

**HEVOSEN INFLUENSSA:
ESIINTYMINEN, VIRUSKANNAT,
ROKOTUKSET JA VASTUSTUS**

Maria Pyykönen

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

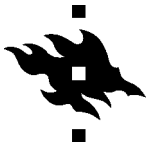
Helsingin yliopisto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Mikrobiologian ja epidemiologian oppiaine

2010



Tiedekunta		Osasto	
Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä			
Maria Pyykönen			
Työn Nimi			
Hevosien influenssa: esiintyminen, viruskannat, rokotukset ja vastustus			
Oppiaine			
Mikrobiologian ja epidemiologian oppiaine			
Työn laji		Aika	Sivumäärä
Lisensiaatin tutkielma		27.4.2010	36
Tiivistelmä			
<p>Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli tarkastella, vastaavatko markkinoilla olevien hevosinfluenssarokotteiden viruskannat Suomessa esiintyviä viruskantoja, sekä selvittää, onko hevosien rokottamisella influenssaa vastaan todella se teho mitä tavoitellaan. Sen lisäksi tarkoitus oli kartoittaa hevosien influenssan esiintymistä ja kantojen muuntumista Suomessa ja maailmalla 2000-luvulla.</p> <p>Influenssa A -virukset voivat aiheuttaa tarttuvan hengitystieinfektion ihmisillä, linnuilla, sioilla ja hevosilla. Hevosien influenssavirusia ovat H3N8- ja H7N7-alatyypit. H7N7-alatyyppiä ei ole kuitenkaan todettu hevosilla 1990-luvun alun jälkeen. Tyypillisiä kliinisiä oireita ovat korkea kuume, apaattisuus, syömättömyys, hengitysvaikeudet ja kuiva, kova yskä. Tartuntaan voi liittyä myös kirkas tai paksu sierainvuoto ja suurentuneet leuanalusimusolmukkeet.</p> <p>Hevosinfluenssan vastustuksessa kattava hevosten rokottaminen on keskeisin ja kenties tehokkain tapa torjua taudin leviäminen. Nykyään hevosten influenssavirusinfektioiden vastustamisessa rokotteen keskitytään viruksen H3N8-alatyyppiin torjumiseen, vaikka rokotteisiin on silti vielä lisätty H7N7-alatyyppiin viruskantoja. "Expert surveillance panel on equine influenza" -asiantuntijapaneelin suosituksen mukaan, nykytilanteessa H7N7-kannat voitaisiin jättää pois markkinoilla olevista hevosinfluenssarokotteista. Tammikuussa 2009 julkaistun suosituksen mukaan rokotteen tulisi sisältää H3N8-viruskannoista vain A/equine/South Africa/4/2003 -kanta, joka edustaa amerikkalaista linjaa. Eurooppalaisen linjan H3N8-viruskantoja ei suositella käytettäväksi rokotteissa, koska niitä ei ole juuri esiintynyt viime vuosina.</p> <p>Vuosina 2007 ja 2008 Suomessa esiintyi runsaasti hevosinfluenssatautitapauksia. Eristettyjen influenssaviruskantojen todettiin kuuluvan H3N8-alatyyppiin amerikkalaisen linjan Floridan alalinjaan. Myös A/equi-2/South Africa/4/03 -viruskanta kuuluu Floridan alalinjaan. Kaikki Suomessa markkinoilla olevat rokotteet sisältävät amerikkalaisen ja eurooppalaisen linjan antigeenejä, mutta vain kaksi niistä sisältää Floridan alalinjan antigeenejä. Rokotteiden tehotestauksilla on kuitenkin todettu myös Kentuckyn alalinjan antigeenejä sisältävien rokotteiden saavan aikaan suojan Floridan alalinjan virusia vastaan. Kaikki Suomessa markkinoilla olevat hevosinfluenssarokotteet siis saavat aikaan vastustuskyvyn influenssaa vastaan.</p> <p>Rokottaminen on tehokkain influenssan torjuntakeino vain silloin, kun suurin osa hevosista todella rokotetaan. Tehokkaan laumaimmuneetin luomiseksi vähintään 70 – 80 % hevospopulaatiosta on rokotettava. On siis tärkeää, että tallin kaikki hevoset, myös kilpailemattomat, rokotetaan, muuten rokotetut kilpahevosetkaan eivät välttämättä säily oireettomina taudinpurkauksen sattuessa.</p>			
Avainsanat			
Influenssa A –virus, H3N8, H7N7, rokottaminen, hevonen			
Säilytyspaikka			
Viikin kampuskirjasto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t)			
Johtaja ja ohjaaja: Professori Liisa Sihvonen Ohjaaja: Professori Liisa Kaartinen			

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	1
2 INFLUENSSA A -VIRUKSET	2
2.1. Linnun influenssa	3
2.2. Sian influenssa	4
2.3. Ihmisen influenssa	5
2.4. Hevosen influenssa	6
3 ROKOTTAMINEN JA TAUTIVASTUSTUS	12
3.1. Rokottamisen vaikutukset elimistöön	13
3.2. Maternaalisten vasta-aineiden merkitys hevosen rokottamisessa	15
3.3. Rokotetyypit	16
3.4. Adjuvantit	19
3.5. Haittavaikutukset	21
3.6. Rokotusohjelmat	22
3.7. Tautivastustus ja toimenpiteet tautitapauksissa	26
4 POHDINTA	28
5 KIITOKSET	32
6 KIRJALLISUUSLUETTELO	33

1 JOHDANTO

2000-luvulla influenssavirusten torjunta on ollut hyvin ajankohtaista maailmanlaajuisesti, sillä ensin uhkana oli linnun H5N1-influenssaviruksen leviäminen ihmisiin ja myöhemmin sian influenssavirusta muistuttavan H1N1v-influenssaviruksen leviäminen. Kiinnostuksen kohteena onkin yleisesti influenssavirusten muuntuminen lajien välillä leviäväksi ja tehokkaiden rokotteiden kehittäminen niitä vastaan.

Influenssa on myös hevosilla merkittävä viruksen aiheuttama hengitystiesairaus. Influenssavirus leviää helposti hevosesta toiseen ja aiheuttaa taudin, josta toipuminen voi kestää viikkoja. Tautia vastustetaan yleisesti rokottamalla hevosia. Jotta rokotuksella saavutettaisiin tehokas tautisuoja, on rokotteessa käytettävien viruskantojen vastattava yleisesti esiintyviä viruskantoja. Tehokkaaseen tautivastustukseen liittyy myös hyvä tallihygienia ja taudin kulun estäminen olosuhteita korjaavin toimenpitein.

Lisensiaatintyöni tavoitteena oli tarkastella, vastaavatko markkinoilla olevien hevosinfluenssarokotteiden viruskannat Suomessa esiintyviä viruskantoja, sekä selvittää, onko hevosen rokottamisella influenssaa vastaan todella se teho mitä tavoitellaan. Sen lisäksi tarkoitus oli kartoittaa hevosen influenssan esiintymistä ja kantojen muuntumista Suomessa ja maailmalla 2000-luvulla. Halusin myös selvittää hevosen influenssaviruksen leviämistä muihin eläimiin, sillä raportoituja tapauksia koiriin leviämisestä on ollut. Siirtyminen eläinlajista toiseen on viruksen torjunnan kannalta tärkeä näkökohta.

2 INFLUENSSA A -VIRUKSET

Influenssavirukset kuuluvat ortomyksovirusiin. Virus sisältää kahdeksan segmenttiä yksittäisjuosteista negatiivista RNA:ta, joka koodaa kymmentä geeniä.(6.) Influenssavirukset jaetaan A -, B - ja C -tyyppihin. Jako tehdään viruksen sisäisten proteiinien, kuten nukleoproteiinien ja matriksiproteiinien perusteella. Influenssa A -virukset ovat kaikista virulenteimpia eli tehokkaimpia taudinaiheuttajia näistä kolmesta tyyppistä. Ne aiheuttavat vakavan ja akuutin hengitystieinfektion epidemiana ja joskus myös pandemiana. Influenssa A -viruksia on eristetty ihmiseltä ja eri eläinlajeilta kuten sioilta, hevosilta, merinisäkkäiltä, vesilinnuilta ja siipikarjalta. Influenssa B - ja C -viruksia on eristetty pääasiassa ihmiseltä, tosin influenssa B -virus on eristetty myös hylkeeltä. Influenssa A -virusten geenivaranto vesilinnuissa tarjoaa kattavan valikoiman genejä, jotta pandeemisia ihmisten, eläinten ja lintujen influenssaviruksia pystyy kehittämään, mutta influenssa B - ja C -virukset pystyvät aiheuttamaan vain paikallisia epidemioita ihmisillä. Villit vesilinnut ovat influenssavirusten pääreservuaari, ja muiden eläinten influenssavirusten ajatellaankin olevan peräisin linnuista. (10.)

Influenssa A -viruskannat luokitellaan viruksen pintaproteiinien, hemagglutiniinin (HA) ja neuraminidaasin (NA) serologisten alatyypin mukaan. Hemagglutiniinilla on 16 alatyyppeä (H) ja neuraminidaasilla on olemassa yhdeksän alatyyppeä (N). H- ja N-alatyypit vaikuttavat pystyvän muodostamaan yhdessä minkä tahansa yhdistelmän. Useita 144 mahdollisesta yhdistelmästä tavataankin luonnollisilla isäntälajeilla, mutta jotkut yhdistelmät ovat yleisempiä kuin toiset. Pohjois-Amerikan ankoissa esiintyvillä influenssa A -viruksilla H3, H4 ja H6 alatyypit ovat yleisiä, kun taas H1 sekä H3 ovat sialla, H3 hevosella ja H5 sekä H7 kanoilla yleisiä. (9.)

Influenssaviruskannat nimetään tyyppin, isäntälajin, maantieteellisen alkuperän, kannan numeron, eristysvuoden ja alatyypin mukaan. Esimerkkinä influenssa A -viruskanta A/equine/Prague/1/56 (H7N7), jonka nimi kertoo että se on eristetty hevosesta Prahassa vuonna 1956. Kannan numero on 1 ja alatyyppe H7N7.(33.)

2.1. Linnun influenssa

Lintujen influenssavirukset muodostavat geneettisesti kirjavan ryhmän, joka on laajalti edustettuna eri lintulajeissa. Lintujen influenssavirusten reservuaareja ovat pääasiassa vesi- ja rantalinnut, joissa virukset säilyvät ja muuntuvat geneettisen vaihtelun avulla. Näillä viruksilla on taipumus muuntua hyvin nopeasti. Uusimmat tutkimukset osoittavat, että influenssaviruskannat vaihtelevat dynaamisesti eri isäntälintulajien välillä. On todettu, että villien lintulajien influenssavirusvaranto sisältää valtavasti geneettistä ja antigeenistä materiaalia ja muuttuvat kannat leviävät ajoittain myös ihmisiin ja sikoihin.(11.)

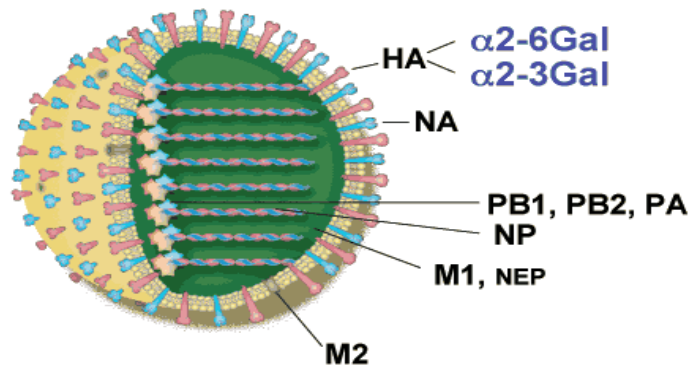
Luonnollisissa isäntälajeissa, vesi- ja rantalinnuissa esiintyy kaikkia mahdollisia lintuinfluenssaviruksen hemagglutiniinin ja neuraminidaasin yhdistelmiä. Muissa lintulajeissa ja nisäkkäissä taas esiintyy vain rajoitettu määrä lintuinfluenssan alatyyppejä. Vesilinnuilla vaikuttaisi olevan luontainen resistenssi kliniselle taudille, kun taas kanalinnut saavat tartunnasta usein vakavia klinisiä oireita.(12.)

Lintujen influenssaviruksen patogeenisuus luokitellaan matalaan ja korkeaan luokkaan. Matalapatogeeninen lintuinfluenssavirus (LPAI) aiheuttaa sairastuvuutta ja kuolleisuutta linnuilla, varsinkin kanalinnuilla, kun taas korkeapatogeeninen lintuinfluenssavirus (HPAI) aiheuttaa korkeaa kuolleisuutta sekä linnuilla että ihmisillä. Yleistyneet lintuinfluenssaviruksen aiheuttamat taudit linnuilla ja ihmisillä on liitetty alatyyppeihin H5 ja H7. Alatyypin H5N1 on todettu aiheuttaneen kuolemaan johtaneita lintuinfluenssainfektioita ihmisillä.(13.)

Ensimmäinen rekisteröity korkeapatogeenisen lintuinfluenssaviruksen (H5N1) tartunta linnusta ihmiseen tapahtui vuonna 1997. Sen jälkeen tämä vakavan hengitystietulehduksen ihmisillä aiheuttava virus on levinnyt useisiin maihin, joissa se on aiheuttanut taudin ja kuolleisuutta sekä linnuissa että ihmisissä.(19.) Kuitenkaan H5N1-viruksen ihmisestä ihmiseen tapahtuvaa jatkuvaa leviämistä ei ole raportoitu.(17.)

2.2. Sian influenssa

Sika on merkittävässä asemassa influenssa A - viruksen evoluutiossa. Sian henkitorven epiteelisolujen erityisten reseptorirakenteiden vuoksi sian, linnun tai ihmisen influenssavirus voi sitoutua epiteelisolujen reseptoreihin ja saada aikaan infektion.(16.) Sian henkitorven epiteelisolut sisältävät kahdenlaisia siaalihapporeseptoreita (kuva 1, $\alpha 2-6\text{Gal}$ ja $\alpha 2-3\text{Gal}$), mikä mahdollistaa sekä ihmisen että linnun influenssaviruksen sitoutumisen näihin soluihin. Ihmisen hengitysteiden ja lintujen ruuansulatuskanavan epiteelisoluissa on vain yhden virustyyppin sitoutumisen mahdollistavia reseptorirakenteita, joten lintujen influenssavirukset eivät pysty monistumaan ihmisessä ja päinvastoin. Tämän vuoksi sikaa pidetään eläimenä, jossa lintujen influenssavirukset muuntuvat ihmisille infektiiviseksi.(35.)



Kuva 1. Influenssaviruksen rakenne, jossa näkyvät taudinaiheutuskyvyn kannalta tärkeät pintaproteiinit HA (hemagglutiniini) ja NA (neuraminidaasi).

Tällä hetkellä kolme influenssaviruksen alatyyppeä esiintyy sikapopulaatioissa maailmanlaajuisesti: H1N1, H3N2 ja H1N2. Näihin alatyyppeihin kuuluvat klassinen sian H1N1-virus, lintumuotoinen H1N1-virus, ihmismuotoinen H3N2-virus, uudelleenjärjestäytynyt H3N2-virus ja eri genotyyppien H1N2-virukset.(16.)

H1N1-tyypin influenssavirus eristettiin siasta ensimmäisen kerran vuonna 1930. Aina 1990-luvun loppuun asti tämä klassinen sian influenssavirus on kiertänyt sioissa Pohjois-Amerikassa ja ollut suhteellisen stabiili antigeeneiltään.(14.) Vuodesta 1979 asti lintumuotoinen H1N1-virus, uudelleenjärjestäytynyt H1N2-virus sekä H3N2-virukset ovat kiertäneet Euroopan sioissa. Vuoden 1998 jälkeen kolme ”triple-reassortant” - H1N2-, H3N2- ja H1N1-virusta, joissa on genejä ihmisen, sian ja linnun influenssaviruksesta, ovat alkaneet esiintyä sioissa.(16.)

Huhtikuussa 2009 aikaisemmin tuntematon H1N1v-tyypin influenssavirus eristettiin ensimmäisen kerran ihmisestä Meksikossa.(14.) Virus ei ollut ihmisten viime vuosina yleisimmän kausittaisen H3N2-influenssaviruksen kaltainen, vaan sen todettiin olevan sukua sioilla kiertäville influenssaviruksille. Uudessa kannassa todettiin olevan samoja geenisegmenttejä kuin kahdessa yleisimmässä sian influenssaviruskannassa sekä geenisegmenttejä linnun ja ihmisen influenssaviruksesta.(17.) Virus levittäytyi nopeasti maailmanlaajuisesti, koska se pystyi leviämään helposti ihmisestä toiseen.(14.)

Sian influenssaviruksen aiheuttaman taudin oireet ovat sialla samankaltaisia kuin ihmisellä: sierainvuotoa, yskää, kuumetta, hengitysvaikeuksia ja sidekalvontulehdusta. Keuhkotulehdus kehittyy, kun virus pääsee henkitorveen.(15.) ”Triple reassortant” - viruksilla on epätavallisen voimakas patogeneisuus, ja ne voivat aiheuttaa sialla spontaaneja abortteja ja jopa kuoleman.(17.)

2.3. Ihmisen influenssa

Influenssavirus A:n alatyypeistä on eristetty ihmisillä H1N1-, H2N2- ja H3N2-alatyyppejä. Harvinaisesta lajienvälisestä influenssaviruksen siirtymisestä esimerkkejä ovat linnuista ihmisiin tarttuneet H5N1 ja H9N2-alatyypit. (35.)

Ihmisen influenssavirusinfektio aiheuttaa trakeo-bronkiittia. Virusinfektio voi myös levitä alveoleihin ja aiheuttaa sekundaarisia bakteeri-infektioita, jotka voivat johtaa vakavaan pneumoniaan. Joskus komplikaatioina voi ilmetä enkefalopatiaa, myokardiittia ja myopatiaa.(17.)

2.4. Hevosen influenssa

Hevosen influenssan voi aiheuttaa kaksi influenssa A -viruksen alatyyppejä, H7N7 (A/equine/1) tai H3N8 (A/equine/2). Tyypillisiä kliinisiä oireita ovat korkea kuume, apaattisuus, syömättömyys, hengitysvaikeudet ja kuiva, kova yskä.(7.) Tartuntaan voi liittyä myös kirkas tai paksu sierainvuoto ja suurentuneet leuanalusimusolmukkeet.(20.) Harvoin saattaa esiintyä myös neurologisia oireita kuten ataksiaa. (7.)

Hevosen influenssavirus on helposti tarttuva. Virus voi kulkea ainakin 30 metrin matkoja ja levitä myös välillisesti esimerkiksi ihmisten ja kontaminoituneiden tavaroiden kautta. Tartunta leviää hyvin nopeasti rokottamattomissa hevosissa, mutta myös rokotetuilla hevosilla esiintyy epidemioita, jos viruskanta on uusi ja erilainen rokotteen viruskantaan nähden.(36.) Tartunta tapahtuu hengitysteiden kautta, missä virus infektoi värekarvallisista epiteelisoluja ja monistuu niissä. Tämän seurauksena laajoja värekarva-alueita tuhoutuu neljän - kuuden päivän sisällä tartunnasta. Taudin kliiniset oireet ilmenevät yhden - kolmen päivän sisällä tartunnasta. Oireet lievenevät parin viikon päästä infektion alkamisesta, ellei niitä seuraa komplikaatioita jälki-infektioiden takia. Virus aiheuttaa korkeaa sairastuvuutta ja kuolleisuutta varsoilla, huonokuntoisilla hevosilla ja aaseilla. Täyskasvuisilla hevosilla kuolleisuus liittyy yleensä bakteerien aiheuttamiin jälkitauteihin, kuten pleuriittiin, pneumoniaan tai purpura hemorrhagicaan.(20.)

2.4.1. Esiintymishistoria

Hevosen influenssaviruksen H7N7-alatyypin eristettiin ensimmäisen kerran vuonna 1956 Tšekkoslovakiassa. Viimeinen varmistettu H7N7-alatyypin aiheuttama taudinpurkaus hevosissa esiintyi vuonna 1979. Virustyyppi on kuitenkin eristetty vielä vuonna 1987 Intiassa ja vuonna 1989 Egyptissä. Myös Keski-Euroopassa ja Aasiassa on pystytty serologisesti todistamaan tämän alatyypin kiertämistä niinkin myöhään kuin vuonna 1991. H7N7-alatyypin hevosen influenssavirus voi siis vieläkin kiertää oireettomassa muodossa ja esiintyä hyvin lievänä jossain paikoin maailmaa.(20.)

Vuonna 1963 H3N8-alatyypin aiheutti ensimmäisen kerran suuren epidemian USA:ssa. Viruskannalle annettiin nimi A/eq/Miami/63, ja siitä lähtien on todettu tämän alatyypin influenssavirusten kiertävän hevospopulaatioissa. Tutkimuksissa on todettu että H3N8-virustyyppistä ilmaantui kaksi eri linjaa 1980-luvun lopulla. Nämä linjat nimettiin amerikkalaiseksi ja eurooppalaiseksi linjaksi maantieteellisen sijaintinsa mukaan. On kuitenkin käynyt ilmi, että amerikkalaisenkin linjan viruksia kiertää myös Euroopassa. Amerikkalaisen linjan virustyyppit jaetaan Kentuckyn ja Floridan alalinjaan. Kentuckyn linjaa kutsutaan klassiseksi amerikkalaiseksi linjaksi. Floridan alalinja jaetaan lahkoon 1, johon kuuluvat A/eq/Wisconsin/03-tyyppiset virukset, ja lahkoon 2, johon kuuluvat A/eq/Newmarket/5/03-tyyppiset virukset. (6.)

1980-luvun lopulla Kiinassa eräs H3N8-viruskanta aiheutti epidemian, johon liittyi hevosten korkeaa sairastuvuutta ja kuolleisuutta. Tämän kannan arveltiin saaneen alkunsa lintujen influenssaviruksista geenien uudelleenjärjestäytymisen kautta. Tämä viruskanta (A/Equine/Jilin/1/89) ei kuitenkaan levinnyt Kiinasta ja hävisi pian. (18.)

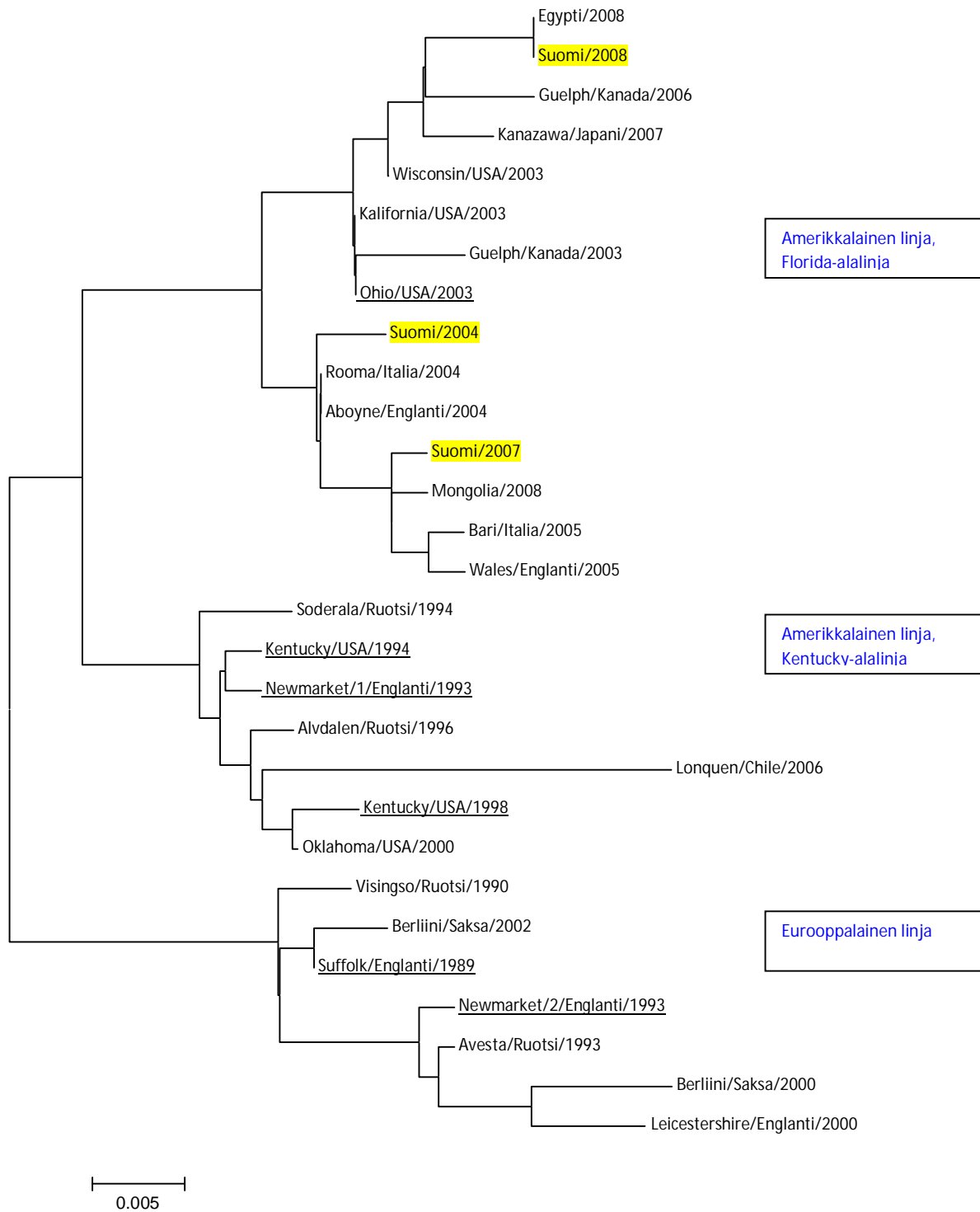
2.4.2. Esimerkkejä esiintymisestä 2000 – luvulla

Iso-Britanniassa esiintyi hevosinfluenssaepidemia vuonna 2003, jolloin laajin taudinpurkaus tapahtui Newmarketissa, jossa yli 1000 kilpahevosta sairastui. Eristettyjen viruskantojen todettiin kuuluvan amerikkalaiseen linjaan ja olevan läheistä sukua esimerkiksi A/eq/Kentucky/5/02-alalinjalle. Tämä oli ensimmäinen kerta, kun Iso-Britanniassa eristettiin tämän tyyppin influenssaviruskanta. Monet sairastuneista hevosista oli rokotettu edellisen kolmen kuukauden sisällä influenssarokotteilla, jotka sisälsivät sekä eurooppalaisen että amerikkalaisen linjan virusantigeenejä, mutta tämä ei silti estänyt niitä sairastumasta.(43.)

Australiassa esiintyi ensimmäisen kerran hevosinfluenssaa vuonna 2007. Tauti levisi laajaksi epidemiaksi rokottamattomassa hevospopulaatiossa ja kymmeniä tuhansia hevosia sairastui. Tautia oli esiintynyt kuukautta ennen Australian epidemiaa Japanissa hevospopulaatiossa, johon kuului sekä rokotettuja että rokottamattomia hevosia. Saman influenssaviruskannan todettiin aiheuttaneen kummankin maan epidemiat. Kyseinen influenssaviruskanta A/eq/Sydney/2888-8/07 kuuluu Floridan alalinjaan, lahkoon 1. (42.)

Ruotsissa esiintyi laaja hevosinfluenssaepidemia vuosina 2007 ja 2008. Taudin huomattiin leviävän nopeasti rokottamattomissa hevosissa, jotka olivat varsinkin ravihevosia, sillä niillä rokottaminen on vapaaehtoista kilpailusääntöjen mukaan.(44.)

Myös Suomessa todettiin keväällä 2007 hevosissa nopeasti leviävää hengitystiesairautta, jonka aiheuttajaksi määritettiin amerikkalaiseen linjaan kuuluva H3N8-tyypin hevosinfluenssavirus. Tautipurkauksia esiintyi varsinkin rokottamattomilla hevosilla. Rokotetuissa hevosissa olleissa tautitapauksissa oireet olivat hyvin lieviä. Jotain tautitapauksia esiintyi myös joulukuussa 2008, jolloin aiheuttajaksi tyypitettiin myös amerikkalaisen linjan influenssavirus. EVIRA:n tekemien tutkimuksien mukaan sekä 2007 ja 2008 Suomessa kiertäneet virukset kuuluivat amerikkalaisen linjan Floridan alalinjaan (kuva 2).(45.)



Kuva 2. Hevosinfluenssavirusten sukupuu. (Huovilainen, Alm-Packalén, Evira 2009).

2.4.3. Hevosen influenssaviruksen leviäminen koiraan

Koiran influenssa on tarttuva hengitystieinfektio, jonka aiheuttajana on influenssa A -virus. Koirien oireet ovat samankaltaisia kuin muilla eläinlajeilla: yskää, sierainvuotoa ja kuumetta. Koiran influenssavirus eristettiin ensimmäisen kerran Floridassa vuonna 2004 kilpailevilta vinttikoirilta. Se levisi myös nopeasti muihin koiriin Yhdysvalloissa. Ensimmäisessä taudinpurkauksessa Yhdysvalloissa vuosina 2003 – 2005 tutkittujen koiran influenssaviruskantojen todettiin olevan geeneiltään samanlaisia hevosen influenssaviruksen H3N8-alatyypin Floridan alalinjan kanssa. Pääteltiin, että koiran influenssavirus oli syntynyt suoran lajienvälisen siirtymisen kautta hevosen influenssaviruksen tarttuessa koiriin ilman viruksen geneettistä reassortaatiota.(41.)

Edellä olevan tutkimuksen innoittamana tehtiin retrospektiivinen tutkimus (Daly ym. 2008) Iso-Britanniassa vuonna 2002 englantilaisissa kettukoiraissa (foxhound) esiintyneestä taudinpurkauksesta, johon liittyi vakava hengitystieinfektio. Koirista eristetty influenssavirus todettiin identtiseksi hevosen influenssaviruksen H3N8-alatyypin Newmarket/1/93 - ja Newmarket/5/03 -kantojen kanssa.(3.)

Tutkimuksissa todettiin hevosen influenssaviruksen pystyvän leviämään koiriin ilmateitse hengitysteiden kautta. Kaikki koirat eivät tosin saaneet taudin kliinisiä oireita, mutta vasta-ainemuodostusta influenssavirusta kohtaan havaittiin sairastuneiden hevosten kanssa tekemisissä olleilla koirilla. Koirat saattavat siis toimia taudin kantajina ja levittäjinä, joten hevosten ja koirien kontaktia tulisi välttää hevosinfluenssaepidemian aikana.(3.) ja (41.)

2.4.4. Diagnostiikka

Hevosen influenssaviruksen laboriodiagnostiikka perustuu viruksen osoittamiseen hevosilta, joilla on akuutti hengitystiesairaus, tai virukselle spesifisten vasta-aineiden osoittamiseen serologisesti. Virusosoitusnäytteet täytyy ottaa niin pian kuin mahdollista kliinisten oireiden ilmenemisen jälkeen, mielellään kolmen – viiden päivän sisällä. Näytteet otetaan sierainlimasta pyyhkimällä tai trakeahuuhtelulla. Serologiseen testiin tarvittavat verinäytteet eli pariseeruminäytteet otetaan siten, että ensimmäinen näyte otetaan oireiden alkuvaiheessa ja toinen näyte kahden – neljän viikon kuluttua.

Infektio voidaan diagnosoida osoittamalla virusantigeeni hengitystie-eritteistä ELISA-menetelmällä tai osoittamalla virus PCR-testillä. Suomessa EVIRA:ssa on käytössä reaaliaikainen PCR- eli Real Time PCR -diagnostiikka. Serologinen testaus tehdään hemagglutinaation inhibitio (HI)-testillä tai single radial haemolysis (SRH)-testillä. Kumpikin pariseeruminäyte tulisi testata samalla kerralla, jotta tulokset olisivat mahdollisimman vertailukelpoisia.

Infektion aiheuttanut virus on hyvä tyypittää, jotta tiedetään, mikä kanta on kyseessä. Tyypitys voidaan tehdä HI-testillä, jossa eristetyn viruksen HA-proteiinia verrataan vertailukantoihin tai analysoimalla viruksen H- ja N-antigeenien geenisekvenssit. Jälkimmäinen tapa on käytössä EVIRA:ssa.(37.)

3 ROKOTTAMINEN JA TAUTIVASTUSTUS

Hevosen influenssarokotteet ovat sisältäneet jo kymmenien vuosien ajan edustavia kantoja hevosen influenssaviruksen H7N7- ja H3N8-alatyypeistä. H7N7-alatyypin virusta vastaan rokottaminen tai muut syyt, kuten se, että H3N8-alatyypin syrjäyttänyt H7N7-alatyypin, ovat johtaneet siihen, että uusia H7N7-alatyypin aiheuttamia taudinpurkauksia ei ole esiintynyt. H3N8-tyyppiä vastaan suunnatuilla rokotuksilla ei kuitenkaan ole onnistuttu välttämään täydellisesti tämän virustyyppin esiintymistä hevosissa. Tätä eroavaisuutta selitetään virustyyppien erilaisilla taudinaiheuttamiskyvyillä eli virulensseilla. Myös H3N8-virustyyppin antigeenirakenteen muuntuminen alentaa rokotteiden tehoa. H3N8-virustyyppin säilymistä helpottaa myös sen jakautuminen kahteen antigeeneiltään erilaiseen, eurooppalaiseen ja amerikkalaiseen linjaan.

Influenssaa vastaan rokottamisen päätavoite on lieventää taudin kliinisiä oireita ja siten lyhentää toipilasaikaa ja vähentää sekundaarisia infektioita. Viruksen erittämisen väheneminen pienentää infektion leviämisen riskiä. Rokotuksen tulisi saada aikaan pitkäaikainen immuniteetti eri influenssaviruskantoja vastaan. On arvioitu että tietystä hevospopulaatiosta 70 % tulisi olla asianmukaisesti rokotettu, jotta influenssaepidemian kehittyminen estettäisiin.(20.)

Maailmalla esiintyviä hevosen influenssaviruskantoja seurataan aktiivisesti. Erityinen asiantuntijaryhmä, Expert surveillance panel on equine influenza, julkaisee aika ajoin suosituksen rokotevalmistajille hevosinfluenssarokotteiden viruskannoista. Tammikuussa 2009 julkaistun suosituksen mukaan rokotteen tulisi sisältää H3N8-viruskannoista vain A/equine/South Africa/4/2003 -kantaa, joka edustaa amerikkalaisen linjan Floridan alalinjaa. Eurooppalaisen linjan H3N8-viruskantoja ei suositella käytettäväksi rokotteissa, koska niitä ei ole juuri esiintynyt viime vuosina. H7N7-viruskantoja ei suositella käytettäväksi, sillä niitä ei ole todettu esiintyvän.(22.)

3.1. Rokottamisen vaikutukset elimistöön

Elimistön immuunijärjestelmän tehtävä on torjua ulkoisia taudinaiheuttajia ja se hyökkää kaikkea elimistön ulkopuoliseksi tunnistamaansa vastaan. Immunitaetti voidaan jakaa luonnolliseen ja hankittuun immunitaettiin. Luonnollinen immuunipuolustus on syntyperäinen ja se käynnistyy, vaikka se ei olisi aikaisemmin kohdannut elimistöön tunkeutuvaa antigeeniä. Se toimii aina samalla tavalla riippumatta kohdattavasta antigeenistä. Hankittu immunitaetti taas kehittyy syntymän jälkeen. Keskeisessä asemassa hankitussa immuunipuolustuksessa ovat B- ja T-lymfosyyttisolut, joiden avulla muodostuu niin kutsuttu immunologinen muisti, joka vahvistaa immuunipuolustusreaktiota kohdattaessa sama antigeeni uudelleen.

Hankittu immunitaetti jaetaan vasta-ainevälitteiseen eli humoraaliseen sekä soluvälitteiseen immunitaettiin. Humoraalisessa immuunivasteessa elimistöön joutunut antigeeni sitoutuu B-lymfosyytin pinnalla olevaan vasta-aineresptoriin, mikä käynnistää antigeenille spesifisten vasta-aineiden tuotannon ja johtaa antigeenien tuhoamiseen. Vasta-aineiden tuotantoon tarvitaan myös auttaja-T-soluja, joille B-lymfosyytit, makrofagit tai dendriittisolut esittelevät erityisen MHC II -tyypin molekyylin avulla antigeenin, jolloin auttaja-T-solu alkaa erittää sytokiinejä.

Solvälitteinen immuunivaste perustuu tietyille antigeeneille spesifisiin sytotoksisiin T-lymfosyytteihin, jotka tunnistavat ja tuhoavat antigeenin. Jotta sytotoksinen T-solu tunnistaisi antigeenin, täytyy antigeeni esitellä MHC I -tyypin molekyyliin kiinnittyneenä.(28.)

Antigeenit voidaan esitellä T-soluille kahdella eri tavalla, käsittelemällä ne eksogeenisen tai endogeenisen reitin kautta. Eksogeenisessä reitissä antigeenit esitellään MHC II -molekyyleihin kiinnittyneinä auttaja-T-soluille. Endogeenisessä reitissä antigeenit esitellään MHC I -molekyyleissä sytotoksille T-soluille. Tämän vuoksi inaktivoidut virus- tai komponenttirokotteet eivät stimuloi soluvälitteistä immunitaettiä, sillä ne eivät pysty aktivoimaan endogeenista reittiä. Kuitenkin on osoitettu, että rokotteen antigeeni saadaan aktivoimaan endogeenista reittiä ja sitä kautta

soluvälitteistä immunitettä, kun antigeeni yhdistetään tiettyyn lipidirakenteeseen, kuten liposomiin, lipopeptidiin tai immunostimuloivaan kompleksiin (ISCOM). (29.)

3.1.1. Immunisointi

Immunisointi voidaan jakaa kahteen osaan, passiiviseen ja aktiiviseen immunisointiin. Passiivisessa immunisoinnissa eläin saa väliaikaisen immuunisuojaan tiettyä patogeeniä vastaan, kun se vastaanottaa vasta-aineita toiselta yksilöltä. Tällöin elimistön oma immuunijärjestelmä ei aktivoidu. Esimerkkejä passiivisesta immunisoinnista ovat vasta-aineiden siirtyminen emältä istukan tai ternimaidon kautta jälkeläiseen tai valmiiden vasta-aineiden (antiseerumin) siirtäminen tarkoituksellisesti elimistöön väliaikaisen tautisuojaan saavuttamiseksi.(28.)

Aktiivisessa immunisoinnissa elimistöön annetaan antigeeniä niin, että immuunijärjestelmä muodostaa immuunivasteen kyseistä antigeeniä kohtaan. Rokottaminen on siis aktiivista immunisointia. Näin saatu immuunisuoja saattaa säilyä viikkoja ja jopa vuosia, ja sitä voidaan jatkaa ja vahvistaa tehosterokottein.(27.) Pitkäkestoinen immuunisuoja perustuu B- ja T-muistisoluihin, joita on muodostunut silloin, kun elimistö on ensimmäisen kerran kohdannut antigeenin. Kun elimistö kohtaa saman antigeenin uudestaan, sille spesifiset muistisolut aktivoituvat ja immuunipuolustusreaktio alkaa.(29.)

3.1.2. Rokotteen teho

Ollakseen tehokas rokotteen tulisi täyttää seuraavia ehtoja. Sen tulee stimuloida antigeenejä esitteleviä soluja niin, että ne käsittelevät antigeenin tehokkaasti ja erittävät tarvittavia sytokiinejä. Rokotteen tulee stimuloida myös T- ja B-soluja, jotta ne muodostaisivat runsaasti muistisoluja. Lisäksi antigeeni täytyy saada rokotteen avulla pysymään oikeissa kohdissa imukudoksessa, jotta vasta-aineita muodostavia soluja muodostuisi ja immuunisuoja kestäisi mahdollisimman kauan. (27.)

Merkkeinä rokotusvasteesta ovat veressä kiertävät vasta-aineet, jotka ovat spesifisiä influenssaviruksen hemagglutiniini- (HA) ja neuraminidaasi- (NA) pintaproteiineille. Vasta-aineita mitataan verestä HI-testillä tai erityisellä single radial haemolysis -testillä

(SRH), joista jälkimmäinen on todettu luotettavammaksi. Inaktivoidun rokotteen vahvuuden (sen sisältämä määrä HA:ta mikrogrammoissa mitattuna) on osoitettu olevan suoraan verrannollinen sen stimuloimien HA:lle spesifisten vasta-aineiden määrään SRH-testillä mitattuna. Immunologisesti aktiivisten HA-proteiinien määrää influenssarokotteessa mitataan esimerkiksi immunodiffuusiotestillä (single radial immunodiffusion - test, SRD). (32.)

3.2. Maternaalisten vasta-aineiden merkitys hevosen rokottamisessa

Maternaaliset eli ternimaidosta saadut vasta-aineet suojaavat vastasyntyntä sellaisilta patogeeneiltä, joita vastaan emän elimistö on kehittänyt vasta-aineita. Maternaaliset vasta-aineet voivat kuitenkin häiritä rokotteen tehoa. Jos varsa rokotetaan, kun sillä on vielä runsaasti maternaalisia vasta-aineita elimistössään, rokotteen tehokkuus laskee ja eläin ei ole suojattu infektioilta. Yleensä vie useita kuukausia syntymästä ennen kuin maternaalisten vasta-aineiden taso elimistössä on tarpeeksi alhainen rokotuksen onnistumiselle. (29.)

Eräässä tutkimuksessa (Cullinane ym. 2001) oli kuvattu hyvin maternaalisten vasta-aineiden vaikutusta rokotuksen onnistumiseen. Tutkimuksessa vertailtiin kahta ryhmää varsoja, joista toinen ryhmä oli rokotettu hevosinfluenssaa vastaan ensimmäisen kerran jo kolmen kuukauden iässä, toisen kerran viiden viikon päästä siitä ja kolmannen kerran seitsemän kuukauden päästä ensimmäisestä rokotteesta. Toinen ryhmä varsoja oli rokotettu ensimmäisen kerran vasta kuuden kuukauden iässä, toisen kerran neljän viikon päästä siitä ja kolmannen kerran myös seitsemän kuukauden päästä ensimmäisestä rokotteesta. Kolmen kuukauden iässä ensimmäisen kerran rokotettujen varsojen veren vasta-ainepitoisuudet influenssaa vastaan eivät nousseet taudilta suojaavalle tasolle edes kolmannen rokotteen jälkeen, kun taas kuuden kuukauden iässä ensimmäisen kerran rokotettujen varsojen vasta-ainetasot olivat kolmannen rokotteen jälkeen tarpeeksi korkealla tasolla suojatakseen taudin kliinisiltä oireilta.

Maternaalisten vasta-aineiden pitoisuudet veressä tutkittiin kummaltakin ryhmältä ennen ensimmäistä rokotusta, ja kolmen kuukauden iässä emältä saatujen vasta-aineiden

tasot ovat selvästi havaittavissa, kun kuuden kuukauden iässä maternaaliset vasta-ainetasot ovat jo hyvin matalat.

Yhteenvedona tutkijat totesivat, että jos tammat on rokotettu tiineyden loppupuolella influenssaa vastaan, sisältää ternimaito riittävästi vasta-aineita suojatakseen varsaa infektiolta ainakin sen elämän ensimmäiset kuusi kuukautta. Varsojen ensimmäinen rokotus influenssaa vastaan tulisikin tehdä vasta noin kuuden kuukauden iässä, koska aloitettaessa rokotusohjelma sitä aikaisemmin maternaaliset vasta-ainetasot häiritsevät varsan elimistön omaa vasta-ainemuodostusta vielä kolmannen influenssarokotuksen jälkeen.(30.)

3.3. Rokotetyypit

Hevosen influenssarokotteet voidaan jakaa inaktivoituihin ja eläviin rokotteisiin. Inaktivoituihin rokotteisiin kuuluvat inaktivoituneet kokovirusrokotteet, viruksen osia sisältävät rokotteet ja DNA-rokotteet.(20.) Inaktivoituneet rokotteet sisältävät mikro-organismeja, jotka on inaktivoitu yleensä kemiallisesti tai joskus harvoin lämmön avulla.(31.) Eläviin rokotteisiin kuuluvat heikennettyjä viruksia sisältävät rokotteet tai eläviä viruksia sisältävät vektorirokotteet.(20.)

3.3.1. Inaktivoituneet kokovirusrokotteet ja viruksen osia sisältävät rokotteet eli komponenttirokotteet

Hevosen influenssarokotteiden markkinoille tulosta, 1960-luvulta asti, suurin osa rokotteista on sisältänyt inaktivoituneita kokonaisia viruksia tai viruksen osia. Suurimmat hyödyt näissä rokotteissa ovat ne, etteivät ne ole patogeenisiä ja virus ei pysty monistumaan eikä leviämään rokotettujen eläinten välillä.(20.) Jotta inaktivoituneet rokotteet olisivat tehokkaita, niiden täytyy kuitenkin sisältää runsaasti antigeeniä tai voimakasta adjuvanttia.(31.) Perinteisten inaktivoituneiden rokotteiden antama suoja on kiinteästi yhteydessä viruksen HI-vasta-aineiden määrään elimistössä. Tämä edellyttää, että rokotteessa oleva viruskanta on geneettisesti ja antigeeneiltään samanlainen kuin viruskanta, jolta hevosia pyritään suojaamaan.(20.)

Nykyiset komponenttirokotteet sisältävät puhdistettuja hemagglutiniini- ja neuraminidaasiproteiineja, jotka ovat viruksen ulkokalvon proteiineja ja toimivat antigeeneinä. Näissä rokkeissa käytetään yleensä adjuvanttina Quillaia saponin-uutetta tai antigeenit kiinnitetään tiettyihin immunostimulanttiyhdisteisiin (ISCOM™), jotta niiden antigeenisuus paranisi. ISCOM-rokotteen on todettu nostavan rokotetun eläimen vasta-ainetasoja tehokkaammin kuin rokotteen, joka sisältää inaktivoituja kokovirusia. Kuitenkin komponenttirokotteilla saavutettu immunitetti on rajallinen.(20.)

Kokovirusrokotteiden ja komponenttirokotteiden teho perustuu niiden kykyyn stimuloida riittävän korkeita vasta-ainetasoja tautisuojaan saavuttamiseksi. Tämä vasta-ainesuoja on kuitenkin lyhytaikainen ja voi olla hyvin valikoiva. Myöhempi tautisuoja voi olla riittämätön silloin, kun influenssavirus muuntuu antigeenisesti.(20.) Huonoja puolia ovat myös immunitetin hidas käynnistyminen, paikalliset reaktiot ja useiden injektoiden tarve rokotteen tehon saavuttamiseksi. On myös mahdollista, että viruksen inaktivaatio voi epäonnistua.(31.)

Inaktivoidut influenssavirusrokotteet eivät stimuloi merkittävästi soluvälitteistä immuunivastetta hevosilla, koska antigeenit kulkevat eksogeenisen reitin kautta ja ne esitellään MHC II -molekyylisiin kiinnittyneinä.(32.) Siksi nämä rokkeet eivät ole tehokkaita viruksen eliminoimiseksi infektoituneista soluista.(31.)

3.3.2. Elävät vektorirokotteet

On todettu, että kokeellisen hevosen influenssavirusinfektion aikaansaama immuunivaste rokkotamattomassa hevosessa suojaa uudelta infektiolta jopa vuoden ajan. Tämän perusteella voidaan päätellä rokotteen, joka jäljittelee luonnollista virusinfektiota, olevan tehokkaampi kuin perinteisten inaktivoitujen rokkeiden.

Elävät rekombinoituvat vektorirokotteet muodostetaan yhdistämällä patogeenisen influenssaviruskannan valikoituja geenejä elävään virukseen, joka ei pysty aiheuttamaan tautia. Rekombinoituja poxvirusia käytetään yleisesti vektorirokkeisiin. Poxvirukset ovat geneettisesti vakaita ja hyväksyvät laajoja segmenttejä vierasta DNA:ta koodaamaan valittuja antigeenejä. Kaupallisesti käytetyissä vektorirokkeissa

virusvektorina käytetään kanarialinnun poxvirusta. Viruspohjaisen vektorirokotteen avulla patogeenisen viruksen antigeenit esitellään elimistön immuunipuolustukselle ensimmäistä kertaa vektoriviruksen infektoiman solun sisällä, mikä stimuloi sekä humoraalista että soluvälitteistä immuunivastetta.(20.) Rekombinoituneen viruksen aiheuttama infektioprosessi ei pääse kehittymään loppuun asti nisäkässolussa, joten virus ei lisäänty, mutta sen antigeenit käsitellään endogeenisen reitin kautta ja esitellään MHC I -molekyylisiin yhdistyneinä samaan tapaan kuin luonnollisessa infektiossa tapahtuisi, mutta ilman infektiota liittyviä riskejä.(32.)

Euroopassa on markkinoilla yksi elävä kanarialinnun poxviruspohjainen vektorirokote (ProteqFlu®; Merial Ltd., UK). ProteqFlu® on todettu tehokkaaksi hevosen influenssaviruksen ehkäisemisessä keskenään samankaltaisten viruskantojen kyseessä ollessa. Tehokkuuden ylläpitämiseksi rokotteen kantoja tulee kuitenkin päivittää kulloinkin kiertävien kantojen mukaisiksi. Kun rokotteen olut viruskanta ja kiertävä viruskanta ovat kovin erilaiset, rokotteen aikaansaama vasta-ainemuodostus ei suojaa tehokkaasti kiertävältä virukselta. Tällöin T-soluvälitteinen immuunipuolustus on tärkeässä asemassa viruksen torjunnassa ja tämän puolustuksen käynnistämiseen juuri pyritään vektorirokotteilla.(20.)

3.3.3. Kehitteillä olevat rokotteet

Monentyyppisiä uusia rokotteita on kehitteillä ja osa niistä on jo markkinoilla Euroopan ulkopuolella.

3.3.3.1. DNA-rokotteet

DNA-rokotteen periaate on, että solut voivat ottaa sisään puhdasta DNA:ta, jolloin solut voivat ilmentää vieraita geenejä.(31.) DNA-rokote stimuloi sekä humoraalista että soluvälitteistä immuunivastetta, mikä tekee siitä laajemmin vaikuttavan kuin inaktivoidut kokovirusrokotteet tai komponenttirokotteet.(20.) DNA-rokotteella on elävien rokotteiden kaltaisia hyviä puolia ilman samanlaisia riskejä kuten muuntuminen virulentiksi.(31.)

DNA-rokotteen käyttö praktiikassa on kuitenkin epäkäytännöllistä, koska sitä joudutaan antamaan useisiin kohtiin ja monta kertaa rokotesuojan saavuttamiseksi. Tutkimuksissa on myös saatu hyvin vaihtelevia tuloksia DNA-rokotteen antamasta suojasta kliinisiä oireita ja viruksen eritystä vastaan.(20.) Erityisesti ongelmana on se, että DNA-rokotteet laukaisevat suhteellisen heikon serologisen vasteen antigeenejä vastaan verrattuna perinteisiin rokotteisiin.(31.)

3.3.3.2. Eläviä heikennettyjä viruksia sisältävät rokotteet

Näitä rokotetyyppejä ovat muun muassa lämpöherkkiä eli kylmäkestoisia influenssaviruksia sisältävät ja reassortoituja influenssaviruksia sisältävät rokotteet. Näiden rokotteiden tehosta on kuitenkin saatu vielä hyvin vaihtelevia tuloksia. Joidenkin eläviä heikennettyjä viruksia sisältävien rokotteiden turvallisuus on kyseenalainen, koska heikennettyjen virusten virulenssi saattaa palautua tai ne voivat poimia villiviruksilta geenejä ja muodostaa uusia virulentteja viruskantoja.(20.)

3.4. Adjuvantit

Jotta inaktivoituja viruksia sisältävät rokotteet saisivat aikaan tehokkaan immuunivasteen, on niihin yleensä lisättävä adjuvanttia antigeenin lisäksi. Adjuvantin käyttäminen on välttämätöntä, jos halutaan muodostaa pitkäkestoinen immunogeeninen muisti liukoisia antigeenejä vastaan. Immuunivaste käynnistyy kohdatessaan antigeenin, mutta myös pysähtyy heti, kun antigeeni on tuhottu. Siksi adjuvantit tehostavat immuunipuolustusta pitämällä antigeenejä paikallaan kauemmin, jotta lymfosyytit pääsevät niiden kanssa kosketuksiin helposti. Adjuvantit myös stimuloivat antigeenejä esitteleviä soluja erittämään immuunivasteessa tarvittavia molekyylejä. (27.)

3.4.1. Alumiinisuolat

Alumiinisuolat, kuten alumiinihydroksidi, alumiinifosfaatti ja alumiinikaliumsulfaatti, ovat liukenemattomia adjuvantteja. Kun ne sekoitetaan antigeenien kanssa rokotteeseen ja injisoidaan elimistöön, muodostuu paikallinen granulooma, joka on eräänlainen

antigeenivarasto. Antigeeniä vapautuu hitaasti granuloomasta, jolloin se stimuloi immuunipuolustusta kauemmin.

Tällaiset antigeenivaraston muodostavat adjuvantit stimuloivat vain primaarista immuunivastetta ja vain hyvin vähän sekundaarista immuunivastetta. Ne eivät myös juurikaan aktivoi soluvälitteistä immuunivastetta.(27.) Yleensä vaaditaan useita injektioita, jotta saavutettaisiin pitkäkestoinen immunologinen muisti. Vasta-ainepitoisuudet ovat usein matalampia käytettäessä alumiinisuoloja verrattuna muihin adjuvantteihin. Alumiinisuoloja pidetään turvallisina ja vakavia haittavaikutuksia esiintyy harvoin, mutta allergisia reaktioita ja näkyviä granuloomia on todettu silloin tällöin.(34.)

3.4.2. Karbomeerit

Karbomeereja käytetään adjuvantteina joissain inaktivoituja kokoviruksia sisältävissä rokotteissa sekä muun muassa eräässä elävässä vektorirokotteessa (ProteqFlu®). Karbomeereja voidaan käyttää myös adjuvanttina yhdessä alumiinisuolojen kanssa samassa rokotteessa. Eräässä tutkimuksessa (Mumford, Wilson ym. 1994) todettiin karbomeerijadjuvanttien olevan tehokkaampia immunostimulantteja kuin alumiinisuolojen. Karbomeereja sisältävien influenssarokotteiden todettiin myös vähentävän influenssan kliinisiä oireita hevosilla kokeellisen infektion jälkeen alumiinisuoloja sisältäviin influenssarokotteisiin verrattuna.(38.)

3.4.3. Immunostimuloiva kompleksi (ISCOM)

ISCOM-partikkelit ovat negatiivisesti varautuneita stabiileja rakenteita, jotka muodostuvat spontaanisti antigeenien yhdistyessä kolesterolin, fosfolipidien ja Quillaia saponin -yhdisteen (Quil-A) kanssa. ISCOM-partikkeleita käytetään adjuvanttina rokotteissa parantamaan antigeenin esittelyä, jakautumista ja vapautumista. ISCOM-partikkelit liittyvät solusisäisiin lipidikalvoihin ja ne hakeutuvat antigeenejä esittelevien solujen sytoplasmaan. Tällöin antigeenit käsitellään sekä endogeenisen että eksogeenisen reitin kautta ja esitellään MHC I - ja II -molekyyleihin kiinnittyneenä, jolloin ne stimuloivat sekä humoraalista että soluvälitteistä immuunipuolustusta.(26.) Haittavaikutuksia on raportoitu hyvin vähän.(34.)

3.4.4. Saponiinit

Saponiinit ovat kemiallisia adjuvanttiyhdisteitä, jotka uutetaan kasveista, useimmiten *Quillaia saponaria* - puusta. Quil A on osittain puhdistettu yhdiste, joka on saatu kyseisestä puusta, ja se on laajalti käytössä eri eläinrokotteissa. Saponiinit ovat immunomodulaattoreita, ja voivat saada aikaan vahvoja vasta-aine- ja soluvälitteisiä immuunivasteita. Niitä pidetään melko turvallisina, mutta turvallisuus riippuu myös antoreitistä, eläinlajista ja saponiinityypistä. Puhdas Quil A -yhdiste voi aiheuttaa paikallisia tulehdusreaktioita, mutta niitä voidaan lieventää yhdistämällä siihen kolesteroli-liposomeja.(34.)

3.4.5. Vesi-öljyemulsiot

Vesi-öljyemulsiot ovat voimakkaampia adjuvantteja kuin alumiinisulolat, mutta ne aiheuttavat voimakkaita paikallisia reaktioita ja granuloomia injektiokohtaan. Ne stimuloivat pääasiassa vasta-ainevälitteistä immuunivastetta, mutta joissain tapauksissa myös soluvälitteistä immuunivastetta. Ne vapauttavat rokotteen antigeenit hitaasti ja edesauttavat pitkäkestoisen immunitetin syntymistä. Vesi-öljyemulsioadjuvanttia, jota kutsutaan nimellä Freund's incomplete adjuvant (FIA), on käytetty joissain märehäntijöiden, siipikarjan ja kalojen rokotteissa. Koska vesi-öljyemulsiot aiheuttavat usein paikallisia haittavaikutuksia ja ovat viskoosia eli paksua rakenteeltaan, niitä ei ole käytetty ihmisten tai seuraeläinten rokotteissa.(34.)

3.5. Haittavaikutukset

Perinteiset inaktivoidut rokotteet aiheuttavat lihakseen annettuina harvoin haittavaikutuksia, kuten paikallista kipua ja turvotusta tai kuumetta.(20.) Adjuvantit voivat voimistaa rokotteiden haittavaikutuksia. Systemisiä epäspesifisiä haittavaikutuksia ovat kuume, niveltulehdukset, uveiitti, anoreksia ja apaattisuus. Adjuvantit voivat myös suurentaa autoimmuunireaktioiden riskiä. Eräät saponiinit voivat aiheuttaa hemolyysiä annettuina suonensisäisesti. Useimmiten adjuvantit voivat aiheuttaa paikallisia reaktioita kuten inflammaatiota sekä granuloomia ja steriilejä paiseita.(34.)

Suomessa lääkkeiden haittavaikutuksia rekisteröi Fimea (entinen Lääkelaitos). Vuonna 2003 Lääkelaitokseen oli tehty kaksi haittavaikutusilmoitusta hevosista, joiden kaula oli kipeytynyt parin päivän ajaksi yhdistelmärokotteen antamisen jälkeen.(39.) Vuonna 2006 Lääkelaitokselle raportoitiin kaksi influenssarokotteeseen liittyvää haittavaikutusta hevosella. Toisessa tapauksessa 21-vuotiaalle hevoselle oli tullut pitkäkestoinen paikallisreaktio influenssa-tetanuserokotteen antamisen jälkeen ja muutosalue oli lopulta mennyt kuolioon noin kuusi viikkoa rokotuksen jälkeen. Toisessa tapauksessa influenssa-tetanuserokotetta oli seurannut ähky ja kuume sekä injektioaikan reaktioita.(40.)

3.6. Rokotusohjelmat

Suurimmalla osalla Euroopassa käytettävissä olevilla rokotteilla perinteinen rokotusohjelma muodostuu kahdesta peruserokotteesta, jotka annetaan 4-6 viikon välein, ja kolmannelta tehosterokotteesta, joka annetaan 5-6 kuukautta myöhemmin. Joillakin rokotteilla seerumin vasta-ainetasot säilyvät riittävän korkeina kliinisen suojan saavuttamiseksi jopa 12 kuukauden ajan kolmannen rokotteen jälkeen.(21.)

3.6.1. Kansainvälisen Ratsastajainliiton (FEI) rokotussäännöt kansainvälisissä ratsastuskilpailuissa

Kaikkien FEI:n kilpailuihin osallistuvien hevosten tulee olla saanut kaksi peruserokotetta influenssaa vastaan 21 – 92 vuorokauden välillä toisistaan. Sen jälkeen kolmas rokote, eli ensimmäinen tehosterokote, annetaan kuuden kuukauden sisällä toisesta peruserokotteesta. Määräajan saa ylittää enintään 21 vuorokaudella. Tehosterokote tulee antaa vähintään vuoden välein.

Kaikki hevoset, joilla aiotaan osallistua FEI:n kilpailuihin, tulee olla rokotettu influenssaa vastaan vähintään kuuden kuukauden sisällä kilpailusta, määräajan saa ylittää enintään 21 vuorokaudella. Viimeisestä rokotuksesta on täytynyt kulua vähintään seitsemän vuorokautta ennen kilpailua.(23.)

3.6.2. Suomen Ratsastajainliiton rokotussäännöt kansallisissa ja alueratsastuskilpailuissa

Hevoselle tulee antaa kaksi perusrokotetta influenssaa vastaan 21 – 92 vuorokauden välillä toisistaan. Sen jälkeen seuraava tehosterokote annetaan kuuden kuukauden sisällä toisesta perusrokotteesta. Määräajan saa ylittää enintään 21 vuorokaudella. Kilpailuun saa osallistua, kun molemmat perusrokotukset on annettu, vaikka ensimmäistä tehosterokotusta ei olisikaan vielä annettu. Kuitenkin jälkimmäisestä perusrokotuksesta on täytynyt kulua vähintään seitsemän vuorokautta ja enintään kuusi kuukautta (+ 21 vuorokautta). Ensimmäisen tehosterokotteen jälkeen hevoselle tulee antaa enintään vuoden välein seuraavat tehosterokotteet.(24.)

3.6.3. Suomen Hippoksen rokotussäännöt

Kaikkien ravikilpailuissa kilpailevien hevosten ja ponien on tullut olla rokotettuja hevosinfluenssaa vastaan 1.1.2010 lähtien. Rokotusohjelma aloitetaan kahdella perusrokotuksella, joita seuraa vuosittainen tehosterokotus. Toinen perusrokote annetaan 21 – 92 vuorokauden kuluttua ensimmäisen rokotteen jälkeen. Hevonen saa kilpailuoikeuden toisen perusrokotuksen jälkeen. Tämän jälkeen vuosittainen tehosterokote annetaan viimeistään 12 kuukauden kuluttua edellisestä rokotteesta.

Jos vuosittainen tehosterokote jää antamatta, päättyy hevosen kilpailuoikeus 12 kuukauden kuluttua viimeisestä rokotuksesta. Hevosen kilpailuoikeus palautuu, jos hevoselle annetaan tehosterokote viimeistään 13 kuukauden kuluessa edellisestä rokotteesta. Mikäli rokotteiden väli on yli 13 kuukautta, aloitetaan hevosen rokotusohjelma uudestaan perusrokotuksista ja hevosen kilpailuoikeus palautuu, kun se on saanut kaksi perusrokotusta 21 – 92 vuorokauden välein. Rokotteen aiheuttama dopingvaroaika kilpailuun osallistumiselle on neljä vuorokautta (96 tuntia). (25.)

Taulukko 1. Hevosinfluenssarokotteet Suomessa (5.)

Rokotteen kauppanimi	Hevosen influenssaviruskannat	Adjuvantit	Rokotetyyppi	Muut komponentit
Duvaxyn IE Plus injektioneste	A/equi-1/Prague/56 A/equi-2/Newmarket 1/93 A/equi-2/Suffolk/89 Huom: Tehoaa myös A/equi-2/South Africa/4/03- kantaan	Karbomeeri 934P ja alumiini- hydroksidi	Inaktivoitu kokovirusrokote	
Duvaxyn IE-T Plus injektioneste	A/equi-1/Prague/56 A/equi-2/Newmarket 1/93 A/equi-2/Suffolk/89 Huom: Tehoaa myös A/equi-2/South Africa/4/03- kantaan	Karbomeeri 934P ja alumiini- hydroksidi	Inaktivoitu kokovirusrokote (yhdistelmä- rokote)	Tetanus- toksoidi
Equilis Prequenza	A/equi-1/Prague/1/56 A/equi-2/Newmarket/1/93 A/equi-2/Newmarket/2/93	Iscom-matrix (puhdistettu saponiini, kolesteroli ja fosfatidyyli- koliini)	Komponentti- rokote (sisältää hevosen influenssa- viruksien puhdistettua hemagglutiniinia)	
Equilis Prequenza TE	A/equi-1/Prague/1/56 A/equi-2/Newmarket/1/93 A/equi-2/Newmarket/2/93	Iscom-matrix (puhdistettu saponiini, kolesteroli ja fosfatidyyli- koliini)	Komponentti- rokote (yhdistelmä- rokote, sisältää hevosen influenssa- viruksien puhdistettua	Tetanus- toksoidi

			hemagglutiniinia)	
Equilis Resequin	A/equi-1/Prague/1/56 A/equi-2/Newmarket/1/93 A/equi-2/Newmarket/2/93	Alumiini- hydroksidi ja Immunostim®	Inaktivoitu kokovirusrokote	Inaktivoitu hevosen herpesvirus tyyppi 1 (EHV-1), kanta RAC-H sekä inaktivoitu hevosen herpesvirus tyyppi 4 (EHV-4), kanta 2252
Equip F vet	A/Equi/1 Newmarket 77 A/Equi/2 Borlänge 91 A/Equi/2 Kentucky 91	ISCOM- adjuvantti: Quil A (saponiini- glykosidi), fosfatidyyli- koliini, kolesteroli ja alumiini- fosfaatti	Komponentti- rokote	
Equip FT	A/Equi/1 Newmarket 77 A/Equi/2 Borlänge 91 A/Equi/2 Kentucky 91	ISCOM- adjuvantti: Quil A (saponiini- glykosidi), fosfatidyyli- koliini,	Komponentti- rokote (yhdistelmä- rokote)	Tetanus- toksoidi

		kolesteroli ja alumiini- fosfaatti		
Proteqflu	A/equi-2/Ohio/03- yhdistelmä- Canarypox- virus (vCP2242) A/equi-2/Newmarket/2/93- yhdistelmä- Canarypox- virus (vCP1533)	Karbomeeri	Vektorirokote	
Proteqflu-Te	A/equi-2/Ohio/03- yhdistelmä- Canarypox- virus (vCP2242) A/equi-2/Newmarket/2/93- yhdistelmä- Canarypox- virus (vCP1533)	Karbomeeri	Vektorirokote (yhdistelmä- rokote)	Tetanus- toksoidi

3.7. Tautivastustus ja toimenpiteet tautitapauksissa

Hevosinfluenssan, kuten minkä tahansa tarttuvan taudin, vastustamisessa on tärkeää, että epäillyn taudin oireet tunnistetaan nopeasti ja leviämisen estävät toimenpiteet aloitetaan välittömästi. Nopealla ja tehokkaalla toiminnalla voidaan hidastaa taudin leviämistä ja vähentää taudinpurkauksen aiheuttamia vahinkoja.

Hevoset, joilla huomataan influenssan oireita, tulisi eristää tallin muista hevosista välittömästi, jos se on mahdollista. Jos taudin oireita on usealla hevosella, tulisi koko talli tai kyseinen tallin osa eristää muista hevosista. Tallin muiden hevosten terveydentilaa tulee tarkkailla päivittäin. Myös oireettomat hevoset voivat levittää tartuntaa, joten yhtään hevosta ei saisi viedä pois tallista eikä uusia hevosia saisi tuoda talliin.

Ihmisten kulku ja vierailijoiden käyminen tallissa, jossa on sairaita hevosia, tulisi minimoida. Sairaiden hevosten kanssa tekemisissä olevien ihmisten tulee vaihtaa vaatteensa ja jalkineensa sekä pestä kätensä ja kasvonsa huolellisesti ennen toiseen talliin menemistä.

Sairastuneista hevosista tulee ottaa näytteet mahdollisimman pian oireiden alkamisen jälkeen taudinaiheuttajan selvittämiseksi. Tarttuvasta taudista tulee tiedottaa avoimesti, jotta taudin leviämistä muihin talleihin välttyttäisiin. Tartunnalle altistumattomille hevosille on syytä antaa tehosterokote. Taudinpurkauksen jälkeen talli ja sairaiden hevosten kanssa kosketuksissa olleet välineet pestään ja desinfioidaan. (18.)(46.)

4 POHDINTA

Hevosinfluenssan vastustuksessa kattava hevosten rokottaminen on keskeisin ja kenties tehokkain tapa torjua taudin leviäminen. Nykyään hevosten influenssavirusinfektioiden vastustamisessa rokottein keskitytään viruksen H3N8-alatyypin torjumiseen, vaikka rokotteisiin on silti vielä lisätty H7N7-alatyypin viruskantoja. ”Expert surveillance panel on equine influenza” -asiantuntijajaneelin suosituksen mukaan, nykytilanteessa H7N7-kannat voitaisiin jättää pois markkinoilla olevista hevosinfluenssarokotteista, sillä näitä kantoja ei ole todettu esiintyvän hevosilla enää pariin kymmeneen vuoteen.

Monet rokotteen valmistajat kuitenkin lisäävät edelleen H7N7-viruskantoja rokotteisiin. Kyseisen kannan lisäämisestä rokotteisiin voidaan ajatella olevan hyötyä, jos esimerkiksi halutaan testata, onko hevonen todella rokotettu influenssaa vastaan. Rokotetulla hevosella esiintyy H7N7-spesifisiä vasta-aineita, sillä voidaan olettaa, että hevonen ei ole voinut muodostaa näitä vasta-aineita sairastetun taudin kautta, koska viruskantaa ei ole todettu enää esiintyvän hevosilla.

H7N7-viruskannan käyttämisellä rokotteissa halutaan luultavasti myös varmistaa rokotteen teho, jos viruskantaa sattuu esiintymään vielä jossain päin maailmaa. Teoriassa voi olla mahdollista, että jokin piilevä H7N7-kannan influenssavirus muuntuisi ja saavuttaisi virulenssin uudelleen. Jos hevosia ei olisi rokotettu sitä vastaan, niillä ei olisi vasta-aineita tällaista virusta vastaan, mikä saattaisi johtaa laajan epidemian kehittymiseen.

H7N7-kannan lisääminen rokotteeseen lisää valmistuskustannuksia. Rokotteet voisivat olla halvempia ja niitä voisi saada tarvittaessa nopeammin, jos niihin ei tarvitsisi lisätä ylimääräisiä viruskantoja, joita on säilytettävä laboratorioissa tätä tarkoitusta varten. Suomessa markkinoilla olevista hevosen influenssarokotteista vain elävät vektorirokotteet Proteqflu ja Proteqflu-Te eivät sisällä H7N7-viruskantoja.

Rokotteiden valmistajan vastuulla on käyttää rokotteissa ajantasaisia H3N8-viruskantoja, joiden on todettu saavan aikaan suojan kiertäviä viruskantoja vastaan. Valmistajien tulisi seurata uusimpia suosituksia ja päivittää kantoja suositusten mukaan. Kantojen päivittäminen ja vaihtaminen valmisteisiin on kallista, joten useimmat valmistajat eivät tee sitä aktiivisesti. Vain kahden Suomessa markkinoilla olevan hevosen influenssarokotteen (Duvaxyn IE Plus ja Duvaxyn IE-T Plus, Scanvet) valmisteyhteenvedossa mainitaan niiden muodostavan suojan A/equi-2/South Africa/4/03- kantaa vastaan uusimpien suositusten mukaan. Tosin erään tutkimuksen mukaan (Paillot ym. 2008) myös Equip F (Intervet/Schering Plough Animal Health) -rokote muodostaa suojan A/equi-2/South Africa/4/03 -kantaa vastaan kokeellisen infektion perusteella, vaikka sitä ei valmisteyhteenvedossa mainitakaan.(26.) Kirjallisuudessa on myös maininta (Ragni-Alunni ym 2008) Equilis Prezenza (Intervet/Schering Plough Animal Health) -rokotteen tehokkuudesta A/equi-2/South Africa/4/03 -kantaa vastaan.(47.)

Vuosina 2007 ja 2008 Suomessa esiintyi runsaasti hevosinfluenssatautitapauksia. Eristettyjen influenssaviruskantojen todettiin kuuluvan H3N8-alatyypin amerikkalaisen linjan Floridan alalinjaan. Myös A/equi-2/South Africa/4/03 -viruskanta kuuluu Floridan alalinjaan. Kaikki Suomessa markkinoilla olevat rokotteet sisältävät amerikkalaisen ja eurooppalaisen linjan antigeenejä, mutta vain Proteqflu ja Proteqflu-Te sisältävät Floridan alalinjan antigeenejä. Rokotteiden tehotestauksilla on kuitenkin todettu myös Kentuckyn alalinjan antigeenejä sisältävien rokotteiden saavan aikaan suojan Floridan alalinjan viruksia vastaan. Kaikki Suomessa markkinoilla olevat hevosinfluenssarokotteet siis saavat aikaan vastustuskyvyn influenssaa vastaan. Tosin voi olla aiheellista pohtia, onko Floridan alalinjan antigeenejä sisältävien rokotteiden suoja vielä muita rokotteita tehokkaampi tämänhetkisiä viruskantoja vastaan.

Rokotteiden myyntilupia myöntävän viranomaisen vastuulla on tarkistaa, täyttääkö rokotteen myyntilupihakemus EU:n rokotteille asettamat vaatimukset, joita ovat esimerkiksi rokotteen riittävä laatu, turvallisuus ja teho. Viranomainen ei voi noudattaa pelkästään asiantuntijapaneelin suosituksia rokotteiden sisältämistä viruskannoista, sillä ne eivät ole lakiin perustuvia määräyksiä. Viranomaisen täytyy hyväksyä markkinoille rokotteet, jotka täyttävät vaaditut määräykset. Rokotteen tehon osoittaminen ajantasaisia viruskantoja vastaan on osa myyntilupia koskevia viranomaispäätöksiä.

Rokotuksia tekevän praktikkoeläinlääkäriin vastuulla on seurata uusimpia tutkimuksia ja suosituksia, jotta hän pystyy muodostamaan kokonaiskuvan kiertävien viruskantojen tilanteesta. Praktikon on kuitenkin pystyttävä luottamaan siihen, että kaikki markkinoilla olevat rokotteet saavat aikaan edes jonkinlaisen suojan influenssaa vastaan. Tärkeimpiä lähteitä ajankohtaisista viruskannoista ja tehokkaista rokotteista ovat EVIRA:n ja EquiFluNet:n internet-sivut, joita praktikon olisi hyvä seurata säännöllisesti. Kokonaiskuvaa laajentaakseen praktikon on hyvä seurata myös uusimpia tutkimuksia rokotteiden tehotestauksista, joissa rokotetuille hevosille aiheutetaan kokeellinen influenssavirusinfektio. Tutkimuksia lukiessa on kuitenkin muistettava arvioida lähteen relevanssi ja kustakin lähteestä on osattava poimia oleelliset tiedot sekä päätettävä oman arvioinnin perusteella oma toimintatapa.

Rokottaminen on tehokkain influenssan torjuntakeino vain silloin, kun suurin osa hevosista todella rokotetaan. Tehokkaan laumaimmunitetin luomiseksi 70 – 80 % hevospopulaatiosta on rokotettava. Ei siis riitä tallin muutaman kilpahevosen rokotaminen, jos muut hevoset tallissa ovat rokotamattomia ja saavat taudin voimakkaana. Tällöin rokotetutkaan hevoset eivät välttämättä säily oireettomina, koska infektioaine on niin kova.

Kolmen tässä tutkielmassa mainitun hevoskilpailujärjestön rokotussääntöjen mukaan peruserokotukset hyväksytään annettavaksi kolmen viikon – kolmen kuukauden välein toisistaan. Tutkimusten ja rokotteiden valmisteyhteenvetojen mukaan peruserokotusten väli tulisi olla neljä – kuusi viikkoa. Eläinlääkäreiden tulisi ottaa tämä huomioon suunnitellessaan rokotusohjelmia hevosten omistajien kanssa. Hevoskilpailujärjestöjen rokotussuosituksia tulisikin muokata lyhentämällä peruserokotusten väli suositeltuun pituuteen. Ratsastuskilpailujärjestöjen (Suomen Ratsastajainliitto, Kansainvälinen Ratsastajainliitto) rokotussuosituksiin on lisätty asianmukainen ensimmäinen tehoste, joka vaaditaan annettavaksi viimeistään kuuden kuukauden päästä toisesta peruserokotteesta. Ravikilpailusäännöissä (Suomen Hippos) ensimmäinen tehoste vaaditaan annettavaksi vasta 12 kuukauden päästä toisesta peruserokotteesta. Tällöin peruserokotusten ja tehosteen väliin jää aika, jolloin suoja influenssaa vastaan voi olla puutteellinen.

Maternaalisten vasta-aineiden vaikutusta koskevien tutkimusten perusteella varsaa ei tulisi rokottaa ennen kuuden kuukauden ikää, koska ennen sitä emältä saadut vasta-aineet häiritsevät varsan rokotesuojan kehittymistä. Tutkimuksissa on kuitenkin käytetty vain varsoja, joiden emät on rokotettu aktiivisesti tiineyden aikana. Nuoren hevosen rokottaminen tulisi kenties aloittaa jo ennen kuuden kuukauden ikää, jos emää ei olekaan rokotettu tai sillä ei ole sairastetun taudin aikaan saamaa suojaa. Näissä tapauksissa varsalta voisi olla aiheellista mitata influenssavasta-aineiden taso ennen rokotuksen antamista.

Influenssarokotteen todellinen teho selviää lopulta vasta epidemiatilanteessa. Tällöin virukselle altistuneita yksilöitä on todennäköisesti tuhansia, jolloin rokotettujen sekä rokottamattomien sairastuvuutta ja oireita voidaan vertailla. Altistustutkimuksia ei pystytä järjestämään yhtä laajamittaisesti verrattuna aitoon epidemiatilanteeseen.

5 KIITOKSET

Haluan kiittää työni johtajaa ja ohjaajaa professori Liisa Sihvosta sekä työni toista ohjaajaa Liisa Kaartista motivoivasta ja kannustavasta ohjauksesta sekä mielenkiinnosta työtäni kohtaan. Kiitos myös Anita Huovilaiselle ja Karoliina Alm-Packalénille Eviraan hevosinfluenssavirusten sukupuun antamisesta käyttöön työtäni varten.

6 KIRJALLISUUSLUETTELO

- 1) Daly et al.: Antigenic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses; *Journal of General Virology* (1996), 77, 661-671.
- 2) Crawford, Dupovi ym.: Transmission of Equine Influenza Virus to Dogs; *Science Express* on 26 September 2005, *Science* 21 October 2005: Vol. 310. no. 5747, pp. 482 – 485
- 3) Daly ym.: Transmission of Equine Influenza Virus to English Foxhounds; *Emerg Infect Dis.* 2008 March; 14(3): 461–464
- 4) Payungporn ym.: Influenza A Virus (H3N8) in Dogs with Respiratory Disease, Florida; *Emerg Infect Dis.* 2008 June; 14(6): 902–908
- 5) EVIRA, lääkeluettelot.
http://www.evira.fi/attachments/elaimet_ja_terveys/laakeluettelot/tuotantoelaimet_valm.pdf, haettu 25.1.2010.
- 6) Bryant, Rash ym: Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007; *Veterinary Microbiology* Volume 138, Issues 1-2, 2 July 2009, Pages 41-52
- 7) Daly ym.: Investigation of Equine Influenza Cases Exhibiting Neurological Disease: Coincidence or Association?; *J. Comp. Path.* 2006, Vol. 134, 231–235
- 8) Duwe, Schweiger: A new and rapid genotypic assay for the detection of neuraminidase inhibitor resistant influenza A viruses of subtype H1N1, H3N2, and H5N1; *Journal of Virological Methods* Volume 153, Issue 2, November 2008, Pages 134-141
- 9) Spackman, E: A brief introduction to the avian influenza virus; *Methods in Molecular Biology.* 2008. 1-6
- 10) Yasuo Suzuki: Sialobiology of Influenza: Molecular Mechanism of Host Range Variation of Influenza Viruses; *Biol. Pharm. Bull.* 28(3) 399—408 (2005)
- 11) Montalvo-Corral ym.: Genetic analysis of avian influenza virus from migratory waterfowl in Mexico; *Arch Virol* (2010) 155:97–101
- 12) Cardona ym: Avian influenza in birds and mammals; *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* Volume 32, Issue 4, July 2009, Pages 255-273

- 13) Mohammed ym: A proposed taxonomy for characterization and assessment of avian influenza outbreaks; International Journal of Medical Informatics Volume 78, Issue 3, March 2009, Pages 182-192
- 14) Garten ym: Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans, Science Express on 22 May 2009 Science 10 July 2009: Vol. 325. no. 5937, pp. 197 - 201
- 15) Webster ja työryhmä 1992: Evolution and Ecology of Influenza A Viruses
- 16) Qi X, Lu C. 2009: Swine influenza virus: evolution mechanism and epidemic characterization--a review, Wei Sheng Wu Xue Bao. 2009 Sep 4;49(9):1138-45.
- 17) Schnitzler ym 2009: An update on swine-origin influenza virus A/H1N1: a review, Virus Genes. 2009. 39: 3, 279-292. 51 ref.
- 18) Myers ja Wilson 2006: Equine Influenza Virus, Clinical Techniques in Equine Practice Volume 5, Issue 3, September 2006, Pages 187-196
- 19) Sambhara ja Poland 2010: H5N1 Avian Influenza: Preventive and Therapeutic Strategies Against a Pandemic, Annual Review of Medicine Vol. 61: 187-198
- 20) Paillot ym. 2006: Vaccination against equine influenza: Quid novi?, Vaccine Volume 24, Issue 19, 8 May 2006, Pages 4047-4061
- 21) Heldens ym. 2007: Is there a benefit from an early booster vaccination in the control of equine influenza?, The Veterinary Journal Volume 174, Issue 3, November 2007, Pages 592-598
- 22) EquiFluNet: asiantuntijapaneelin suositus rokotteiden sisällöstä. <http://www.aht.org.uk/equiflunet/>, haettu 15.2.2010
- 23) FEI:n rokotussäännöt: <http://www.fei.org/Rules/Veterinary/Documents/Annex%20VI%20-%20Equine%20Influenza.pdf>, haettu 15.2.2010
- 24) Suomen ratsastajainliitto ry. Hevosten ja ponien influenssarokotukset 2010. www.ratsastus.fi, haettu 9.3.2010
- 25) Suomen Hippos. Rokotusohjeet. www.hippos.fi, haettu 9.3.2010
- 26) Paillot ym. 2008: Protection, systemic IFN γ , and antibody responses induced by an ISCOM-based vaccine against a recent equine influenza virus in its natural host; Vet. Res. (2008) 39:21
- 27) Ian R. Tizard. Veterinary Immunology: An Introduction. 6. p. W.B. Saunders Company, 2000.

- 28) Sjaastad ym. *Physiology Of Domestic Animals*. 1. p. Scandinavian Veterinary Press, Finland 2003.
- 29) G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus. *The Immune Response*. Teoksessa: Pastoret ym.(toim.). *Veterinary Vaccinology*. Elsevier, 1997: 55-64.
- 30) Cullinane ym. 2001: Field Studies on Equine Influenza Vaccination Regimes in Thoroughbred Foals and Yearlings; *The Veterinary Journal* 2001, 161, 174–185
- 31) Minke ym. 2004: Equine viral vaccines: the past, present and future; *Vet. Res.* 35 (2004) 425–443
- 32) Daly, Newton, Mumford 2003: Current perspectives on control of equine influenza. *Vet. Res.* 35 (2004) 411–423 © INRA, EDP Sciences, 2004
- 33) Kappale 64: Orthomyxoviridae. Teoksessa: Quinn, Markey ym 2002: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Publishing 2002.
- 34) Spickler ja Roth 2003: Adjuvants in Veterinary Vaccines: Modes of Action and Adverse Effects. *J Vet Intern Med* 2003;17:273–281
- 35) Christopher W. Olsen 2002: The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Research* Volume 85, Issue 2, 10 May 2002, Pages 199-210
- 36) P. J. Timoney 1996: Equine Influenza. *Comp. Immun. Microbiol infect. Dis.* Vol. 19, No. 3, pp. 205-211, 1996
- 37) OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2009. Luku 2.5.7. Equine influenza.
- 38) Mumford, Wilson ym. 1994: Antigenicity and immunogenicity of equine influenza vaccines containing a Carbomer adjuvant. *Epidemiol Infect.* 1994 Apr;112(2):421-37.
- 39) Saukko ja Lehmann 2005: Haittavaikutusilmoitukset immunologisista eläinlääkkeistä vuonna 2003. *TABU* 1/2005, s. 30-32
- 40) Muhonen 2007: Immunologisten eläinlääkkeiden haittavaikutukset 2006. *TABU* 5/2007, s. 29-31
- 41) Yamanaka ym. 2009: Interspecies transmission of equine influenza virus (H3N8) to dogs by close contact with experimentally infected horses. *Veterinary Microbiology* 139 (2009) 351–355
- 42) Bryant, Paillot ym. 2009: Comparison of two modern vaccines and previous influenza infection against challenge with an equine influenza virus from the Australian 2007 outbreak. *Vet. Res.* (2010) 41:19

- 43) Newton, Daly ym. 2006: Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease. *The Veterinary Record* 158:185-192 (2006)
- 44) Statens veterinärmedicinska anstalt, SVA.
<http://www.sva.se/sv/undersida/Nyheter-fran-SVA/Ny-epidemi-av-hastinfluensa-bland-svenska-hastar-2008/>, haettu 10.3.2010
- 45) EVIRA, uutiskirje Saparo, toukokuu 2007 ja joulukuu 2008.
<http://news.evira.fi/newsletter.php?id=7&uutinen=55> ja
<http://news.evira.fi/newsletter.php?id=25&uutinen=230>, haettu 10.3.2010
- 46) Hautala ja Nevalainen (Suomen Hippoksen julkaisu) 2007: Hevosen tarttuvat hengitystiesairaudet. Sälekarin kirjapaino Oy, Somero 2007.
- 47) Ragni-Alunni ja Zande 2008: Efficacy of EquilisReg. *Prequenza Te* in horses individually challenged with A/equi2/Ohio/03. *Ippologia*. 2008. 19: 4, 9-14. 10 ref.