelisoluissa johtaa tromboosimuodostukseen ja vaskuliittiin, minkä seurauksena viereisissä hermokudosalueissa iskemia johtaa degeneratiivisiin muutoksiin. Vaskuliitin taustalla on todennäköisesti vasta-aineiden ja virusantigeenien muodostamien kompleksien aiheuttama tromboosi. Obduktiossa on löydettävissä aivoista ja selkäytimestä multifokaalisia hemorrhagiamuutoksia. (Crabb & Studdert 1995, Knowles 2011).

## 2.2.2 EHV4 (Equine Herpes Virus 4)

### 2.2.2.1 EHV4:n epidemiologia

EHV4 on maailmanlaajuisesti merkittävin nuorten hevosten akuutin hengitystiesairauden aiheuttaja. Suurin osa varsoista sairastuu kahteen ensimmäiseen ikävuoteen mennessä (Crabb & Studdert 1995). Nuoret varsat infektoituvat jo ensimmäisten elinviikkojensa aikana, ja virus kiertää tammojen ja varsojen muodostamassa populaatiossa usein subkliinisenä (Knowles 2011).

Epidemiologiset tutkimukset ovat keskittyneet pitkään EHV1:een, sillä EHV1:n ja EHV4:n serologinen erottelu pystyttiin tekemään vasta 1990-luvun alkupuolella (Patel & Heldens 2005). Eräässä herpesvirusten epidemiologiaa selvittäneessä tutkimuksessa esitettiin seropositivisten tammojen siirtävän infektion jälkeläisiinsä ja näiden edelleen toisiin varsoihin. Seropositivisten varsojen emät olivatkin muita useammin seropositivisia. Hevosryhmiä vertaamalla tutkijat pystyivät lisäksi päättelemään, että

vasta-ainetason nousu ei ollut seurausta vain passiivisesta maternaalisten vasta-aineiden siirtymisestä vaan virukselle altistumisesta. (Gilkerson ym. 1999).

Viruksen leviämisen kannalta eläinten välistä läheistä kontaktia pidetään välttämättömänä, sillä herpesvirukset säilyvät ympäristössä huonosti (Gilkerson ym. 1999). Viitteitä on olemassa myös viruksen leviämisestä ilmassa lyhyiden etäisyyksien päähän esimerkiksi tallien välillä. Siirtyminen kontaminoituneiden välineiden, käsien ja rehun välityksellä on mahdollista. Nasaalinen viruseritys on suurimmillaan muutamana ensimmäisenä päivänä infektoitumisesta. Immunologisesti naiiveilla eläimillä viruseritys voi jatkua kahdenkin viikon ajan; aiemmin infektoituneilla oireet ovat lyhytkestoisemmat ja saattavat mennä ohi huomaamatta. (Allen 2002).

Tyypillisesti varsa sairastuu kahden kuukauden iässä, kun maternaalisten vasta-aineiden tuoma passiivinen immuniteetti häviää. Vieroitettujen varsojen ja vuosikkaiden infektoituminen ajoittuu usein aikaan, jolloin varsat siirretään uusiin ryhmiin. (Knowles 2011). Vanhempien hevosten sairastumisen on esitetty johtuvan latentista, reaktivoituvasta infektiosta (Crabb & Studdert 1995).

#### 2.2.2.2. EHV4:n kliininen kuva

Hengitystieinfektion oireet alkavat 3-6 päivän kuluttua virukselle altistumisesta. Kliinisten oireiden voimakkuus vaihtelee subkliinisestä kuolemaan johtavaan bronkopneumoniaan. Tavallisia oireita ovat pyreksia, anoreksia sekä runsas sierainerite, joka muuttuu taudin edetessä seroosista mukopurulentiksi. Leesioita esiintyy ylempien hengitysteiden limakalvoilla ja joskus myös keuhkoissa. Sekä ylempien että alempien hengitysteiden infektioiden liittyy usein sekundaarisia bakteeritulehduksia, jotka todennäköisesti ovat yhteydessä kliinisten oireiden ilmenemiseen. (Crabb & Studdert 1995).

Kokeellisesti on infektoitu EHV1:llä ja EHV4:llä gnotobioottisia varsoja eli sellaisia eläimiä, jotka on kasvatettu steriileissä oloissa ja joiden bakteerikanta on tiedossa. Tutkimuksessa virusinfektio yksin ei kyennyt aiheuttamaan varsoille vakavia

hengitystieoireita, mikä viittaa sekundaaristen bakteeri-infektioiden olevan merkittävässä roolissa kliinisen taudinkuvan muodostumisessa. Vakavimmat oireet ovat esiintyneet infektioidessa, joissa on ollut osallisena Lancefield C -ryhmään kuuluvia streptokokkeja (Crabb & Studdert 1995).

### 2.2.3. Herpesvirusten latenssi

Muiden herpesvirusten tapaan EHV1 ja EHV4 saattavat jäädä pitkäksi aikaa, mahdollisesti elinikäisesti persistoimaan viruksen kantajassa latenteina eli piilevinä. Latenssin kehittäviä hevosia on noin 80 % sairastuneista (Kydd ym. 2006). PCR-menetelmää ja viljelyä käyttämällä on molempia viruksia löydetty hengitysteiden lymfoidikudoksesta ja veren CD8+ T-lymfosyyteistä 10 viikkoa kokeellisen infektion jälkeen (Crabb & Studdert 1995, Bazanov ym. 2014). Toisessa tutkimuksessa latentti EHV1 löydettiin samoja menetelmiä käyttäen trigeminaalisten ganglioiden neuroneista. (Crabb & Studdert 1995, Bazanov ym. 2014). Ganglioita pidetään tärkeimpänä latentin viruksen säilymispaikkana. Lymfoidikudoksessa säilyvillä viruksilla on ilmeisesti vähemmän epidemiologista merkitystä, sillä viruksilla saattaa olla heikompi taipumus reaktivaatioon. (Slater ym. 1994). Muualtakin viruksen DNA:ta on löydetty, mutta reaktivaatiosta tällöin ei ole olemassa tutkimustietoa (Bazanov ym. 2014).

Latentin infektion aktivoitumiseen vaikuttavista fysiologisista tekijöistä ei vielä olla hyvin selvillä. Muun muassa vieroituksen, kastraation, paikanvaihdon, hevosten sekoittelun ja vakavan sairauden on kuitenkin todettu liittyvän uudestaan alkavaan viruseritykseen. Tammojen latentin infektion reaktivoituminen on tyypillisesti seurausta stressistä, joka liittyy esimerkiksi varsomiseen, maidontuotannon kasvamiseen tai estrukseen. (Patel & Heldens 2005, Gilkerson 1999, Bazanov 2014). Kokeellisesti on kumpikin virus saatu reaktivoitumaan suuria ja pitkäkestoisia kortikosteroidiannoksia käyttäen. *In vitro* - tutkimuksessa CD5- ja CD8-positiivisiin T-lymfosyytteihin asettunut EHV1 saatiin aktivoitumaan epäsuorasti IL-2:n ja ECG:n (equine chorionic gonadotrophin) vaikutuksesta. (Patel & Heldens 2005).

Viruksen reaktivaatio johtaa eläimen uudelleen sairastumiseen sekä viruksen

erittymiseen hengitysteiden limakalvoilta (Patel & Heldens 2005). EHV4:n reaktivaatio johtaa tavallisesti vain viruksen erittymiseen ylähengitysteiltä ilman kliinisiä oireita. EHV1:n reaktivaatioon saattaa liittyä lieviä kliinisiä oireita, minkä lisäksi tiineyden loppuvaiheessa olevat tammat saattavat abortoida. Tammat voivat siten luoda viikkoja tai kuukausia virukselle altistumisen jälkeen, jolloin viremiavaihe on jo mennyt ohitse. (Bazanov ym. 2014).

Uusimpien tutkimusten mukaan oireettomat eläimet erittävät harvoin EHV1:ä ja vielä harvemmin niin paljon, että ne muodostaisivat tartuntavaaran toisille eläimille. Todennäköisesti viruksen leviämiseen ainakin aikuisten hevosten keskuudessa liittyy useimmiten myös kliinisesti oireileva tauti. Toisaalta tammat saattavat toimia viruksen lähteenä ilman että varsinaista taudinpurkausta on todettavissa. (Bazanov ym. 2014). Ensimmäisen aborttitapauksen jälkeen muiden tammojen luomisriski kasvaa suuresti, sillä abortoitunut sikiö ja sikiökalvot ovat huomattavan tartuntavaarallisia (Patel & Heldens 2005).

Latenssilla on merkittävä rooli sekä EHV1:n että EHV4:n epidemiologiassa. Latentisti infektoituneissa soluissa virus on suojassa immuunipuolustukselta, ja reaktivaatiovaiheissa oireettomat eläimet levittävät virusta tehokkaasti uusiin eläimiin. Piilevien vaiheiden ja uusien aktivoitumisjaksojen avulla virus saattaa helposti kiertää samalla tilalla vuodesta toiseen. (Patel & Heldens 2005).

### 2.3 Hevosen herpesvirustartuntojen diagnostiikka

Epäily herpesvirus-1:n aiheuttamasta infektiosta herää tavallisimmin tammojen luodessa tiineyden loppuvaiheessa. Abortoituneen sikiön kudoksenäytteistä tehdyt obduktiolöydökset ja histopatologiset tutkimukset saattavat monesti olla informatiivisia, etenkin jos histologisesti nähdään tyypillisiä intranukleaarisia inkluusiokappaleita. (Knowles 2011).

Hengitystiesairauksissa aiheuttajan tunnistaminen pelkän kliinisen kuvan perusteella ei ole mahdollista. Tarttuvaa tautia voidaan epäillä silloin, kun useampi saman tallin

hevosista sairastuu lyhyen ajan sisällä tai sairastunut hevonen on ollut kosketuksissa muualla asuvien sairastuneiden hevosten kanssa. (Evira 2013a).

Diagnoosin varmentamiseen käytetään viruksen suoraa osoitusta joko PCR-menetelmällä tai viruseristyksellä. Lisäksi voidaan hyödyntää serologisia tutkimuksia vasta-ainetason määrittämiseksi (Knowles 2011). Suomessa Evira tekee PCR-osoituksia sierainlima- tai keuhkokuuhtelunestenäytteistä sekä luoduista sikiöistä ja jälkeisistä. Lisäksi Evira tutkii vasta-aineiden nousun osoittamiseksi pariseeruminäytteitä. (Evira 2013a).

### 2.3.1. Näytteenotto virustutkimuksia varten

Näytteet tulee ottaa mahdollisimman pian luomisen jälkeen tai hengitystiesairautapauksissa ensimmäisten oireellisten päivien aikana, jotta viruksen toteamisen onnistuminen olisi mahdollisimman todennäköistä. Akuutisti oireilevasta eläimestä suositellaan otettavaksi sierainlimanäyte virusosoitusta varten sekä samalla kertaa ensimmäinen verinäyte serologiseen tutkimukseen. Pariseerumitutkimuksen toinen verinäyte voidaan ottaa 2-3 viikon kuluttua, mikäli virusta ei ole suorassa osoituksessa löytynyt. (Evira 2014a).

Virusosoitusta varten näytteeksi kelpaa sierainlima-, konjuktiva- tai keuhkokuuhtelunestenäyte. Sieraimet puhdistetaan ennen näytteenottoa näkyvästä liasta. Sierainlimanäyte otetaan mahdollisimman syvältä limakalvolta molemmista sieraimista virusnäytteenottoon tarkoitetulla nukkatikulla. (Evira 2014a).

Serologisia tutkimuksia varten hevosesta otetaan seerumiverinäyte. Paras näyte saadaan vakuumitekniikalla. Vasta-ainetutkimukset on mahdollista tehdä ainoastaan hemolysoitumattomasta näytteestä, joten aseptisyys, pakkaaminen ja jäätyminen välttämisen ovat tärkeitä. (Evira 2014a).

Luomistutkimuksia varten koko sikiön ja jälkeisten lähettäminen tutkimuksiin on suositeltavaa. Jos tämä ei ole mahdollista, lähetettäviä näytepaljoja kannattaa ottaa

jälkeisistä sekä sikiön maksasta, pernasta ja keuhkoista. Luoneesta tammasta kannattaa lähettää samalla seerumiverinäyte. (Evira 2014a).

### 2.3.2 Herpesviruksen osoitus PCR-menetelmällä

#### 2.3.2.1 PCR-menetelmän toimintaperiaate

PCR (Polymerase Chain Reaction) on menetelmä, jolla pyritään löytämään näytteestä tietty DNA-sekvenssi. Alukkeena (engl. primer) käytettävä yleensä parinkymmenen emäksen pituinen oligonukleotidi kiinnittyy DNA-ketjun vastakkaiseen juosteeseen, mikäli näytteessä esiintyy etsittyä nukleotidijärjestystä. Jos näytteessä on alukkeen tunnistamaa virusgenomia, alkuperäinen DNA saadaan monistumaan lyhyessä ajassa havaittavalle tasolle. (MacLachlan & Dubovi 2011b).

Monistumisen säätely tapahtuu lämpötilaa muuttamalla. Ensimmäisessä vaiheessa DNA-ketju saadaan avautumaan eli denaturoitumaan kuumaa lämpötilaa käyttämällä. Seuraavassa vaiheessa lämpötilaa alennetaan, jolloin ketjun rakentuminen alkaa entsyymitoiminnan (DNA-polymeraasin) ja irrallisten emäsnukleotidien avulla. Denaturaatio, alukkeen kiinnittyminen ja DNA-synteesi saadaan toistumaan yhä uudestaan lämpötilaa muuttamalla. Halutun DNA-sekvenssin määrä kasvaa jokaisessa syklissä eksponentiaalisesti: jo muutaman ensimmäisen syklin jälkeen käytännössä kaikki templaatit koostuvat etsitystä DNA-alueesta, ja muutamassa tunnissa eli noin 30 syklin jälkeen etsitty alue on monistunut monimiljoonakertaiseksi. (MacLachlan & Dubovi 2011b).

PCR-menetelmänä voi olla perinteinen PCR, jossa virusgenomi visualisoidaan agarosigeelillä. Nykyisin on yhä yleisemmin käytössä reaaliaikainen rt-PCR - menetelmä (real-time PCR), jolla pystytään mittaamaan tutkittavan PCR-tuotteen lisääntymistä reaktioseoksessa jo sen muodostuessa käyttäen fluoresoivaa merkkiainetta. Tällä menetelmällä monistuneen PCR-tuotteen määrä voidaan mitata kvantitatiivisesti. Menetelmän etuna perinteiseen PCR:ään verrattuna on suurempi sensitiivisyys ja spesifisyys. (MacLachlan & Dubovi 2011b).



### 2.3.2.2 PCR herpesvirusten diagnostiikassa

PCR-menetelmä on nykyään otettu laajasti käyttöön virussairauksien diagnostiikassa. Soluviljelmästä tehtyyn viruseristykseen verrattuna PCR:n etuna on huomattava diagnostiikan nopeutuminen, sillä tutkimuksen tulos valmistuu jo seuraavaksi päiväksi, kun taas negatiivisen viruseristyksen varmistumista joudutaan odottamaan useita päiviä. Nopea diagnostiikka on toivottavaa etenkin taudinpurkausten yhteydessä. (Varrasso ym. 2001). Lisäksi PCR-menetelmällä on korkea tarkkuus sekä sensitiivisyyden että spesifisyyden suhteen: jos virusta on näytteessä vain vähäinen määrä, saatetaan viruseristyksellä saada negatiivinen tulos mutta PCR:llä positiivinen. Viruksen kvantitatiivista tulosta voisi mahdollisesti hyödyntää arvioitaessa viruserityksen voimakkuutta (eläimen tartuntavaarallisuutta) sekä eläimen ennustetta viremian suuruuden perusteella. (Lunn ym. 2009).

PCR-menetelmän ongelmana on sen vaatima huolellisuus näytteiden käsittelyssä, sillä kontaminaatio johtaa helposti virhepositiiviseen tulokseen (MacLachlan & Dubovi 2011b). Diagnostiikan epäonnistuminen voi johtua myös näytteenoton ajoituksesta, sillä viruseritys on hengitystieoireiden alkaessa lyhytaikaista. Myöhästynyt näytteenotto saattaa johtaa negatiiviseen tulokseen käytetystä menetelmästä riippumatta. (Evira 2014a).

Varrasson ym. (2001) tutkimuksen mukaan PCR-menetelmän luotettavuus on erittäin hyvä. Pitkään ongelmana oli myös EHV1:n ja EHV4:n erottaminen toisistaan niiden geneettisen samankaltaisuuden vuoksi. Kun molempien virusten genomi luettiin täydellisesti, on ollut mahdollista suunnitella erilaiset alukkeet kummallekin virukselle. (Varrasso ym. 2001).

### 2.3.3 Serologiset tutkimukset herpesvirusdiagnoosiin

Serologisilla tutkimuksilla määritetään tiettyyn antigeeniin kohdistuvien vasta-aineiden pitoisuus eläimen seerumiverinäytteestä. Aikaisemmin paljon käytetty menetelmä vasta-aineiden määrän selvittämiseksi oli seerumineutralisaatioanalyysi, mutta nykyään

tavallisimmin käytettävä menetelmä on niin kutsuttu ELISA-menetelmä (entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys, engl. enzyme-linked immunosorbent assay). (MacLachlan & Dubovi 2011b).

#### 2.3.3.1 Neutralisaatiomenetelmän periaate

Neutralisaatiomenetelmän periaatteena käytetään vasta-aineen sitoutumista infektiiviseen virukseen, minkä seurauksena viruksen lisääntyminen solussa estyy eli tapahtuu viruksen neutralisaatio. Jos virus pystyy kasvamaan solussa, se voidaan havaita joko solukuolemana (sytopaattinen vaikutus) tai visualisoimalla virukset kasvatuksen jälkeen vasta-aineeseen kiinnitetyllä väriaineella tai fluoresoivalla aineella. Näytteessä olevan vasta-aineen määrä voidaan määrittää käyttämällä laimennussarjaa ja altistamalla standardoitu virusmäärä eri laimennoksille (vakio virus - vaihteleva seerumi - menetelmä). Menetelmän etuna on, että se tarjoaa keinon selvittää todellisten suojaavien vasta-aineiden määrän *in vivo*. Toisaalta haittapuolia on tulosten hidas valmistuminen sekä menetelmän vaatima kallis soluviljelmien ylläpito. (MacLachlan & Dubovi 2011b).

#### 2.3.3.2 ELISA-menetelmän periaate

ELISA-menetelmässä hyödynnetään valitun virusantigeenin ja veren vasta-aineiden sitoutumista toisiinsa. Jos tutkittavassa seeruminäytteessä on vasta-aineita, ne sitoutuvat antigeenin kanssa. Sitoutuminen voidaan osoittaa värireaktiolla, joka pystytään havaitsemaan joko suoraan tai spektrofotometrin avulla. Menetelmää voidaan soveltaa myös kvantitatiivisesti, jolloin vasta-ainetaso voidaan määrittää esimerkiksi laimennussarjaa käyttäen (MacLachlan & Dubovi 2011b).

#### 2.3.3.3 Serologiset tutkimukset herpesvirusdiagnoosissa

Serologisia tutkimuksia käytetään akuuteissa kliinisissä tapauksissa joko yksittäisen hevosen tai lauman taudinsyyn selvityksessä. Pariseeruminäytteissä nähty vasta-ainetason nousu yhdessä kliinisten oireiden kanssa toimii hyvänä viitteenä herpesvirusten osallisuudesta. (Lunn ym. 2009).

Herpesvirusten serologisia tutkimuksia haittasi pitkään EHV1:n ja EHV4:n geneettinen läheisyys ja siitä johtuvat ristireaktiot. Tällöin useimmat vanhemmat hevoset osoittautuivat seropositiviksi, todennäköisesti yleisten EHV4-vasta-aineiden vuoksi. Etenkin nuorten, usein alun perin seronegatiivisten hevosten pariseerumitutkimukset olivat kuitenkin jo tuolloin hyödyllisiä, sillä serokonversion osoittaminen oli helpompaa kuin viruksen osoittaminen eristämällä. Uudempi ELISA-menetelmä perustuu tyyppispesifiseen glykoproteiini G:hen, ja sen avulla eri herpesvirusten erottaminen toisistaan on mahdollista. (Crabb & Studdert 1995).

Tutkimukset tehdään pariseeruminäytteistä, jolloin ensimmäinen seeruminäyte otetaan mahdollisimman pian oireiden alkaessa ja toinen 2-3 viikkoa myöhemmin. Vähintään nelinkertaista vasta-ainetiitterin nousua pidetään diagnostisena osoituksena viruksen aiheuttamasta infektiosta. (Evira 2013a).

Yksittäistä näytettä voidaan käyttää ainoastaan arvioimaan, onko eläin joskus kohdannut tutkittavan viruksen. Sen perusteella ei diagnoosia voida tehdä, sillä vasta-aineet saattavat olla peräisin paitsi rokotuksesta myös aikaisemmasta infektiosta tai oireettomasta tartunnasta. Lisäksi on huomattava, että abortoineessa tammassa vasta-ainetason nousua ei nähdä, sillä infektoituminen on tapahtunut jo aiemmin. (MacLachlan & Dubovi 2011b, Evira 2013a).

## 2.4 Herpesvirusten esiintyminen

### 2.4.1 Herpesvirusten esiintyminen maailmalla

Sekä EHV1 että EHV4 esiintyvät endeemisinä maailmanlaajuisesti, ja niiden aiheuttamat taloudelliset tappiot ovat merkittäviä. Esimerkiksi Iso-Britanniassa 6 % hevosten aborteista on EHV1:n aiheuttamia. (Kydd ym. 2006). Gilkersonin ym. (1999) australialaisessa tutkimuksessa EHV4-vasta-aineiden esiintyvyys oli sekä tammojen että varsojen ryhmissä 99 %, kun taas EHV1-vasta-aineiden prevalenssi oli tammoilla 26,2 % ja varsoilla 11,4 %. Muut tutkimukset ovat olleet samansuuntaisia (Patel & Heldens

2005).

#### 2.4.2 Herpesvirusten esiintyminen Suomessa

Suomessa Evira tutkii vuosittain noin sata elinnäytettä EHV1:n ja EHV4:n varalta. Elinnäytteet ovat tavallisesti luotuja sikiöitä; lisäksi voidaan tutkia sierainlimanäytteitä. Vuosittain herpesvirusten suhteen positiivisia näytteitä todetaan muutama kappale. (Evira 2005-2010).

Vuonna 2011 tutkituista 143 sikiö- ja sierainlimanäytteestä herpesvirus osoitettiin kahdeksasta abortoidusta sikiöstä (Evira 2011). Tätä seuraavana vuonna positiivisia näytteitä oli kaksi (Evira 2012b). Vuonna 2013 herpesvirustutkimuksia tehtiin aikaisempiin vuosiin verrattuna huomattavasti enemmän. Sierainlima- ja kudoksenäytteitä tutkittiin EHV1:n ja EHV4:n varalta 273 kappaletta. Patologisiin tutkimuksiin lähetettiin 45 luotua sikiötä tai pikkuvarsaa, joista neljä osoittautui EHV1-positiiviseksi. Nämä näytteet olivat peräisin kolmelta eri tallilta. (Evira 2013b). Herpesvirusten varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä ja positiiviset löydökset viime vuosien ajalta on esitetty taulukossa 1.

Evira tutkii vuosittain lisäksi noin sata seeruminäytettä serologisesti. Yksittäisistä näytteistä löydetään osalta hevosista EHV1-vasta-aineita, jota vastoin lähes kaikilla aikuisilla hevosilla todetaan EHV4-vasta-aineita. Hevosten rokotushistoriasta ei kuitenkaan ole ollut saatavissa tietoa. (Evira 2012b).

Akuuttiin taudin vaiheeseen viittaava nelinkertainen vasta-ainetiitterin nousu pariseeruminäytteessä on todettu vuosittain nollassa neljään hevosella. Vuonna 2013 tutkittiin 448 seeruminäytettä, joissa vasta-ainetason nousu näkyi peräti 22 hevosen pariseeruminäytteessä. Valtaosalla tutkituista oli ollut hengitystieoireita, mutta yksittäisillä hevosilla oli ilmennyt lisäksi hermosto-oireita. (Evira 2005-2010, Evira 2011, Evira 2012b, Evira 2013b).

Taulukko 1. Evirassa EHV1:n ja EHV4:n varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä ja positiiviset löydökset Suomessa vuosina 2005-2013.

Vuosi	EHV1:n ja EHV4:n varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä	EHV1- ja EHV4-positiivisten näytteiden määrä
2005	52	3
2006	82	10
2007	67	0
2008	117	2
2009	107	5
2010	128	4
2011	143	8
2012	84	2
2013	318	4

### 3 HEVOSEN ARTERIITTIVIRUSTARTUNNAT

#### 3.1 Yleistä arteriviruksista

Arterivirukset ovat osa *Nidovirales*-heimoa, jonka jäseniä ovat myös roni- ja koronavirukset. Arterivirusten lahkoon kuuluu vain muutama, hyvin lajispesifinen virus. Hevosen arteriittivirusta voidaan pitää tyypiesimerkkinä, ja se on antanut myös nimensä viruslaskolle. Arteriviruksille tyypillistä ovat oireettomat, persistoivat infektiotaksot. Taloudellisesti suuri merkitys on sian PRRS-viruksella (porcine reproductive and respiratory syndrome), jonka aiheuttamaan systeemiseen sairauteen liittyy abortteja ja hengitystieoireita. (MacLachlan & Dubovi 2011c).

Arterivirukset ovat yksijuosteisia, positiivisäikeisiä RNA-virusia, joiden genomi on kooltaan 13-15 kb. Lipoproteiinihuoren ympäröimä virioni on pienikokoinen (45-60 nm), nukleokapsidi on isometrinen. Virioni muodostuu yhdestä nukleokapsidiproteiinista ja kuudesta vaippaproteiinista. Näistä kolme vaippaproteiinia (GP2, GP3 ja GP4) muodostavat heterotrimeerin ja kaksi muuta proteiinia (GP5 ja membraaniproteiini M) muodostavat heterodimeerin. Samaan heimoon kuuluviin roni- ja koronaviruksiin verrattuna arterivirusten glykoproteiinien ulokkeet ovat vähäiset. (MacLachlan & Dubovi 2011c). Hevosen arteriittiviruksen rakenne on esitetty kaavakuvamaisesti kuvassa 1.

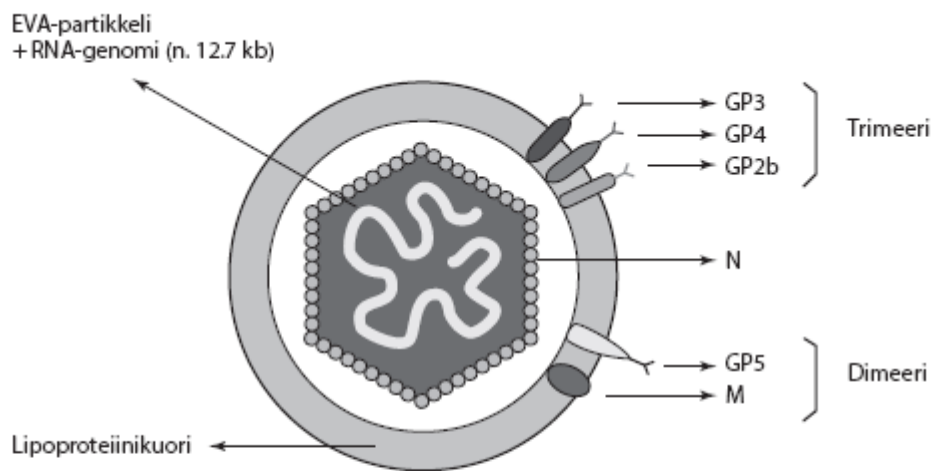
Virus replikoituu makrofagien sytoplasmassa, jossa genomista muodostetaan negatiivisäikeinen RNA ja siitä edelleen mRNA:n kautta virioniproteiineja. Hevosen arteriittiviruksella solutropismiin ja reseptorin sitoutumiseen vaikuttaa liittyvän kolmen proteiinin (GP2, GP3 ja GP4) muodostama heterotrimeeri. Virioni vapautuu puhkeamalla endoplasmisen retikulumin läpi ja joutumalla eksosytoosilla infektoituneen solun ulkopuolelle. (MacLachlan & Dubovi 2011c).

Hevosen arteriittivirus selviytyy parhaiten viileässä lämpötilassa. Kokeellisesti sen on osoitettu säilyvän infektiivisenä useita kuukausia + 4 °C:ssa ja syväjäädytettynä kudosnäytteissä useita vuosia - 70 °C:n lämpötilassa. Yli + 50 °C:n olosuhteissa

säilyvyys on enää 20-30 minuuttia. Lipidipohjaisilla liuottimilla ja desinfektioaineilla virus on helposti inaktivoitavissa. (Holyoak ym. 2008).

### 3.2 Hevosen arteriittivirus

Hevosen arteriittiviruksen (EAV) aiheuttamat infektiot ovat tyypillisesti oireettomia tai lieväoireisia hengitystiesairauksia. Tyypillisimpiä klinisiä oireita ovat korkea kuume ja laaja-alainen turvotus esimerkiksi vatsan alla. Kantavilla tammoilla voi ilmetä abortteja, yleensä yksittäisinä tapauksina mutta rokottamattomien tammojen keskuudessa myös epidemiana. Lisäksi osa oreista jää viruksen kantajaksi, millä on keskeinen merkitys viruksen leviämiselle. Yksittäisinä tapauksina EAV saattaa aiheuttaa nuorille varsoille hengitystiesairautta, jonka kliininen kuva voi olla nopeasti etenevä ja kuolemaan johtava.



**Kuva 1.** Kaavakuva hevosen arteriittiviruspartikkelin (EAV) rakenteesta. N = nukleokapsidi. GP = glykoproteiini. M = membraaniproteiini. (Mukaillen *Equine viral arteris*. UB Balasuriya, MacLachlan NJ, *Equine infectious disease*, s. 153–164, 2007)

### 3.2.1 EAV:n epidemiologia

Hevosen arteriittiviruksella on kolme keskeistä leviämismekanismia. Akuutissa infektiovaiheessa olevat hevoset levittävät virusta horisontaalisesti ympäristössä oleviin hevosiin joko hengitysteiden kautta tai joskus virtsan välityksellä. Tämän lisäksi EAV leviää vertikaalisesti myöhäisessä tiineysvaiheessa infektoituneiden tammojen kautta sikiöihin, jolloin myös abortoitunut sikiö ja sikiönesteet voivat edelleen toimia infektiolähteenä. Kolmannessa leviämismekanismissa persistoivasti infektoituneet mutta oireettomat oriit levittävät virusta tammoihin venerealisesti astutuksen yhteydessä. (Holyoak ym. 2008, Balasuriya ym. 2008). Hevosen arteriittiviruksen epidemiologinen kulku on esitetty kuvassa 2.

Tutkimuksissa viruksen on havaittu siirtyvän tehokkaasti eläimestä toiseen. Tutkimustulosten mukaan suurin osa (85-100 %) seronegatiivisista tammoista sserokonvertoi, kun ne astutetaan virusta erittävällä oriilla. Venerealisesti tartunnan saaneiden tammojen infektio on tavallisesti subkliininen, eikä tartunnalla ole vaikutusta tiinehtyvyyteen. Venerealisesti infektoituneet tammot kykenevät kuitenkin levittämään virusta sairastumisensa akuutissa vaiheessa muihin hevosiin, ja horisontaalisiin infektiioihin liittyy usein kliinisiä oireita ja mahdollinen sikiön abortoituminen. Kantajiksi jääneet oriit ovat saaneet virustartunnan yleensä akuutissa vaiheessa erittäviltä hevosilta suoran kontaktin tai kontaminoituneiden välineiden kautta. (Glaser ym. 1996).

EAV:sta tunnetaan ainoastaan yksi serotyyppi, mutta eri kantojen välillä esiintyy kliinisen kuvan vakavuuteen ja abortigeenisyyteen vaikuttavaa geneettistä variaatiota (Holyoak 2008). Genomin sekvensointitutkimuksissa on havaittu, että monien RNA-virusten tapaan EAV:sta kehittyy oriiden persistoivien infektioiden aikana uusia geno- ja fenotyypiltään eroavia ryhmiä, joita yhdistää samanlaisten mutaatioiden aiheuttama variaatio. (Balasuriya ym. 1999).

Balasuriyan ym. (1999) tutkimuksessa selvitettiin EAV-viruksen geneettistä vaihtelua taudinpurkauksen kuluessa. Tutkimuksessa todettiin, että taudinpurkauksen aikana



tammoissa ja varsoissa kiertäneiden virusten genomeissa oli erittäin vähän vaihtelua, jota vastoin persistoivasti infektointuneiden oriiden spermasta eristetty viruspopulaatio oli huomattavan heterogeeninen. Vaikuttaakin todennäköiseltä, että EAV:n geneettinen vaihtelu syntyy nimenomaan oriiden reproduktioelimissä kantajuusvaiheen aikana. On mahdollista, että tässä vaiheessa johonkin mutaatioon kehittyi esimerkiksi parempi kyky replikoitua hengitysteiden soluissa, jolloin sperman kautta infektointunut seuraava hevonen pystyy levittämään virusta tehokkaasti horisontaalisesti. (Balasuriya ym. 1999).

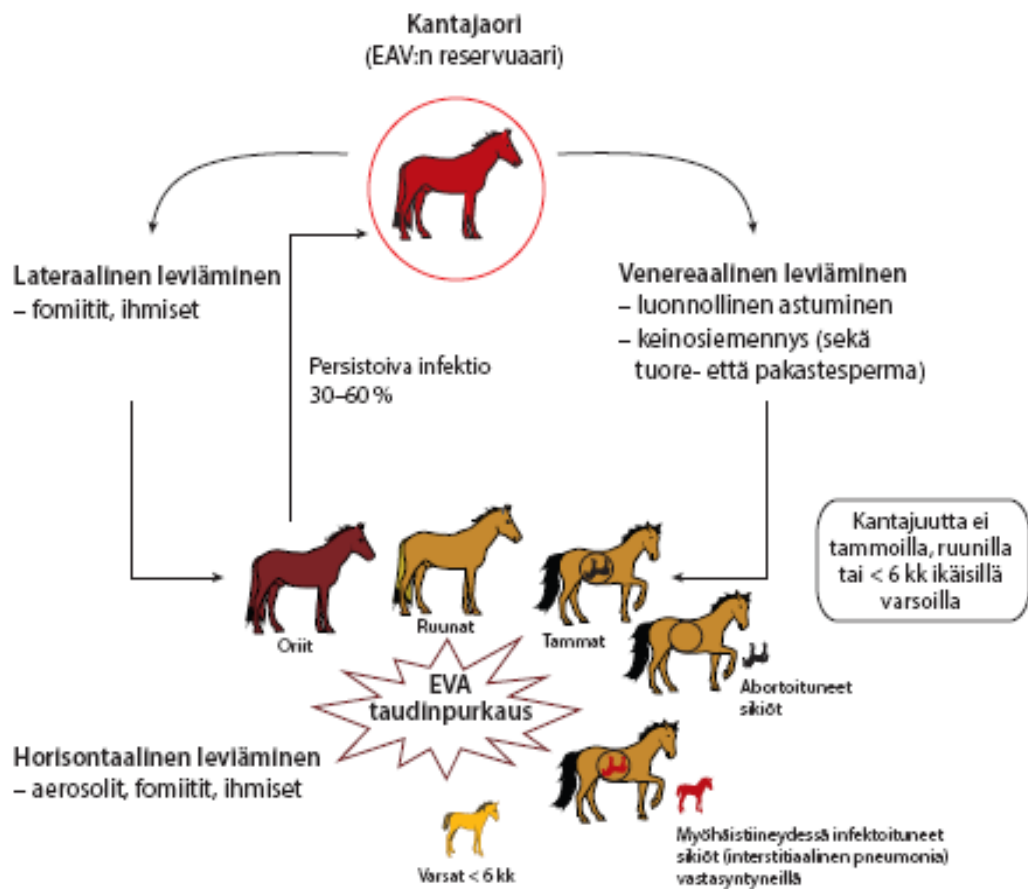
EAV:n levinneisyyttä selvittäneissä serologisissa tutkimuksissa on todettu virusta esiintyvän laaja-alaisesti eri puolilla maailmaa. Taudinpurkauksia esiintyy kuitenkin selvästi harvemmin. Varmistettujen taudinpurkausten määrä on 1990-luvulla ollut kasvamaan päin. Muutoksen taustalla saattaa olla lisääntynyt hevosten kansainvälinen liikkuvuus ja keinosiemennyksen käytön yleistymisen. (Bazanov ym. 2014)

#### 3.2.1.1 Oriiden persistoivat infektiot

Venereaalinen leviäminen oireettomien kantajaoriiden välityksellä on arteriittivirukselle ominaista. Akuutin infektion saaneista sukukypsistä oreista jää tutkimusten mukaan seropositiivisiksi kantajiksi 30-70 %. (MacLachlan & Dubovi 2011c). Kantajuusajan pituus vaihtelee suuresti: lyhimmillään kantajuus kestää joitakin viikkoja, mutta ori voi säilyä viruksen erittäjänä kuukausia tai useita vuosiakin, eräissä tapauksissa ilmeisesti myös pysyvästi. (Timoney & McCollum 1987). Rotujen välillä ei ole havaittu geneettisiä eroja sen suhteen, kuinka herkästi infektointuminen tai kantajuuden kehittyminen tapahtuu (Holyoak ym. 2008 ).

Virus erittyy kantajaoriiden sperman siittiörikkaaseen fraktioon. Sperman laatuun viruserityksellä ei ole vaikutusta. Kantajaoriiden hengitystie-eritteissä, virtsassa tai veren valkosolufraktiossa virusta ei ole havaittu. Viruksen erittyminen spermaan on jatkuvaa, eikä viitteitä intermittoivasta erityksestä tai latenssista ole löydetty. (Timothy & McCollum 1987). EAV säilyy hyvin jäädytetyssä tai pakastetussa spermassa ja voi siten levitä myös keinosiemennyksen välityksellä. Persistoivasti infektointuneet oriit

muodostavat keskeisen virusreservuaarin, ja kontaminoituneen sperman välityksellä virus leviää helposti uuteen populaatioon. (Glaser ym. 1996).



**Kuva 2.** Hevosen arteriittiviruksen (EAV:n) luonnollinen kiertokulku hevospopulaatiossa. (Mukaan *Equine Infectious Disease*, DC Sellon, M Long, s. 156, Saunders/Elsevier 2007).

EAV säilyy oriin lisäsukurauhasissa, todennäköisesti joissakin testosteroniriippuvaisissa soluissa. Kokeellisessa tutkimuksessa, jossa oriit altistettiin intranasalisesti virusinfektioille, virusta eristettiin yleisimmin kantajiksi jääneiden oriiden siemenjohtimista sekä bulbouretraalisista rauhasista. (Neu ym. 1988).

Ruunien ja tammojen ei ole todettu jäävän viruksen kantajiksi. Persistoivan infektion ja testosteronin yhteyttä selvittäneessä tutkimuksessa havaittiin, että kastroidut hevoset joille annettiin testosteronia, jatkoivat viruksen erittämistä, jota vastoin ilman

testosteronia jääneet hevoset lakkasivat yhtä poikkeusta lukuun ottamatta erittämästä virusta 26 päivän jälkeen. Sukukypsyydellä on myös osallisuutensa: peri- ja prepuberteetti-iässä olevia orivarsoja seuranneessa tutkimuksessa havaittiin, että vain 13,6 % hevosista jäi EAV:n kantajaksi vähintään 4 kk ajaksi kokeellisen infektion jälkeen. (Glaser ym 1996). Toisessa tutkimuksessa, jossa käytettiin samaa virusisolaattia, todettiin sukukypsistä oreista jääneen pitkäaikaisiksi kantajiksi 62 %. (Glaser ym 1996, Neu ym 1988).

### 3.2.2 EAV:n kliininen kuva

Useimmat EAV:n aiheuttamat infektiot ilmenevät subkliinisinä tai lieväoireisina. Voimakkaaseen kliiniseen kuvaan on epäilty liittyvän yleensä poikkeuksellisen virulentti kanta. Kliiniset oireet ovat usein selvimpiä nuorilla ja vanhoilla hevosilla sekä stressistä kärsivillä. Sitä vastoin tammojen venereaali-infektioihin liittyy tyypillisesti huomaamaton oirekuva. (Timoney & McCollum 1987).

Kliiniset oireet EAV-tartunnassa alkavat useimmiten 3-14 päivän kuluttua infektoitumisesta ja kestävät 5-9 päivää. Venerealisessa tartunnassa oireiden alkamisaika vaihtelee 6-8 päivän välillä. Tavallisia oireita ovat yli 41 °C kuume sekä depressio ja anoreksia. Sairastuneilla voi olla sierainvuotoa sekä silmäoireita, kuten lisääntynyttä kyyneleritystä tai konjunktiviittia. Oedema on laaja-alaista ja sitä esiintyy etenkin supraorbitaalaisesti ja abdomenin alueella kivespussissa, esinahassa ja utareessa. Takajalkojen oedema voi johtaa jäykkään askellukseen. Urtikariaa esiintyy etenkin pään, kaulan ja rungon alueella. Pyreksian alkamiseen liittyy selvä leukopenia, jossa sekä neutrofiilien että lymfosyyttien määrä on alentunut. Vastasyntyneillä ja nuorilla varsoilla tavataan joskus vakavia oireita, kuten hengitysvaikeuksia, ähkyjä ja ripulia. Kuolleisuus on kuitenkin harvinaista. (Glaser ym. 1996).

Tiettyihin viruskantoihin liittyy myös taipumus aiheuttaa abortteja. Inkubaatioaika infektoitumisesta on 10-30 päivää, ja keskenmeno voi seurata milloin tahansa 3.-10. tiineyskuukauden välillä. Tamma abortoi yleensä pyreksiavaiheen päättyessä tai toipumisvaiheessa; kliinisiä oireita ei kuitenkaan aina havaita. Myöhäisessä

tiineysvaiheessa infektoidut tammat saattavat synnyttää ennenaikaisesti varsan, joka kuolee pian syntymän jälkeen tai sairastuu fataalisti EVA:an liittyvin kliinisin oirein. Aborttien insidenssi taudinpurkausepidemioissa vaihtelee suuresti alle kymmenesosasta kahteen kolmannekseen. (Glaser ym. 1996).

Akuutin infektiovaiheen aikana oreilla voi esiintyä ohimenevästi subfertiliteettiä, joka ilmenee heikentyneenä libidona ja alentuneena sperman laatuun. Hetkellisesti alentunutta fertiliteettiä on havaittu myös tammailla infektiota seuraavassa kiimakerrossa. (Holyoak ym. 2008).

### 3.2.3 EAV:n patogeenesi ja patologiset löydökset

Kahden päivän sisällä hengitysteitse tapahtuneesta infektoitumisesta EAV leviää nopeasti keuhkoissa: virus replikoituu alveolaarisissa makrofageissa ja endoteelisoluissa, leviää bronkiaalisiin imusolmukkeisiin ja sen jälkeen verenkierron kautta muualle elimistöön. Makrofagit ja endoteelisolut ovat EAV:n pääsääntöinen replikaatiokohde, mutta virus infektoi jonkin verran myös mesoteliumia sekä arterioiden ja kohdunseinämän sileitä lihassyytiä. (Holyoak ym. 2008, MacLachlan & Dubovi 2011c).

Ilmeisesti vauriot eivät aiheudu pelkästään suorasta virusreplikaatiosta, vaan viruksen indusoimalla sytokiini tuotannolla on keskeinen rooli. *In vitro* -tutkimuksissa on havaittu, että infektoidut solut lisäävät proinflammatoristen välittäjäaineiden tuotantoa (IL-1b, IL-6, IL-8 ja TNF- $\alpha$ ), ja että virulentit kannat indusoivat sytokiini tuotantoa enemmän kuin avirulentit. (Holyoak ym. 2008, MacLachlan & Dubovi 2011c).

EAV:n aiheuttamien aborttien patogeenesi ei ole vielä täysin ymmärretty. Joidenkin tutkijoiden mukaan luominen saattaa olla seurausta systeemisestä vaskulaarisesta nekroosista tamman verisuonissa, mikä johtaa kohdunseinämän ja istukan vaurioitumiseen. Toisen teorian mukaan viruksen replikoituminen sikiössä johtaisi sikiön kuolemaan ja progesteronituotannon heikkenemisen seurauksena luomiseen. (Bazanov ym. 2014).

Seerumista virus on eristettävissä 7-9 päivää infektoitumisesta, minkä jälkeen virusspesifiset neutralisoivat vasta-aineet vähentävät viruksen määrää. Kokeellisesti tehdyn infektoitumisen jälkeen virusta on voitu eristää useista kudoksista 1-2 päivää infektion jälkeen. Viimeistään neljän viikon kuluttua virus ei ole enää ollut eristettävissä kantajiksi jääneiden orien spermaa lukuunottamatta. (Holyoak ym. 2008, MacLachlan & Dubovi 2011c).

Hevosen virusarteriitin kliininen ja patologinen kuva on seurausta viruksen aiheuttamista vaskulaarisista vaurioista, jotka ulottuvat endoteelistä verisuonten lihaskerrokseen. Verisuonten ympärille kehittyy hemorragiaa, oedemaa ja fibrinoidisia nekroosimuutoksia. (MacLachlan & Dubovi 2011c). Histologisesti voidaan nähdä endoteelivaurioita kaikenkokoisissa verisuonissa. Degeneratiivisia ja hemorragisia muutoksia esiintyy useissa elimissä. (Estes & Chevillie 1969, Piero ym. 1997).

Abortoitunut sikiö on yleensä jonkin verran autolysoitunut. Makroskooppiset leesiot ovat harvinaisia. Mahdollisia obduktiomuutoksia ovat kuitenkin pienet petekkiaaliset verenvuodot pleurassa ja peritoneumissa sekä hemorragiset alueet epi- ja endokardiumissa. (Holyoak ym. 2008, Piero ym. 1997).

### 3.3 Hevosen arteriittivirustartuntojen diagnostiikka

Hevosen arteriittivirustartuntaa ei voida diagnosoida pelkkään kliiniseen kuvaan nojautuen, sillä tartunta muistuttaa läheisesti useita erilaisia infektiivisiä ja non-infektiivisiä sairauksia. Tärkeimpiä differentiaalidiagnooseja ovat muut hengitystieviroosit kuten EHV1 ja EHV4, hevosen influenssavirus, hevosen rhiniitti A ja B -virukset sekä hevosen adenovirus. Muita mahdollisia differentiaalidiagnooseja ovat hevosen infektiivinen anemia, purpura haemorrhagica, urticaria sekä eräät toksikoosit. (Holyoak ym. 2008).

Aborttien aiheuttajana voi olla sekä infektiivisiä että non-infektiivisiä tekijöitä. Infektiivisistä aiheuttajista tärkein on hevosen herpesvirus-1. EHV1:n aiheuttamissa

aborteissa sikiö on kuitenkin tavallisesti abortoitunut ilman edeltäviä oireita ja siinä saatetaan nähdä tyypillisiä histologisia muutoksia, kun taas EVA-tapauksissa sikiön osittainen autolysoituminen on tavallista ja patognomiset muutokset puuttuvat. (Holyoak ym. 2008).

EVA-diagnoosi tehdään joko havaitsemalla virus suoraan viruseristyksellä tai RT-PCR-menetelmällä tai tutkimalla eläimen serologinen status neutralisaatio- tai ELISA-menetelmällä. (MacLachlan & Dubovi 2011c). Suomessa Evira tekee PCR-tutkimuksia sierainlimanäytteistä, luoduista sikiöistä sekä kantajaoriiden spermasta. Lisäksi Evirassa tehdään serologisia tutkimuksia seeruminäytteistä. (Evira 2012a). Näytteenotto on kuvattu tarkemmin herpesvirusten yhteydessä luvussa 2.3.3.

### 3.3.1 Näytteenotto virustutkimuksia varten

Hengitystietulehdustapauksissa virusosoitusta varten lähetetään pyyhkäisynäytteitä sierainlimasta. Näytteet tulisi kerätä mahdollisimman aikaisessa vaiheessa oireiden alettua. Abortoitunut sikiö lähetetään kokonaisena sikiökalvojen ja istukan kanssa. (Evira 2012a). Arteriittivirus pystytään osoittamaan yleensä parhaiten istukasta, sikiönesteistä, maksasta, pernasta ja imukudoksesta. Ruoansulatuskanavan ja hengitysteiden elimet ja imusolmukkeet on hyvä tutkia etenkin vastasyntyneiden pneumo-enteeristä taudinmuotoa epäiltäessä. (Holyoak ym. 2008). Kantajaoriiden spermasta kerätään siittiörikas fraktio, joka lähetetään jäähdytettynä. (Glaser ym. 1996). EAV-tutkimusten tekeminen oriiden spermasta ei ole Suomessa pakollista mutta suositeltavaa ennen siitoskauden alkua (Evira 2012a).

### 3.3.2 Arteriittiviruksen osoitus PCR-menetelmällä

Viruksen toteaminen tehdään nykyisin tavallisesti PCR-menetelmällä. Menetelmän toimintaperiaate on käsitelty herpesvirusten diagnostiikan yhteydessä luvussa 2.3.1.1. PCR-menetelmän etuna on sen nopeus ja helppous verrattuna perinteiseen viruseristykseen. (Holyoak ym. 2008).

### 3.3.3 Serologiset tutkimukset arteriittivirusdiagnoosissa

Tavallisimmin käytössä oleva menetelmä vasta-aineiden osoittamiseksi on neutralisaatiomenetelmä, mutta nykyisin myös ELISA-menetelmä on laajalti käytössä. Toimintaperiaatteet on esitelty herpesvirusten diagnostiikan yhteydessä luvussa 2.3.2.1 ja 2.3.2.2.

Vasta-ainetason osoittamiseksi paras menetelmä on pariseeruminäyte, jolloin ensimmäinen näyte otetaan oireiden alkaessa ja toinen kolme viikkoa myöhemmin. Nelinkertainen tiitterin nousu katsotaan positiiviseksi löydökseksi. Serologisia tutkimuksia tehdään lisäksi kantajaoriiden löytämiseksi, jolloin positiivisiksi osoittautuneita oreja tutkitaan tarkemmin kantajuuden selvittämiseksi: tämä voidaan tehdä joko osoittamalla virus suoraan spermasta tai käyttämällä oria kahden seronegatiivisen tamman astutukseen ja seuraamalla, tapahtuuko tammoissa serokonversiota. Testi sisältyy monien maiden tuontivaatimuksiin. (Glaser ym. 1996).

## 3.4 Arteriittivirusten esiintyminen

### 3.4.1 EAV:n esiintyminen maailmalla

Hevosen arteriittivirusta on löydetty sero-epidemiologisissa tutkimuksissa lähes kaikista Euroopan maista. Seropositiivisten hevosten osuus on vaihdellut 6-90 % välillä, ja on ollut noususuuntainen 1990-luvulla. Taudinpurkaukset ovat kuitenkin huomattavasti harvinaisempia. Ensimmäinen laajamittainen taudinpurkaus sattui vuonna 1984 Yhdysvalloissa, Kentuckyn osavaltiossa. Euroopassa taudinpurkauksia on kuvattu 1990-luvulla ainakin Saksassa, Alankomaissa, Espanjassa ja Iso-Britanniassa sekä viimeksi 2000-luvulla Ranskassa. (Glaser ym. 1996, Holyoak ym. 2008, Timoney & McCollum 1987).

### 3.4.2 EAV:n esiintyminen Suomessa

Suomessa Evira tutkii vuosittain joitakin kymmeniä elinnäytteitä arteriittiviruksen varalta. Näytteiksi lähetetään luotuja sikiöitä sekä sperma- ja sierainlimanäytteitä. Vuosittain arteriittiviruksen suhteen positiivisia näytteitä todetaan nolasta muutamaaan. (Evira 2005-2010, Evira 2012b).

Vuonna 2010 tutkituista 125 sikiö-, sperma- ja sierainlimanäytteestä arteriittiviruksen suhteen positiivisiksi todettiin kaksi abortoitunutta sikiötä. Luodut sikiöt olivat samalta tallilta, ja tallin orin todettiin myöhemmin jääneen kantajaksi. (Evira 2005-2010). EAV on osoittautunut luomisen aiheuttajaksi edellisen kerran vuonna 2011. Kantajiksi jääneitä oreja ei Eviran tutkimuksissa ole todettu vuoden 2010 jälkeen. Vuonna 2013 näytteitä saatiin tutkittavaksi aikaisempaa huomattavasti enemmän Eviran hevostautihankkeen seurauksena. (Evira 2011, Evira 2012b, Evira 2013b). EAV-viruksen varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä ja positiiviset löydökset viime vuosien ajalta on esitetty taulukossa 2.

Lisäksi Evira tutkii vuosittain 100-200 seeruminäytettä serologisesti. Vuonna 2013 tutkittavaksi saatiin 445 näytettä. (Evira 2005-2010, Evira 2013b). EVA-vasta-aineita on todettu Suomessa 1990-luvulta alkaen, keskimäärin noin viidenneksellä tutkituista hevosista (Evira 2011). Vuosina 2011-2013 äskettäiseen tartuntaan viittaava nousu pariseeruminäytteissä on todettu vuosittain yhdellä hevosella. Lisäksi yksittäisissä näytteissä nähdään satunnaisesti suuria vasta-ainepitoisuuksia, minkä voidaan katsoa viittaavan äskettäiseen tartuntaan. (Evira 2005-2010, Evira 2011, Evira 2012b, Evira 2013b).



Taulukko 2. Evirassa EAV-viruksen varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä ja positiiviset löydökset Suomessa vuosina 2005-2013.

Vuosi	EAV-viruksen varalta tutkittujen elinnäytteiden määrä	EAV-positiivisten näytteiden määrä
2005	4	1 (spermanäyte)
2006	83	0
2007	57	0
2008	119	0
2009	105	5
2010	125	2
2011	129	1
2012	88	0
2013	294	0

## 4 HERPES- JA ARTERIITTIVIRUSTARTUNTOJEN ENNALTAEHKÄISY JA LEVIÄMISEN HALLINTA

Sekä hevosen herpes- että arteriittivirustartuntoja voidaan kontrolloida pyrkimällä estämään viruksen leviämistä. Keskeisessä roolissa on tautisuojausten toteutuminen talleilla. Viruksen leviämisen ehkäisemiseksi hevosten välisiä kontakteja tulisi rajoittaa pitämällä riskiryhmään kuuluvat hevoset erillään pienissä ryhmissä ja eristämällä uudet tulokkaat riittäväksi ajaksi. Etenkin nuoret, kilpailuissa käyvät hevoset tulisi pitää erillään tiineinä olevista tammoista. Oikea-aikaisesti annettuja rokotuksia voidaan käyttää lieventämään taudin oireita sekä apuna tautikontrollinnissa vähentämään sairastuneiden hevosten viruseritystä. (Allen 2002, Holyoak ym. 2008). Rokotteet on käsitelty kappaleessa 4.2.

Suomessa sekä hevosen herpesvirustartunnat (EHV1 ja EHV4) että virusarteriitti on luokiteltu lainsäädännössä kuukausittain ilmoitettaviksi eläintaudeiksi (MMMa 1010/2013).

### 4.1. Hevosten väliset kontaktit

Tärkein keino ehkäistä viruksen leviämistä on pitää riskipopulaatioon kuuluvat hevoset pienissä, erillisissä ryhmissä, joiden välinen kontakti on mahdollisimman vähäinen. Lauman koko on nimittäin suorassa suhteessa infektoitumisvaarassa olevien hevosten määrään. Ryhmien muodostamisessa tulisi välttää sekoittamista nuoria hevosia vanhempien kanssa ja pitää tiineenä olevat omilla ryhmissään. Tiineyden aikaiset ryhmät tulisi muodostaa jo varhaistiineyden aikana, jotta välttyttäisiin sosiaalisen stressin kasvamiselta lopputiineydessä. Odotettu varsomispäivä tulisi olla samaan ryhmään kuuluvilla samoihin aikoihin, eikä ensikertalaisia tulisi pitää vanhempien siitostamujen kanssa yhdessä. (Allen 2002, Holyoak ym. 2008).

Ryhmien välillä tulisi olla riittävästi etäisyyttä aerosolitartuntojen estämiseksi. Uusien hevosten tuomista ryhmään tulisi välttää tai ainakin pitää tulijat eristettynä kolmen

viikon ajan. Etenkin ne hevoset, jotka ovat olleet tekemisissä useiden muualta tulevien hevosten kanssa (esim. kilpailuissa ja valmennustalleilla olleet) muodostavat suurimman tartuntariskin. (Allen 2002, Holyoak ym. 2008).

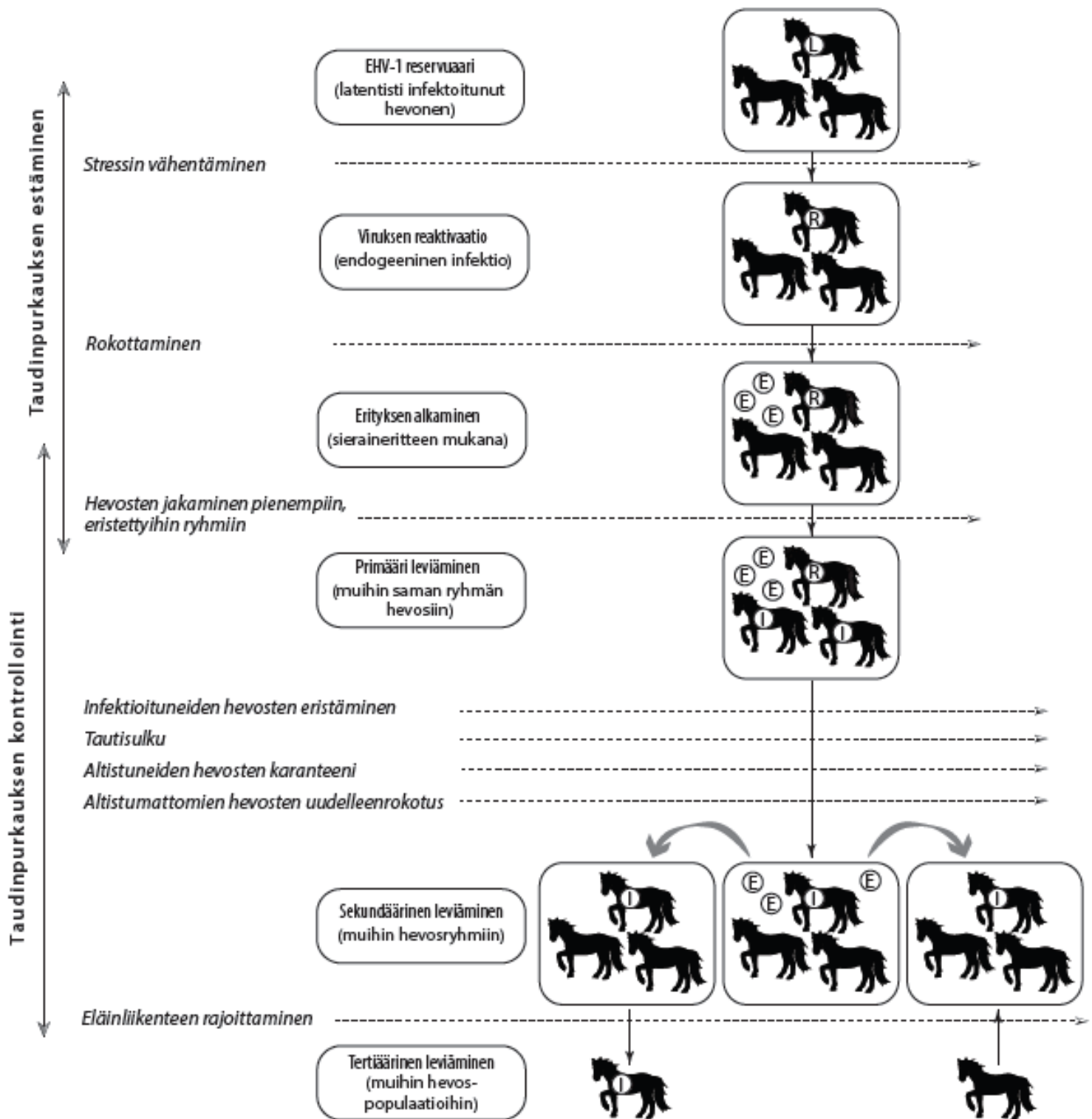
#### 4.1.1 Herpesviruskontrollin erityispiirteet

Latenteiksi kantajiksi jääneet hevoset tulisi tunnistaa ja eristää muista hevosista. Latentin viruksen reaktivaation eli endogeenisen infektion ennaltaehkäisemiseksi tulisi hevosten kokeman stressin olla mahdollisimman vähäinen. Tähän liittyy muun muassa riittävän väljät elinolosuhteet, sopiva ruokinnallinen taso sekä stressittömät sosiaaliset suhteet. Merkittäviä stressin aiheuttajia ovat lisäksi muun muassa vieroitus, pitkät kuljetusmatkat, vakavat loisinfektiot sekä muut sairaudet. (Allen 2002). Hevosen herpesviruksen epidemiologia ja taudinvastustuksen kriittiset pisteet on esitetty kuvassa 3.

#### 4.1.2 Arteriittiviruskontrollin erityispiirteet

Hevosen virusarteriitin torjunnassa keskeisintä on pyrkiä vähentämään venereaali-infektioita tunnistamalla persistoivasti infektioituneet oriit. Suomessa virusarteriittirokotteita ei ole käytettävissä, ja tautitorjunta perustuukin ennaltaehkäiseviin tautisuojaustoimenpiteisiin talleilla ja keinosiemennysasemilla sekä diagnostisiin tutkimuksiin luomistapauksen sattuessa. (Kaartinen ja Sihvonen, henkilökohtainen tiedonanto).

Suurissa hevostalousmaissa käytetään lisäksi rokotteita apuna estämään persistoivien infektioiden syntyä. Kaikki siitokseen käytettävät oriit, myös keinosiemennykseen käytettävät, tulisi testata ennen siitoskauden alkamista. (Glaser ym. 1996). Persistoivasti infektioituneet oriit tulisi pitää eri tiloissa infektioitumattomista oreista ja käyttää käsiteltäessä ja astutustilanteissa eri välineitä. Aerosolisaation estämiseksi kuivikkeet voidaan käsitellä desinfektiivilla aineilla. (Holyoak ym. 2008). Persistoivasti infektioituneita oreja ei pidä käyttää jalostukseen muille kuin infektion tai rokotuksen seurauksena vasta-aineita kehittäneille seropositiivisille tammoille. (Glaser ym. 1996).



**Kuva 3.** Kaavakuva tyypillisen EHV-infektion alkamisesta ja etenemisestä. Kuvassa on lisäksi esitetty keskeiset hallintapisteet, joilla viruksen leviämistä voidaan pyrkiä estämään. L = latentti virus. R = reaktivoitunut virus. E = erittyvä virus. I = infektoiva virus (Mukaan *Epidemic disease caused by Equine Herpesvirus-1: recommendations for prevention and control. GP Allen, Equine Vet. Educ. (2002) 14 (3) 140.*)

## 4.2 Rokottaminen

Rokottaminen on useissa virussairauksissa tehokkain vastustuskeino leviämisen ehkäisemiseksi. Rokottamisen tarkoituksena on tehostaa immuunijärjestelmän toimintaa siten, että kliiniset oireet lieventyvät ja viruksen erittyminen vähenee. (Minke ym. 2004). Herpes- ja arteriittivirusten torjunnassa on kuitenkin pidettävä mielessä, että rokotukset antavat ainoastaan osittaisen suojan ja tallien tautisuojauskella on edelleen keskeinen rooli tautivastustuksen onnistumisessa (Allen 2002, Holyoak ym. 2008).

### 4.2.1 Rokotetyypit

Virusrokotteet ovat perinteisesti sisältäneet joko eläviä heikennettyjä tai kemiallisesti inaktivoituja viruksia. Uuden sukupolven DNA-teknologiaa hyödyntäviä rokotteita on kehitteillä. Markkinoilla on ollut hevosen arteriitti- ja herpesvirustartuntoja vastaan sekä muunneltuja että inaktivoituja rokotteita. DNA-rokotteet ovat tutkimuksen alla, mutta tutkimustyö ei ole vielä edennyt hevosrokotteiden käyttöönottoon. (Minke ym. 2004).

#### 4.2.1.1 Elävät heikennetyt virusrokotteet

Eläviä heikennettyjä viruksia sisältävät rokotteet ovat usein tehokkaimpia, sillä niiden aiheuttama immuunivaste on seurausta rokoteviruksen replikoitumisesta ja muistuttaa siis subkliinistä infektiota. Niiden indusoima immuunivaste alkaa nopeammin ja on pitkäkestoisempi. Kestävä immuniteetti saadaan usein aikaiseksi yhdellä rokotekerralla. Vaarana on toisaalta varsinkin geneettisesti instabiilien rokotevirusten muuntuminen takaisin virulenteiksi, jolloin seuraukset saattavat olla fataalejakin. Epäonnistunut heikentäminen johtaa kliinisten oireiden ilmenemiseen, jota vastoin liiaksi heikennetty virus ei kykene replikoitumaan eikä nostamaan immuunivastetta. (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004).

Eläviä heikennettyjä rokotteita ei yleensä suositella käytettäväksi immunosuppressiivisille eläimille. Tiineilläkin eläimillä niiden sijasta on suositeltavampaa käyttää inaktivoituja rokotteita tai immunisoida eläin ennen

tiinehtymistä, sillä elävät heikennetyt virukset saattavat olla aborti- tai teratogeenisiä. (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004)

Viruksen heikentämiseksi on useita menetelmiä. Jo rokotehistorian varhaisimpina aikoina hyödynnettiin luonnollisesti ilmeneviä virulentiltaan heikompia virustyyppisiä. Virulenttia villityypin virusta voidaan myös viljellä toistuvia kertoja yhdessä tai tavallisemmin useassa erilaisessa solutyypissä. Kun virusta siirrostetaan toistuvasti kasvamaan soluviljelmissä, se voi menettää asteittain alkuperäistä virulenssiaan. Samaa ominaisuutta hyödynnetään sopeuttamalla virus kasvamaan toisessa eläinlajissa. (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004).

#### 4.2.1.2 Inaktivoitujen virusrokotteet

Inaktivoitujen rokotevirukset ovat käyttökelpoisia ja oikein valmistettuina hyvin turvallisia. Niiden indusoima immuunivaste on kuitenkin usein heikompi, sillä ne eivät replikoidu rokotettavan eläimen elimistössä. Immuunivasteen kesto on lyhyempi, antigeeninen kirjo on kapeampi ja niiden aiheuttama soluvälitteinen vaste on heikompi. Antigeeniä tuleekin rokotteessa olla eläviin heikennettyihin viruksiin verrattuna enemmän, ja useat tehosteet ovat tarpeellisia. Kemiallisten adjuvanttien vuoksi sivuvaikutuksia saattaa esiintyä enemmän. Inaktivointi voidaan tehdä käyttämällä korkeaa lämpötilaa tai kemiallisia aineita. Tavallisimmin käytettyjä kemikaaleja ovat formaldehydi, B-propiolaktoni ja etyleeni-imiini. Epäonnistunut inaktivointi voi johtaa rokoteviruksen aiheuttamaan tautiin. (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004).

#### 4.2.1.3 Uuden sukupolven rokotteet

Molekulaaribiologian edistysaskelten myötä kehitteillä on uusia rokotetyyppejä, joilla pyritään saamaan lisää turvallisuutta ja tehokkuutta. Uudet rekombinantiteknologiaa hyödyntävät rokotteet indusoivat luonnollisen infektion kaltaisen immunitetin stimuloimalla sekä humoraalista että soluvälitteistä immuunivastetta. Uudentyyppisiin rokotteisiin voidaan yhdistää myös merkkiantigeeni (DIVA, differentiation of infected from vaccinated animals), jolloin voidaan ELISA-menetelmää käyttäen erottaa

seropositiviset rokotuksen saaneet hevoset infektoituneista. Hevosrokotteissa DIVA ei ole vielä toistaiseksi käytettävissä (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004).

Uusia rokotetyyppejä ovat esimerkiksi geenideleetiolla heikennetyt rokotevirukset, elävät vektorirokotteet ja DNA-rokotteet. DNA-rokotteissa hyödynnetään plasmideissa monistettua paljasta DNA:ta, joka koodaa viruksen immunogenejä. DNA-rokotteet stimuloivat hyvin sekä humoraalista että soluvälitteistä immunitettä, ne eivät voi muuntua virulenteiksi ja ne pystyvät indusoimaan immunitetin myös maternaalisten vasta-aineiden läsnäollessa. DNA-rokotteiden laajamittaiseen hyödyntämiseen käytännön praktiikassa liittyy kuitenkin vielä haasteita. (MacLachlan & Dubovi 2011a, Minke ym. 2004).

#### 4.2.2 Rokotevaikutuksen tehostaminen

Etenkin inaktivoitujen rokotteiden immunogeenisyyttä on yleensä tehostettava riittävän tautisuojaan aikaansaamiseksi. Tähän tarkoitukseen voidaan käyttää erilaisia adjuvanttiaineita, liposomeja tai immunostimuloivia yhdisteitä. Adjuvantteja on rakenteeltaan ja toimintamekanismiltaan useita erilaisia. Osa hidastaa antigeenin hajoittamista ja vapautumista, toiset aktivoivat paikallisesti tärkeitä immunologisia soluja kuten makrofageja, lymfosyyttejä ja dendriittisoluja. Eläinrokotteissa usein käytettäviä adjuvantteja ovat muun muassa alumiinisulolat ja mineraaliöljyt. Lipidimembraanin sisään sijoitetut virusproteiinit (ISCOM, immunostimulating complex adjuvant) matkivat hyvin luonnollista virusrakennetta ja nostavat immuunivastetta tehokkaasti. (MacLachlan & Dubovi 2011a).

#### 4.2.3 Rokottaminen hevosen herpesvirusinfektioita vastaan

Hevosen herpesvirusrokotuksilla pyritään vähentämään kliinisten hengitystieoireiden voimakkuutta ja esiintyvyyttä etenkin nuorilla hevosilla sekä alentamaan tiineiden tammojen luomisten esiintyvyyttä EHV1-altistuksen sattuessa. Rokotteiden toisena tärkeänä tarkoituksena on vähentää viruseritystä taudinpurkausten hallinnan auttamiseksi.

#### 4.2.3.1 Käytössä olevat herpesvirusrokotteet

Inaktivoitujen herpesvirusrokotteiden kehittäminen aloitettiin 1970-luvulla (Kydd ym. 2006). Myös Euroopassa nykyään käytössä olevat virusabortin ennaltaehkäisyyn tarkoitetut valmisteet ovat kemiallisesti inaktivoituja. Bryansin ja Allenin (1982) tekemässä viisivuotisessa kenttätutkimuksessa tiineenä olevia tammoja rokotettiin kolme kertaa tiineyden jälkimmäisen puoliskon aikana inaktivoitulla EHV1-rokotteella. Aborttien kertymänsidenssi oli merkittävästi alhaisempi rokotuksen saaneilla tammoilla (1.6/1000 rokotetuilla vs. 6.8/1000 muussa populaatiossa). Kyddin ym. (2006) katsausartikkelin mukaan samansuuntaisia tuloksia rokotteen tehoavuudesta on saatu myös muutamassa muussa tutkimuksessa.

Monissa myöhemmissä tutkimuksissa eroa aborttien ilmenemisen välillä ei kuitenkaan ole pystytty osoittamaan. Bürkin ym. tutkimuksessa (1990) immunisoitiin 18 hevosta, joukossa sekä tiineitä tammoja että ei-tiineitä nuoria ja aikuisia hevosia, useampaan kertaan joko elävällä tai inaktivoitulla kaupallisella herpesvirusrokotteella. Tämän jälkeen hevoset altistettiin intranasaalisesti virulentille viruskannalle. Virusaltistuksen jälkeen hevosista arvioitiin kliininen kuva (kuume, silmä- tai sierainvuoto ja yskä), serologinen status sekä aborttien ilmeneminen tiineillä tammoilla.

Serologisen vasteen kehittyminen oli tutkimuksen mukaan heikko. Kliinisiä oireita ilmeni altistuksen jälkeen vähintään vähäisessä määrin kaikilla hevosilla, vanhemmilla hevosilla lievemmin kuin nuorilla. Molemmissa rokoteryhmissä rokote antoi kuitenkin osittaisen suojan. (Bürki ym. 1990).

Tiineyden keskeytymistä vastaan rokotteen antama suoja oli sitä vastoin yllättävän heikko. Kymmenestä tiineestä tammasta jopa viisi abortoi virusinfektioituneen varsan. Abortoituminen tapahtui 17-53 päivää virusaltistuksen jälkeen. (Bürki ym. 1990). Tutkimuksen perusteella ei kuitenkaan voi verrata rokotuksen tehoa rokottamattomiin hevosiin nähden, koska rokottamattomat kontrollitamat puuttuivat (Kydd ym. 2006).



Keskustelua on käyty myös siitä, tulisiko rokotteen sisältää sekä EHV1- että EHV4-komponentteja mahdollisimman suuren immuunivasteen aikaansaamiseksi. Heldens ym. (2001) selvittivät inaktivoitua, sekä EHV1- että EHV4-antigeenejä sisältävän rokotteen tehoa altistustutkimuksessa. Tässä tutkimuksessa todettiin rokotetuilla hevosilla ilmenevän lievempiä kliinisiä oireita, ja ne erittivät virusta vähemmän ja lyhyemmän aikaa verrattuna rokottamattomiin kontrolleihin. Lisäksi aborttien esiintyvyys rokotettujen tammojen ryhmässä oli selvästi alhaisempi kuin rokottamattomilla (1/5 rokotetuilla ja 4/4 kontrolliryhmässä). Tutkimuksen mukaan rokotteella oli siis osittainen mutta selvä suoja virusinfektiota vastaan. Tutkijat päättelivät bivalenttisen rokotteen antavan mahdollisesti paremman suojan, sillä myös EHV4 saattaa aiheuttaa sporadisesti abortteja, eikä vasta-aineiden ristisuojauksesta ole yhdensuuntaista näyttöä.

EHV1:stä esiintyy lisäksi kahta geneettisesti eroavaa tyyppiä (1B ja 1P). Tutkimusten mukaan suurin osa Euroopassa eristetyistä EHV1-isolaateista on 1P-tyyppiä. Viruskannan yhteyttä rokotteen tehokkuuteen ei kuitenkaan ole kunnolla selvitetty. (Minke ym. 2004).

Tutkimustietoa on myös vähän sen suhteen, onko rokotteista apua neurologisen taudinmuodon estämisessä. Tällaista tutkimusta vaikeuttavat paitsi neurologisen sairauden aikaansaaminen myös tutkimukseen liittyvät ilmeiset hyvinvointi- ja eläinsuojeluseikat. (Kydd ym. 2006).

Tutkimuksia kaupallisten EHV1-rokotteiden tehon selvittämiseksi on siis tehty useita kuluneiden 30 vuoden aikana. Samoistakin rokotteista saadut tulokset ovat kuitenkin usein vaihtelevia ja keskenään ristiriitaisia. Ainakin osasyynä toisistaan poikkeaviin tuloksiin saattavat olla käytettyjen eläinten erilaiset immunologiset statukset, sillä eläinten aikaisempaa altistumista EHV1:lle ei aina pystytä varmuudella poissulkemaan viruksen laajan levinneisyyden ja latenssitaipumuksen vuoksi. (Kydd ym. 2006). Eroja saattaa lisäksi seurata esimerkiksi tammojen eri tiineysvaiheista tai rotujen välisistä eroista. Tutkimustulokset ovat kuitenkin kaiken kaikkiaan yhdensuuntaisia sen suhteen, että rokotteet antavat ainoastaan osittaisen kliinisen ja virologisen suojan, eivätkä estä täysin viremian kehittymistä tai mahdollisia abortteja. (Minke ym. 2004).

#### 4.2.3.2 Kehitteillä olevat herpesvirusrokotteet

Nykyisten herpesvirusrokotteiden ongelmana on niiden heikko immunisointikyky, jolloin ne pystyvät tarjoamaan vain osittaisen suojan kliinisten oireiden puhkeamiselta ja aborteilta. Systemisten vasta-aineiden tuotanto ei näytä riittävästi stimuloivan immuunijärjestelmää. Tulevaisuuden rokotteissa voitaisiinkin pyrkiä etsimään keinoja stimuloida immuunivastetta mukosapinnoilla ja soluissa. Kokeellisesti tällaisia rokotteita on etsitty rekombinantti-, vektori- ja DNA-rokotteista. (Minke ym. 2004).

Esimerkki kehitteillä olleista rekombinanttirokotteista on gE/gI -geenideleetiorokote, joka osoittautui turvalliseksi mutta tarjosi kuitenkin vain osittaisen suojan altistuskokeessa. Toiseen mutaatioon perustuva tymidiinikinaasi-negatiivinen mutantti ei puolestaan onnistunut estämään viremiaa altistuksen jälkeen. Myös linnun avipox-viruksen ja EHV1:n yhdistävä rekombinanttirokote ei estänyt viremiaa, vaikka vähensikin viruseritystä. (Minke ym. 2004).

Uudentyyppiset rokotteet eivät ole siis vielä tulossa muuhun kuin kokeelliseen käyttöön. Lisää tutkimuksia on tarpeen saada esimerkiksi virulenssigeeneistä, joiden avulla pystyttäisiin luomaan tehokkaita geenideleetiorokotteita. Toinen mielenkiinnon kohde on EHV:n immunodominovien suoja-antigeenien löytäminen ja niiden vaikutusten tutkiminen isäntäelimistön immuunijärjestelmän kanssa. (Minke ym. 2004).

#### 4.2.3.3 Rokotusohjelma hevosen herpesvirusinfektioita vastaan

Suomessa rokotteiden käyttö herpesvirustartuntojen ennaltaehkäisyssä on huomattavasti vähäisemmässä roolissa kuin Yhdysvalloissa ja monissa Euroopan suurissa hevostalousmaissa. Suomessa on käytettävissä kaksi erityisluvallista rokotetta virusaborttia vastaan: Pneumabort K + 1b ja Equip EHV 1,4. (Evira 2014b). Lisäksi Suomessa on myyntiluvallinen herpes-influenssayhdistelmärokote (Equilis Resequin), joka ei Fimean lääketietosivujen mukaan ole kuitenkaan tällä hetkellä kaupan (Fimea). Suomessa käytettävissä olevat herpesvirusrokotteet on koottu taulukkoon 3.

Pneumabort K + 1b sisältää EHV1:n alatyyppejä 1P ja 1B, jotka on kemiallisesti inaktivoitu formaldehydillä. Valmistuksessa on käytetty öljyadjuvanttia. Tiineille tammoille rokoteannos annetaan intramuskulaarisesti 5., 7. ja 9. tiineyskuukauden aikana tai tamman joutuessa kontaktiin EHV1-positiivisen hevosen tai materiaalin kanssa. Rokotukset tulee uusida jokaisen uuden tiineyden yhteydessä. Rokotteen käyttöohjeessa ohjeistetaan rokottamaan myös muut tammat, jotka ovat kontaktissa tiineiden tammojen kanssa. Nuorille hevosille hengitystieinfektiolta suojaava uusintarokotus annetaan 4 viikon sekä vielä 6 kuukauden kuluttua. (Pneumabort K+1b, valmisteyhteenveto).

Equip EHV 1,4 sisältää inaktivoituja EHV1- ja EHV4-komponentteja. Tiineille tammoille rokote annetaan 5., 7. ja 9. tiineyskuukauden aikana. Hengitystietartunnoilta suojaamiseksi rokote tulee uusida 4-6 viikon kuluttua ja tämän jälkeen puolivuositain. (Equip EHV 1,4, valmisteyhteenveto).

Suomessa on lisäksi käytössä pelkästään hengitystieoireita lieventävä yhdistelmärokote (Equilis Resequin). Rokote sisältää inaktivoituja EHV1- ja EHV4-komponentteja sekä kolmea hevosen influenssavirusantigeeniä. Adjuvanttina on käytetty alumiinihydroksidia ja Immunostim-valmistetta. Tehdyissä tutkimuksissa rokotteen on todettu vähentävän viruseritystä ja lyhentävän erityksen kestoa. Kliinisiä oireita, kuten pyreksiaa ja sierainvuotoa, todettiin ilmenevän selvästi vähemmän rokotetuilla kuin rokottamattomilla. (Resequin, valmisteyhteenveto).

Varsojen rokottamista suositellaan aikaisintaan 6 kuukauden iässä maternaalisten vasta-aineiden vuoksi. Uusintarokotus annetaan 2 kuukauden kuluttua, minkä jälkeen rokotuksen tehostamista suositellaan puolivuositain. Altistuskokeissa suojaava immuniteetti kehittyi kuukauden kuluessa ensimmäisestä rokotuksesta. Rokotetta voidaan turvallisesti käyttää myös tiineyden ja laktaation aikana. Satunnaisesti ilmenee lievää lämmönnousua ja adjuvanttien aiheuttamaa, 1-2 viikossa ohimenevää pistoskohdan turvotusta. (Resequin, valmisteyhteenveto).

Taulukko 3. Suomessa käytettävissä olevat herpesvirusrokotteet.

Rokote	Rokotteen komponentit ja tyyppi	Käyttöindikaatio	Rokotusohjelma
Pneumabort K + 1B; Zoetis, erityislupa	EHV1p, EHV1b, inaktivoitu	EHV1:n aiheuttaman hengitystietartunnan ja aborttien ennaltaehkäisy	Tiineet tammat: 5., 7. ja 9. tiineyskk Nuoret hevoset: tehosterokotus 2 ja 6 kk kuluttua, sitten vuosittain
Equip EHV 1,4; Zoetis, erityislupa	EHV1, EHV4, inaktivoitu	EHV1:n ja EHV4:n aiheuttamien hengitystietartuntojen ja aborttien ennaltaehkäisy	Tiineet tammat: 5., 7. ja 9. tiineyskk Nuoret hevoset: tehosterokotus 6 vkon kuluttua, sitten puolivuositain
Equilis Resequin; Intervet (tällä hetkellä ei kaupan)	EHV1, EHV4, influenssavirus , inaktivoitu	EHV1:n, EHV4:n ja influenssaviruksen aiheuttamien hengitystietartuntojen oireiden lieventäminen	Nuoret hevoset: tehosterokotus 6 vkon kuluttua, sitten puolivuositain

#### 4.2.4 Rokottaminen hevosen arteriittivirusinfektioita vastaan

Hevosen arteriittivirusinfektioita vastaan on maailmalla olemassa sekä heikennettyjä että inaktivoituja rokotteita. EVA-alueilla nuorten oriiden rokottaminen ennen sukukypsyyssikää persistoivien infektioiden vähentämiseksi on tärkeimpiä taudinvastustuskeinoja. Monet maat vaativat todistuksen hevosen seronegatiivisuudesta ennen rokotusta. (Holyoak ym. 2008). Suomessa EVA-rokotteita ei ole käytössä (Evira 2012a).

##### 4.2.4.1 Käytössä olevat arteriittivirusrokotteet

EVA-rokotteita on valmistettu sekä elävistä heikennetyistä että inaktivoituista viruksista. Elävästä heikennetystä viruksesta valmistettu rokote (Arvac, Fort Dodge Laboratories) on saatavilla USA:ssa ja Kanadassa, mutta EU:n alueelle se ei ole todennäköisesti tulossa myyntilupaani liittyvien kalliiden teho- ja laatuvaatimusten vuoksi. Euroopan alueella Iso-Britanniassa, Ranskassa, Irlannissa, Unkarissa ja

Tanskassa on käytössä inaktivoitu, Pfizerin valmistama rokote (Artervac tai Equip Artervac; Fort Dodge Laboratories). (Glaser ym. 1996, MacLachlan ym. 2007).

Elävä heikennetty virusrokote on kehitetty EAV:n Bucyrus-kannan prototyypistä, jota on heikennetty *in vitro* viljelyillä hevosen ja kaniinin soluissa. Rokote tarjoaa vuoden kestävä immuniteetin kliinistä tautia vastaan mutta ei estä infektoitumista. Kliinisesti ilmenevistä haittavaikutuksista on havaittu vain ohimenevästi lievää lämmönnousua ja lymfopeniaa. Satunnaisesti virusta on eristetty 7 päivän ajan nenänielusta, peräsuolesta ja verestä mutta ei spermasta tai virtsasta. Rokotetta ei pidä käyttää tiineille tammoille etenkin kahden viimeisen tiineyskuukauden aikana, ellei infektoitumisen riski ole poikkeuksellisen huomattava. Rokote ei sovellu myöskään alle 6 viikon ikäisille varsoille. (Minke ym. 2004, MacLachlan ym. 2007)

Alkuperäinen inaktivoitu rokote kehitettiin kudosviljelmässä monistetusta Bucyrus-kannan viruksista, jotka inaktivoitiin formaliinilla. Rokotteen teho ilman adjuvanttia oli kuitenkin heikko, ja vain korkean vasta-ainetiitterin kehittäneet hevoset saivat suojan kliinisiä oireita vastaan. Nykyinen rokote on täydennetty adjuvantilla, eikä viruksen inaktivoinnissa ole käytetty formaliinia. Rokote suojaa kliinisten oireiden ilmenemiseltä sekä hengitysteitse että venereaalisesti tapahtuneen altistuksen jälkeen ja vähentää viruksen nasaalista erittymistä. Se estää myös oreja jäämästä viruksen kantajiksi. Infektiolta rokote ei kuitenkaan anna suojaa. Rokotteen tarjoama immuniteetti kahden injektion jälkeen kestää kuusi kuukautta. Immunosuppressiivista hoitoa saaneille eläimille rokotetta ei pidä käyttää ennen kuin hoidosta on kulunut neljä viikkoa. (Minke ym. 2004, Artervac valmisteyhteenveto)

Artervac-rokotteen sivuvaikutuksina on havaittu viidenneksellä hevosista lievää (alle 40 °C) ja 1-5 päivässä laskevaa lämmönnousua. Ohimenevää paikallista, yleensä alle neljän senttimetrin kokoisella alueella ilmenevää turvotusta on esiintynyt viidenneksellä hevosista. Harvinaisiin, systeemisiin reaktioihin lukeutuvat depressio, okulaarinen ja nasaalinen vuoto, urtikaria ja oedema raajojen, kivespussien ja abdomenin alueella. (Artervac valmisteyhteenveto)

#### 4.2.4.2 Kehitteillä olevat arteriittivirusrokotteet

Nykyisten rokotteiden haittapuolena on, ettei ole mahdollista erottaa rokotettuja hevosia infektoituneista. Tällä on merkitystä etenkin hevosten kansainvälistä liikkumista koskevissa rajoituksissa. Tutkimuksen alla onkin useita rekombinanttirokotteita, jotka voisivat toimia DIVA-merkkirokotteina. (Minke ym. 2004). Kehitteillä on ollut ainakin DIVA-rokote, joka perustuu elävän heikennetyn viruksen geenideleetioon sekä alayksikkörokote (engl. subunit vaccine), jonka valmistuksessa on käytetty Venezuelan enkefaliittiviruksesta johdettuja rekombinanttipartikkeleita (MacLachlan ym. 2007). Kokeellisen DNA-rokotteen on raportoitu nostaneen hyvin vasta-ainetasoja etenkin yhdistettynä hevosen interleukiini-2:n kanssa. Neutralisoivat vasta-aineet säilyvät 12 kuukauden ajan, ja immuunivaste oli yhtä hyvä myös vanhoilla hevosilla. (Giese ym. 2002). Yksikään uudentyyppisistä rokotteista ei ole kuitenkaan edennyt lopulliselle kehitystasolle. Kysymyksiä liittyy etenkin turvallisuuteen sekä rokotteiden tarjoamaan immuniteettiin abortteja ja persistoivia infektiota vastaan. (Minke ym. 2004).

#### 4.2.4.3 Rokotusohjelma hevosen arteriittivirusinfektioita vastaan

Niissä maissa, joissa virusarteriittirokote on käytössä, rokotetta käytetään ensisijaisesti suojaamaan nuoria oreja persistoivalta infektiolta. Toisissa maissa rokote on lisäksi käytössä kantajaoreilla astutettaville tammoille. (Holyoak ym. 2008). Ensimmäinen rokote annetaan 6 kk iässä ja tehoste 3-6 viikon päästä ensimmäisestä injektiosta. Rokotus suositellaan uusittavan 6 kuukauden välein. (Artervac, valmisteyhteenveto).

Nuorille oreille annettu EVA-rokote suojaa hyvin persistoivan infektion kehittymiseltä. Orien rokottaminen prepubertaalivaiheessa, kun ne eivät voi vielä tulla kantajiksi, onkin keskeisimpiä EVA:n torjuntakeinoja endeemisillä alueilla. Ennen ensimmäistä rokotusta orit tutkitaan serologisesti, jotta voidaan varmistua niiden negatiivisesta statuksesta. Todistus on tärkeä etenkin ulkomaille kuljetettaville oreille, sillä monet maat vaativat hevospassiin merkityn tiedon ennen rokotusta olleesta seronegatiivisuudesta. (Holyoak ym. 2008).

Rokottamattomien, seropositiivisten oriiden sperma voidaan tutkia viruseristyksen avulla tai kokeilemalla siemennystä kahdella seronegatiivisella tammalla. Jos virusta ei pystytä eristämään tai jos tammat jäävät seronegatiivisiksi, ori luokitellaan seropositiiviseksi ei-erittäväksi oriksi, ja sitä voidaan käyttää jalostukseen normaalisti. Jos viruseristys puolestaan on positiivinen tai jos tammat serokonvertoivat 28 päivän kuluessa, ori on viruksen kantaja. (Holyoak ym. 2008).

Persistoivasti infektoituneita oriita voidaan käyttää jalostukseen tietyin ehdoin. Astutettavan tamman tulee olla seropositiivinen, joko luonnollisen infektion tai rokotuksen seurauksena. Tamma tulee pitää eristettynä kaikista seronegatiivisista hevosista 1-2 vuorokauden ajan siemennyksen jälkeen. Ensi kertaa rokotetut tammat suositellaan pidettävän eristyksissä kolmen viikon ajan. Erityisen tärkeää on pitää tammat erillään tiineistä hevosista, huomioiden sekä aerosolivälitteinen että epäsuora kontakti eläinten välillä. Seronegatiiviset tammat rokotetaan vähintään neljä viikkoa ennen kantajaoriilla siementämistä. (Holyoak ym. 2008). Eräissä maissa, kuten Irlannissa, EVA-rokote on varattu ainoastaan oriiden käyttöön (Lenihan 2008). Seropositiivisten tammojen eristyskäytännöt ovat toisaalta rajoittavia ja myös taloudellisesti kalliita, mutta toisaalta ne mahdollistavat persistoivasti infektoituneiden oriiden turvallisen jalostuskäytön (Timoney & McCollum 1987).

## 5 POHDINTA

Hevosen herpes- ja arteriittiviruksen aiheuttama taudinkuva on useimmiten lieväoireinen hengitystietulehdus, mutta kummankin viruksen taudinkuvaan voi lisäksi liittyä kantavien tammojen abortteja. Sekä herpes- että arteriittivirusten tautitorjunta perustuu ensisijaisesti talleilla tapahtuvan ennaltaehkäisyn onnistumiseen. Herpesviruksia vastaan Suomessa on lisäksi käytettävissä infektiolta osittain suojaava rokote.

Diagnostiikkaa ei kummankaan viruksen kohdalla voida tehdä pelkästään oireiden perusteella. Myös yksittäisissä luomistilanteissa olisikin kannattavaa selvittää, löytyykö luomisen taustalta jokin infektiivinen aiheuttaja. Tällöin tautikontrollinnilla pystytään puuttamaan viruksen leviämiseen ennen kuin tilanne ehtii edetä epidemiaksi.

Herpesvirusrokotteiden tehokkuutta on selvitetty useissa tutkimuksissa vaihtelevin tuloksin. Yhdensuuntaista näyttöä on siitä, että rokotteiden antama suoja sekä kliinisesti että virologisesti arvioiden on vain osittainen, eikä rokotteiden avulla pystytä täysin suojaamaan tiineitä tammoja luomiselta (Minke ym. 2004). Lisäksi rokotteiden tarjoama suoja on lyhytaikainen, sillä riittävän immuniteetin ylläpitämiseksi esimerkiksi kantavat tammot on rokotettava jokaisen tiineyden yhteydessä uudestaan.

Mielenkiintoinen kysymys on, miksi rokotteilla ei saada täydellistä suojaa EHV1- abortteja vastaan. Tämä voi osittain liittyä latentteihin infektioihin, jolloin virukset pysyvät piilevinä suojassa immuunipuolustukselta. Tutkimusten mukaan myös EHV4 saattaa aiheuttaa sporadisesti abortteja, jolloin molempia komponentteja sisältävä rokote voisi teoriassa tarjota tehokkaamman suojan (Heldens ym. 2001). Lisäksi EHV1:stä esiintyy kahta erilaista geneettistä tyyppiä (1B ja 1P), joiden yhteydestä rokotteen tehokkuuteen ei ole vielä tarkempia tutkimuksia (Minke ym. 2004).

Koska rokotteilla saatava suoja on lyhykestoinen ja epätäydellinen, ennaltaehkäisevän tautivastustuksen tulisi perustua ensisijaisesti talleilla tapahtuvaan tautisuojaukseen. Tämä on erityisen tärkeää talleilla, joilla asuu eri-ikäisiä hevosia, jolloin hevosten



osastointiin tulisi kiinnittää huomiota jo ennaltaehkäisevästi. Tiineitä tammoja ja nuoria kilpahevosia ei tulisi pitää samoissa tiloissa, ja tallille muuttavat uudet hevoset tulisi pitää aluksi erillään muista hevosista. Herpesvirustartuntojen ennaltaehkäisyssä tulisi lisäksi huomioida latenttien eli piilevien virustartuntojen mahdollisuus. Latentin viruksen kantajiksi jääneet hevoset tulisi tunnistaa ja pyrkiä välttämään mahdollisia viruksen reaktivaatioon johtavia stressitilanteita, esimerkiksi pitkiä kuljetusmatkoja ja hevosten uusia ryhmittelyjä. (Allen 2002). Monissa talleissa ennaltaehkäisevän tautisuojausten toteuttaminen käytännössä lienee toisaalta vaikeaa tai jopa mahdotonta, sillä toiminta on Suomessa usein pienimuotoista ja tallien rakenteet valmiiksi niin ahtaita, ettei tilojen jakaminen eri osastoihin ole käytännön syistä mahdollista. Uusia talleja rakennettaessa tilojen toimivuus myös tautivastustuksen kannalta olisi kuitenkin kannattavaa ottaa huomioon jo suunnitteluvaiheessa.

Rokotteet ovat hyvä lisä herpesviruksen tautisuojauksessa, sillä niiden avulla pystytään lieventämään taudin oireita sekä vähentämään sairastuneiden hevosten viruseritystä (Allen 2002). Tämä vähentää muihin hevosiin kohdistuvaa tautipainetta. Suomessa rokotteita tunnutaan käyttävän rutiinisti selvästi harvemmin kuin suurissa hevosalousmaissa. Käytännön praktiikkatyössä saattaa joskus joutua arvioimaan rokottamisen tarpeellisuutta erilaisten hevosryhmien kohdalla. Suuremmilla talleilla, joissa uusia hevoskontakteja on paljon, tautiriski on hyvin erilainen verrattuna pieneen talliin, joissa kantavien tammojen joukossa ei ole ollenkaan nuoria kilpahevosia.

Viruseriittiä on esiintynyt Suomessa toistaiseksi ainoastaan yksittäisinä tapauksina. Tautitorjunta perustuukin tällä hetkellä käytännössä kokonaan ennaltaehkäiseviin tautisuojaustoimenpiteisiin talleilla ja keinosiemennysasemilla. Tautisuojaus esimerkiksi hevosten iänmukaisen ryhmittelyn avulla toteutetaan samojen ohjeiden mukaan kuin herpesviruksen kohdalla. Keinosiemennysasemilla orikohtaiset välineet käsittelyssä ja spermanottotilanteessa ovat tärkeässä roolissa myös muiden tarttuvien tautien torjunnan kannalta.

Arteriittiviruksen kontrolloinnissa tulee lisäksi ottaa huomioon persistoivasti infektoituneet oriit, sillä oireettomina ne pystyvät levittämään infektiota tehokkaasti

useisiin tammoihin (Balasuriya ym. 1999). Etenkin keinosiemennyksessä samaa oria saatetaan käyttää useiden kymmenien tammojen siementämiseen. Tässä mielessä olisikin perusteltua vaatia EAV-testaus kaikilta siitokseen käytettäviltä oreilta.

Tällä hetkellä EVA-rokote on käytössä muutamissa Euroopan maissa mutta ei Suomessa. Rokotetta käytetään tavallisimmin nuorille oreille suojaamaan persistoivan infektion kehittymiseltä (Holyoak ym. 2008). Tämänhetkinen tautitilanne virusarteriitin suhteen on Suomessa erittäin hyvin hallittavissa perinteisten tautisuojaustoimien ja tarvittaessa diagnostisten tutkimusten avulla. Jos tautitilanne tulevaisuudessa muuttuu, saattaa EVA-rokotteen käyttöönotto tulla tällöin harkittavaksi.

## 6 LÄHDELUETTELO

Allen GP. Epidemic disease caused by Equine Herpesvirus-1: recommendations for prevention and control. *Equine Vet Educ* 2002, 14: 136-142.

Aphis (Animal and Plant Health Inspection Service): Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy: A Potentially Emerging Disease. 2007.

Balasuriya UBR, Hedges JF, Nadler SA, McCollum WH, Timoney PJ, MacLachlan NJ. Genetic stability of equine arteritis virus during horizontal and vertical transmission in an outbreak of equine viral arteritis. *J Gen Virol* 1999, 80: 1949-1958.

Bazanov BA, Jackulak NA, Fracka AB, Staroniewicz ZM. Abortogenic viruses in horses. *Equine vet Educ* 2014, 26: 48-55.

Bryans JT, Allen GP. Application of a chemically inactivated, adjuvanted vaccine to control abortogenic infection of mares by equine herpesvirus I. *Dev Biol Stand* 1982, 52: 493-498.

Bürki F, Rossmannith W, Nowotny N, Pallan C, Möstl K, Lussy H. Viraemia and abortions are not prevented by two commercial Equine Herpesvirus-1 vaccines after experimental challenge of horses. *Vet Quart* 1990, 12: 80-86.

Crabb BS & Studdert MJ. Equine herpesviruses 4 (Equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus). *Adv Virus Res* 1995, 45: 153-190.

Equip EHV 1,4, Zoetis. Valmisteyhteenveto.

[www.pharmazie.com/graphic/A/74/8-20174.pdf](http://www.pharmazie.com/graphic/A/74/8-20174.pdf), haettu 14.12.2014.

Estes PC & Cheville NF. The ultrastructure of vascular lesions in equine viral arteritis. *Am J Pathol* 1979, 58: 235-253.

- Evira 2005-2010. Virusarteriitti ja EHV-tutkimukset Evirassa. Eläintautivirologia, Evira.
- Evira 2011. Eläintaudit Suomessa 2011, Eviran julkaisuja 8/2012.
- Evira (Evira 2012a). Virusarteriitti (Equine Viral Arteritis, EVA).  
<http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten+terveys+ja+elaintaudit/elaintaudit/hevoset/virusarteriitti>, haettu 14.12.2014, päivitetty 16.4.2012.
- Evira 2012 (Evira 2012b). Eläintaudit Suomessa 2012, Eviran julkaisuja 9/2013.
- Evira (Evira 2013a). Hevosen herpesvirus EHV-1 ja EHV-4 infektiot.  
<http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten+terveys+ja+elaintaudit/elaintaudit/hevoset/hevosen+herpesvirus+ehv+1+ja+ehv+4>, haettu 14.12.2014, päivitetty 4.4.2013.
- Evira 2013 (Evira 2013b). Eläintaudit Suomessa 2013, Eviran julkaisuja 3/2014.
- Evira (Evira 2014a). Näytteenotto- ja lähetysohjeet: hevosten hengitystievirustaudit.  
<http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten+terveys+ja+elaintaudit/naytteenotto+ja+lahetysohjeet/hevonen/hengitystievirustaudit>, haettu 14.12.2014, päivitetty 9.9.2014.
- Evira (Evira 2014b). Hevosrokotteet.  
<http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten+terveys+ja+elaintaudit/rokoteneuvonta/elainlajikohtaiset+rokotteet/hevosrokotteet>, haettu 14.12.2014, päivitetty 24.10.2014.
- Fimea. Lääkehaku.  
<http://www.fimea.fi/laaketieto/laakehaku>, haettu 14.12.2014.
- Glaser AL, de Vries AAF, Rottier PJM, Horzinek MC, Colenbrander B. Equine arteritis virus: A review of clinical features and management aspects. Vet Quart 1996, 18: 95-99.
- Giese M, Bahr U, Jakob NJ, Kehm R, Handermann M, Müller H, Vahlenkamp TH,

Spiess C, Schneider TH, Schusser G, Darai G. Stable and long-lasting immune response in horses after DNA vaccination against equine arteritis virus. *Virus Genes* 2002, 25: 159-167.

Gilkerson JR, Whalley JM, Drummer HE, Studdert MJ, Love DN. Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. *Vet Microbiol* 1999, 68: 27-34.

Heldens JGM, Hannant D, Cullinane AA, Prendergast MJ, Mumford JA, Nelly M, Kydd JH, Weststrate MW, van den Hoven R. Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV 1,4). Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares. *Vaccine* 2001, 19: 4307-4317.

Holyoak GR, Balasuriya UBR, Broaddus CC, Timoney PJ. Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology* 2008, 70: 403-414.

Knowles DP. Herpesvirales. Teoksessa: MacLachlan NJ & Dubovi EJ. *Fenner's Veterinary Virology*. 4th edition. Elsevier 2011: 179-202.

Kydd JH, Townsend HGG, Hannant D. The equine immune response to equine herpesvirus-1: The virus and its vaccines. *Vet Immunol Immunop* 2006, 111: 15-30.

Lunn DP, Davis-Poynter N, Flaminio MJB, Horohov DW, Osterrieder K, Pusterla N, Townsend HGG. Equine herpesvirus-1 consensus statement. *J Vet Intern Med* 2009, 23: 450-461.

MacLachlan NJ & Dubovi EJ (MacLachlan & Dubovi 2011a). *Fenner's Veterinary Virology*. 4th edition. Elsevier 2011: 75-100.

MacLachlan NJ & Dubovi EJ (MacLachlan & Dubovi 2011b). *Fenner's Veterinary Virology*. 4th edition. Elsevier 2011: 101-123.

MacLachlan NJ & Dubovi EJ (MacLachlan & Dubovi 2011c). Fenner's Veterinary Virology. 4th edition. Elsevier 2011: 415-424.

MacLachlan NJ, Balasuriya UB, Davis NL, Collier M, Johnston RE, Ferraro GL, Guthrie AJ. Experiences with new generation vaccines against equine viral arteritis, West Nile disease and African horse sickness. *Vaccine* 2007, 27: 5577-5582.

Minke JM, Audonnet J-C, Fischer L. Equine viral vaccines: the past, present and future. *Vet Res* 2004, 35: 425-443.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus eläintautien ilmoittamisesta ja mikrobikantojen toimittamisesta. MMMa 1010/2013, 4§.

<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20131010>, haettu 14.12.2014.

Neu SM, Timoney PJ, McCollum WH. Persistent infection of the reproductive tract in stallions experimentally infected with equine arteritis virus. Fifth International Conference (edited by Powell DG). 1988: 149-154.

Patel & Heldens. Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – epidemiology, disease and immunoprophylaxis: A brief review. *The Vet J* 2005, 170: 14-23.

Piero FD, Wilkins PA, Lopez JW, Glaser AL, Dubovi EJ, Schlafer DH, Lein DH. Equine viral arteritis in newborn foals: clinical, pathological, serological microbiological and immunohistochemical observations. *Equine Vet J* 1997, 29: 178-185.

Pneumabort K+1B, Zoetis. Valmisteyhteenveto.

<https://www.zoetis.es/locale-assets/spc/pneumabort-k+1b.pdf>, haettu 14.12.2014.

Pusterla N, Wilson WD, Madigan JE, Ferraro GL. Equine herpesvirus-1 myeloencephalopathy: A review of recent developments. *Veterinary J* 2009, 180: 279-

289.

Resequin, Intervet. Valmisteyhteenveto.

<http://spc.fimea.fi/indox/nam/html/nam/vetspc/5/1774465.pdf>, haettu 14.12.2014.

Slater JD, Borchers K, Thackray AM, Field HJ. The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus 1 latency and reactivation in the horse. *J Gen Virol* 1994, 75: 2007-2016.

Timoney PJ & McCollum WH. Equine viral arteritis. *Can Vet J* 1987, 28: 693-695.

Varrasso A, Dynon K, Ficorilli N, Hartley CA, Studdert M, Drummer HE. Identification of equine herpesviruses 1 and 4 by polymerase chain reaction. *Aust Vet J* 2001, 79: 563-569.