

# Neuropatogenność końskiego herpeswirusa typu 1 – aktualne dane

Joanna Brzezicka<sup>1</sup>, Anna Słońska<sup>2</sup>, Marcin Chodkowski<sup>1</sup>, Joanna Cymerys<sup>1</sup>

z Zakładu Mikrobiologii Katedry Nauk Przedklinicznych<sup>1</sup> oraz Zakładu Fizjologii Katedry Nauk Fizjologicznych<sup>2</sup> Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Koński herpeswirus typu 1 (equine herpesvirus 1 – EHV-1), zwany także wirusem zakaźnego ronienia klaczy, jest powszechnie występującym na świecie czynnikiem zakaźnym koni należącym do rodziny *Herpesviridae*. Zakażenia wywołane przez EHV-1 pozostają ciągle dużym problemem, mimo podejmowania licznych działań zapobiegawczych i dostępności szczepionek. Do zakażenia EHV-1 dochodzi drogą kropelkową lub poprzez bezpośredni kontakt z zakażonym materiałem, jakim są poronione płody i łożysko.

EHV-1 jest czynnikiem etiologicznym powodującym zakażenia układu oddechowego, ronienia (najczęściej w późnej ciąży) oraz różnego typu zaburzenia neurologiczne określane mianem herpeswirusowej mieloencefalopatii (equine herpesvirus myeloencephalopathy – EHM; 1). Nie jest jasne, w jaki sposób uszkodzenie neuronów może bezpośrednio wpływać na występowanie objawów ze strony układu nerwowego. Najprawdopodobniej są one skutkiem replikacji wirusa w śródbłonku naczyń krwionośnych ośrodkowego układu nerwowego, co wywołuje drobne wybroczyny,

zakrzepy i zapalenie naczyń (2, 3). Jak do tej pory mechanizm uszkodzenia komórek nerwowych przez EHV-1 nie został dokładnie wyjaśniony. Wiadomo natomiast, że wystąpienie zaburzeń neurologicznych będących następstwem zakażenia EHV-1 jest zależne od wielu czynników. Czynniki ryzyka są m.in. wiek (objawy neurologiczne występują częściej u koni starszych) i kondycja fizyczna zwierzęcia, jego status immunologiczny oraz patogenność danego szczepu wirusa. Wpływ na wystąpienie objawów neurologicznych ma również to, czy mamy do czynienia z zakażeniem pierwotnym, reinfekcją bądź też reaktywacją wirusa ze stanu latencji (4, 5). W 2007 r. Centrum Epidemiologii i Zdrowia Zwierząt Departamentu Rolnictwa USA (USDA) uznało EHM za chorobę zakaźną koni (6).

Koński herpeswirus typu 1, tak jak inni przedstawiciele podrodziny *Alphaherpesvirinae* (HHV-1, BHV-1, PRV) ma zdolność do wywoływania zakażenia latentnego, z którego w odpowiednich warunkach może ulegać reaktywacji. Do ustalenia stanu latencji może dojść w ciągu pierwszych miesięcy, a nawet tygodni życia konia.

## Neuropathogenicity of equine herpesvirus 1 (EHV-1) – a review of recent developments

Brzezicka J.<sup>1</sup>, Słońska A.<sup>2</sup>, Chodkowski M.<sup>1</sup>, Cymerys J.<sup>1</sup>, Division of Microbiology, Department of Preclinical Sciences<sup>1</sup>, Division of Physiology, Department of Physiological Sciences<sup>2</sup>, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the reviewing current knowledge on EHV-1 neuropathogenicity. Equine herpesvirus 1 (EHV-1), a major causative agent of upper respiratory tract infections and abortion in horses, similarly to other alpha-herpesviruses, produces latent neuronal infection. As the EHV-1 has the ability to establish latent infection in neurons, it may be assumed that it shows tropism to neurons and can be called neurotropic. However, not all identified EHV-1 strains are neuropathogenic. Neuropathogenicity refers to the ability of an agent to cause pathological changes in the nervous tissue, usually associated with the onset of clinical disease. Molecular epidemiology studies have demonstrated that a single-point mutation in DNA polymerase gene, resulting in an amino acid variation (N752/D752), is significantly associated with the neuropathogenic potential of EHV-1 strains. Recently, increased attention is paid to the molecular aspects of neuropathogenicity of EHV-1 strains however, according to the studies presented in the literature, non-neuropathogenic EHV-1 strains prevail in the horse population worldwide.

**Keywords:** EHV-1, neurotropism, neuropathogenicity, horse.

Z punktu widzenia epidemiologicznego, latencja jest bardzo istotną dla wirusa strategią zapewniającą mu rozprzestrzenianie się oraz przetrwanie wśród populacji gospodarza (2, 7). W ten sposób wirus może pozostać niewykrywalny dla układu immunologicznego, przechodząc w bezobjawowy stan utajenia, pomiędzy fazami replikacji (2). EHV-1 ustala swoją latencję w komórkach nerwowych i leukocytach. W tym czasie ekspresja wirusowego DNA jest ograniczona do kilku transkryptów genów związanych z latencją (latency associated transcripts – LATs; 2).

### Neuropatogenność szczepów EHV-1

Dane literaturowe dotyczące patogenności EHV-1 są coraz liczniejsze. Pomimo faktu, że coraz większe zainteresowanie badaczy skupione jest na neurologicznej postaci zakażenia EHV-1, nadal istnieją sprzeczne informacje dotyczące definicji pojęć neuropatogenności oraz neurotropizmu szczepów EHV-1.

Wszystkie szczepy EHV-1 są szczepami neurotropowymi, jednak nie wszystkie muszą być neuropatogenne. Neurotropizm jest zdolnością do zakażenia komórek nerwowych. Pojęcie neuropatogenności oznacza zdolność do wywoływania patologicznych zmian w tkance nerwowej, co może mieć związek z występowaniem klinicznych objawów neurologicznych (2, 3). Szczepy EHV-1 dzieli się na szczepy nieneuropatogenne i neuropatogenne.

W 2006 r. Nugent i wsp. (8) opisali niesynonimiczną mutację punktową determinującą neuropatogenność szczepów EHV-1. Polega ona na zastąpieniu adeniny (A) przez guaninę (G) w pozycji nukleotydowej 2254 genu kodującego pojedynczą katalityczną wirusową DNA polimerazy (ORF30). Substytucja ta skutkuje zamianą aminokwasu w pozycji 752 łańcucha białkowego z asparaginy (N) na kwas asparaginowy (D). Zmiana ta wpływa na właściwości funkcjonalne tego enzymu i odgrywa ważną rolę w etiologii zaburzeń neurologicznych wywoływanych przez EHV-1. Cecha ta została wykorzystana jako molekularny marker umożliwiający identyfikację neuropatogennych szczepów końskiego herpeswirusa typu 1. W tym samym genie (ORF30) może występować druga mutacja punktowa, polegająca na zmianie cytozyny (C) na adeninę (A) w pozycji 2258. Konsekwencją tej substytucji jest obecność seryny w miejscu tyrozyny w pozycji aminokwasowej 753. Uważa się, że mutacja ta może wpływać na zdolność szczepu do wywoływania zaburzeń neurologicznych.

W 2010 r. na myślim modelu badawczym wykryto, że jednym z czynników warunkujących neuropatogenność EHV-1 jest gen kodowany przez ORF37, którego

produkt – białko UL24 – odgrywa rolę w namnażaniu się wirusa w komórkach nerwowych (9).

Szczepy nieneuropatogenne również mogą wnikać do komórek nerwowych (wykazują neurotropizm), replikować się w nich lub ustanawiać stan latencji, ale nie powodują w nich żadnych zmian patologicznych, a tym samym objawów ze strony układu nerwowego (2). Dane epidemiologiczne wskazują, że większość szczepów EHV-1 występujących w środowisku stanowią szczepy nieneuropatogenne ( $A_{2254}$ ). Szczepy nieneuropatogenne były odpowiedzialne za 95–98% przypadków poronień u klaczy w Stanach Zjednoczonych, Wielkiej Brytanii i innych krajach oraz za 15–25% przypadków wystąpienia zaburzeń neurologicznych związanych z zakażeniem EHV-1.

Pewne jest, że zakażenie neuronów ma bardzo duże znaczenie w epidemiologii zakaźnego wirusowego ronienia klaczy (10, 11). Nie jest jednak jasne, jaką rolę w wywoływaniu nerwowej formy zakażenia odgrywa bezpośrednie uszkodzenie neuronów. Objawy neurologiczne wynikają bowiem głównie z replikacji wirusa w śródbłonku drobnych naczyń krwionośnych i towarzyszących jej drobnych wynaczyni i oraz zakrzepów (12, 11). Najprawdopodobniej więc różnice w zjadliwości szczepów nieneuropatogennych ( $A_{2254}$ ) i neuropatogennych ( $G_{2254}$ ) są związane z ich zdolnością do rozprzestrzeniania się i zakażenia komórek śródbłonka naczyń krwionośnych w ośrodkowym układzie nerwowym (3, 8).

### Występowanie szczepów neuropatogennych na świecie

Do niedawna głównie opisywanymi następstwami zakażenia końskim herpeswirusem typu 1 były ronienia klaczy w okresie późnej ciąży. Jednak w ciągu ostatnich kilku lat częstotliwość występowania i skutecznego diagnozowania zaburzeń neurologicznych wywoływanych przez EHV-1 wyraźnie wzrosła (13). Pierwszą izolację neuropatogennego szczepu EHV-1 opisał w 1966 r. Saxegaard (14).

Perkins i wsp. (15) ocenili występowanie szczepów neuropatogennych wirusa na terenie Ameryki Północnej w latach 1984–2007. Wśród 11% badanych izolatów (19/176) stanowiły szczepy  $G_{2254}$ , przy czym u 16 zakażonych koni wystąpiły zaburzenia neurologiczne. Z kolei 24% (5/21) koni z zaburzeniami neurologicznymi w badanej populacji było zakażonych nieneuropatogennym szczepem EHV-1, co sugeruje, że w patogenезę EHM mogą być zaangażowane także inne czynniki. Autorzy tego badania potwierdzili wzrost poziomu występowania neuropatogennych

szczepów EHV-1. W ciągu pierwszych 11 lat badania (1984–1995) szczep  $G_{2254}$  został wyizolowany tylko czterokrotnie. W kolejnych latach (1996–2007) aż 15 izolatów wirusa stanowiły szczepy neuropatogenne.

Monitorowanie zakażeń wywołanych przez EHV-1 w latach 1957–2008 na terenie Kentucky (USA) potwierdziło, że liczba ronień będących następstwem zakażenia tym wirusem uległa zmniejszeniu, mimo że liczba klaczy w danym okresie trzykrotnie wzrosła. Ronienia zdarzały się sporadycznie w pojedynczych stadninach wśród rutynowo szczepionych przeciwko EHV-1 klaczy. Badanie potwierdziło, że występowanie zaburzeń neurologicznych wywołanych przez EHV-1 wyraźnie wzrosło od 2000 r. Liczba zgłoszonych przypadków EHM w Stanach Zjednoczonych i Wielkiej Brytanii wzrosła z 1 w latach 70. do 32 w latach 2001–2005. Autorzy wykazali, że występowanie izolatów o neuropatogennym genotypie wzrosło z poziomu 3,3% w latach 60. do 14,4% w latach 90. W latach 2000–2006 szczepy  $G_{2254}$  EHV-1 stanowiły 19,4% wszystkich przypadków, co sugeruje że szczepy neuropatogenne kontynuują wzrost latentnego rezerwuaru wirusa, czego skutkiem jest zwiększone ryzyko występowania zaburzeń neurologicznych w przyszłości (16).

W 2016 r. ukazała się kolejna publikacja dotycząca występowania EHV-1 w populacji koni w Stanach Zjednoczonych (17). Ocenie poddano próbki wydzieliny z nosa oraz krwi pobrane od marca 2008 r. do grudnia 2014 r. Izolaty pochodziły od 4228 koni z 38 stanów USA wykazujących objawy zakażenia dróg oddechowych i/lub ostre zaburzenia neurologiczne. U 2,7% koni (117/4228) potwierdzono zakażenie EHV-1, przy czym większość z izolatów stanowiły szczepy nieneuropatogenne ( $A_{2254}$ ). Autorzy nie stwierdzili występowania istotnych różnic w wirerii między szczepami  $A_{2254}$  i  $G_{2254}$ . Badania wykazały, że większości przypadków zdiagnozowanych zaburzeń neurologicznych towarzyszyło zakażenie EHV-1. Wirus został wyizolowany z 47 próbek krwi i 100 próbek wydzieliny z nosa, przy czym u 33 osobników wirus został wyizolowany jednocześnie z krwi oraz wydzieliny nosowej. W przypadku 47 pozytywnych próbek krwi szczep nieneuropatogenny wystąpił 28, zaś neuropatogenny 19 razy. Natomiast w 100 zakażonych wirusem próbkach wydzieliny z nosa szczep nieneuropatogenny wystąpił 69, a neuropatogenny 31 razy.

W latach 2002–2009 we Francji szczepy neuropatogenne stanowiły 24% (30/125) wszystkich przypadków zakażeń EHV-1. Zaburzenia neurologiczne wystąpiły u 7 koni, z których 6 padło. Szczep neuropatogenny był przyczyną choroby

układu oddechowego u jednego osobnika, a w 22 przypadkach doprowadził do poronienia. Wszystkie neuropatogenne szczepki zostały wyizolowane w 2009 r. i pochodziły z dwóch ognisk zakażenia (18). Fritsche i wsp. (19) ocenili, że w Niemczech szczepki G<sub>2254</sub> były odpowiedzialne za 10,6% wszystkich przypadków zakażenia EHV-1 w latach 1987–2009. W innych badaniach opisano kilka przypadków roniń wywołanych przez szczep neuropatogenne, do których doszło w jednej ze stadnin w 2012 r. (20). Co ciekawe, wśród zakażonych klaczy nie stwierdzono żadnego przypadku wystąpienia EHM. Wszystkie z tych zwierząt były regularnie szczepione przeciwko EHV-1 i być może właśnie dzięki temu nie wystąpiły u nich zaburzenia neurologiczne. Przypadki wystąpienia EHM miały miejsce również w Belgii i Holandii (6).

W Argentynie w latach 1996–2008 szczepki neuropatogenne występowały na poziomie 7% wszystkich przypadków zakażeń (4/54), a zaburzenia neurologiczne wystąpiły u dwóch osobników zakażonych tym szczepem wirusa (14). W latach 2001–2010 w Japonii neuropatogenne wariant wirusa wystąpił w 2,7% przypadków (3/113; 21). Dunowska i wsp. (22) w 2015 r. opisali pierwszy przypadek wystąpienia neuropatogennego szczepu EHV-1 na terenie Nowej Zelandii, co stanowiło 5,9% opisanych w publikacji przypadków. Turan i wsp. (23) przebadali pod kątem neuropatogenności izolaty EHV-1 pochodzące z jednego z regionów Turcji. Próbkę były pobierane z poronionych płodów w latach 2008–2009, jednak w żadnym z przypadków zakażenia nie wykryto mutacji związanej z neuropatogennością EHV-1. Negussie i wsp. (5) opisali izolację i molekularną charakterystykę szczepów EHV-1 związanych z klinicznymi przypadkami zaburzeń neurologicznych u 6 koni, 3 mułów i 82 osłów, które wystąpiły od maja 2011 do grudnia 2013 r. na terenie Etiopii. Wyniki wykazały, że 90 z 91 opisanych przypadków (98,9%) było związane z obecnością neuropatogennego szczepu EHV-1. Nieneuropatogenne wariant A<sub>2254</sub> został wykryty tylko w przypadku 1 osła. Co ciekawe, autorzy badań zaobserwowali, że związane z zakażeniem EHV-1 zaburzenia neurologiczne występują częściej (i są zazwyczaj bardziej dotkliwe) u osłów niż u koni i mułów. Zauważono także, że przypadki zaburzeń neurologicznych zdarzały się w ciągu całego roku, z wyraźnym nasileniem częstotliwości występowania w okresie od kwietnia do połowy czerwca.

Badania dotyczące występowania wirusa EHV-1 były prowadzone również w Polsce. Bażanów i wsp. (24) ocenili występowanie roniń będących skutkiem zakażenia EHV-1. Badanie wykazało, że 23,5%

poronień klaczy na terenie Polski było związane z obecnością EHV-1. Autorzy wykazali również, że poronienia i padnięcia wśród nowo narodzonych źrebiąt występowały w ciągu roku z określoną regularnością – większość z nich miało miejsce od października do marca, z wyraźnym nasileniem w styczniu (24,5% wszystkich przypadków). W 2015 r. po raz pierwszy opisano wystąpienie neuropatogennych szczepów EHV-1 w populacji koni w Polsce. Stasiak i wsp. (25) przeprowadzili analizę genomów wirusowych z 20 próbek zakażonych EHV-1 wyizolowanych z poronionych płodów. Uzyskane wyniki wykazały, że 2 z próbek zawierały neuropatogenne wariant wirusa, co stanowi 10% wszystkich opisanych w badaniu przypadków. Obecność guaniny w pozycji 2254 została potwierdzona za pomocą sekwencjonowania. Warto zaznaczyć, że żadnemu z przypadków poronienia nie towarzyszyło występowanie zaburzeń neurologicznych. Z powyższych badań wynika wyraźna dominacja nieneuropatogennych szczepów EHV-1, które głównie powodują ronięcia klaczy w polskiej populacji koni.

### Podsumowanie

Neuropatogenne szczepki EHV-1 stanowią 18% latentnego rezerwuaru wirusa wśród światowej populacji koni (4). Można przypuszczać, że jeżeli frekwencja występowania neuropatogennych szczepów wirusa oraz ich reaktywacja ze stanu latentności będą w dalszym ciągu wzrastać, to zwiększy się również liczba przypadków zaburzeń neurologicznych wywołanych przez EHV-1. Należy również podkreślić, że brak mutacji determinującej neuropatogenność szczepu nie oznacza braku możliwości pojawienia się zaburzeń neurologicznych u zakażonych koni, na co wskazują zarówno przeprowadzone badania epidemiologiczne oraz badania na hodowlach komórek nerwowych (13, 2, 3). W związku z tym istotną kwestią wydaje się poznanie różnic w mechanizmie zakażeń wywołanych przez szczepki neuropatogenne i nieneuropatogenne na poziomie molekularnym, w tym skutków ich działania w komórkach gospodarza. Należy również uwzględnić fakt, że nie tylko mutacja, ale również stan immunologiczny zwierzęcia determinuje pojawienie się zaburzeń neurologicznych.

### Piśmiennictwo

- Paillot R., Case R., Ross J., Newton R., Nugent J.: Equine Herpes Virus-1: Virus, Immunity and Vaccines. *Open Vet. Sci. J.* 2008, **2**, 68–91.
- Cymerys J., Dzieciatkowski T., Słońska A., Bierła J., Tucholska A., Chmielewska A., Golke A., Bańbura M.W.: Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) replication in primary murine neurons culture. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, **13**, 701–708.

- Cymerys J., Słońska A., Brzezińska J., Tucholska A., Chmielewska A., Rola J., Malik P., Bańbura M.W.: Replication kinetics of neuropathogenic and non-neuropathogenic equine herpesvirus type 1 (EHV-1) strains in primary murine neurons and ED cell line. *Pol. J. Vet. Sci.* 2016, **19**, 777–784.
- Allen G.P., Bolin D.C., Bryant U., Carter C.N., Giles R.C., Harrison L.R., Hong C.B., Jackson C.B., Poonacha K., Wharton R., Williams N.M.: Prevalence of latent, neuropathogenic equine herpesvirus-1 in the Thoroughbred broodmare populations in Kentucky. *Equine Vet. J.* 2008, **40**, 105–110.
- Negussie H., Gizaw D., Tessema T.S., Nauwynck H.J.: Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy, an Emerging Threat of Working Equids in Ethiopia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015, 1–8, doi:10.1111/tbed.12377.
- Płoszay G., Rola J., Zmudziński J.F.: Forma nerwowa zakażenia herpeswirusem koni typ 1 jako nowo pojawiająca się choroba zakaźna koni. *Med. Weter.* 2012, **68**, 88–91.
- Turowska A., Pająk B., Godlewski M.M., Dzieciatkowski T., Chmielewska A., Tucholska A., Bańbura M.: Opposite effects of two different strains of equine herpesvirus 1 infection on cytoskeleton composition in equine dermal ED and African green monkey kidney Vero cell lines: application of scanning cytometry and confocal – microscopy-based image analysis in a quantitative study. *Arch. Virol.* 2010, **155**, 733–743.
- Nugent J., Birch-Machin I., Smith K.C., Mumford J.A., Swann Z., Newton J.R., Bowden R.J., Allen G.P., Davis-Poynter N.: Analysis of Equid Herpesvirus 1 Strain Variation Reveals a Point Mutation of the DNA Polymerase Strongly Associated with Neuropathogenic versus Non-neuropathogenic Disease Outbreaks. *J. Virol.* 2006, **80**, 4047–4060.
- Kasem S., Htay Htay Yu M., Yamada S., Kodaira A., Matsuura T., Tsujimura K., Madbouly H., Yamaguchi T., Ohya K., Fukushi H.: The ORF37 (UL24) is a neuropathogenicity determinant of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in the mouse encephalitis model. *Virology* 2010, **400**, 259–270.
- Regge N. de, Favoreel H.W., Geenen K., Nauwynck H.J.: A homologous in vitro model to study interactions between alphaherpesviruses and trigeminal ganglion neurons. *Vet. Microbiol.* 2006, **113**, 251–255.
- Sauerbrei A., Wutzler P.: Laboratory diagnosis of central nervous system infections caused by herpesviruses. *J. Clin. Virol.* 2002, **25**, 45–51.
- Bryans J.T., Allen G.P.: Herpesviral Diseases of the Horse. Wittman G. (ed) *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs. Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London* 1989, 176–229.
- Mori E., do Carmo C.S.H., Lara M., Cunha E.M.S., Vilalobos E.M.C., Mori C.M.C., Soares R.M., Brandão P.E., Fernandes W.R., Richtzenhain L.J.: Molecular characterization of Brazilian equid herpesvirus type 1 strains based on neuropathogenicity markers. *Braz. J. Microbiol.* 2015, **46**, 565–570.
- Vissani M.A., Becerra M.L., Olguín Perglione C., Tordoya M.S., Miño S., Barrandeguy M.: Neuropathogenic and non-neuropathogenic genotypes of Equid Herpesvirus type 1 in Argentina. *Vet. Microbiol.* 2009, **139**, 361–364.
- Perkins G.A., Goodman L.B., Tsujimura K., Van de Walle G.R., Kim S.G., Dubovi E.J., Osterrieder N.: Investigation of the prevalence of neurologic equine herpes virus type 1 (EHV-1) in a 23-year retrospective analysis (1984–2007). *Vet. Microbiol.* 2009, **139**, 375–378.
- Smith K.L., Allen G.P., Branscum A.J., Frank Cook R., Vickers M.L., Timoney P.J., Balasuriya U.B.R.: The increased prevalence of neuropathogenic strains of EHV-1 in equine abortions. *Vet. Microbiol.* 2010, **141**, 5–11.
- Pusterela N., Mapes S., Akana N., Barnett C., MacKenzie C., Gaughan E., Craig B., Chappell D., Vaala W.: Prevalence factors associated with equine herpesvirus type 1 infection in equids with upper respiratory tract infection and/or acute onset of neurological signs from 2008 to 2014. *Vet. Rec.* 2016, **178**, 70.
- Pronost S., Léon A., Legrand L., Fortier C., Miszczak F., Freymuth F., Fortier G.: Neuropathogenic and non-neuropathogenic variants of equine herpesvirus 1 in France. *Vet. Microbiol.* 2010, **145**, 329–333.
- Fritsche A.K., Borchers K.: Detection of neuropathogenic strains of Equid Herpesvirus 1 (EHV-1) associated with abortions in Germany. *Vet. Microbiol.* 2011, **147**, 176–180.

## Prace poglądowe

20. Damiani A. M., de Vries M., Reimers G., Winkler S., Osterrieder N.: A severe herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion outbreak caused by a neuropathogenic strain at breeding farm in northern Germany. *Vet. Microbiol.* 2014, **172**, 555–562.
21. Tsujimura K., Oyama T., Katayama Y., Muranaka M., Bannai H., Nemoto M., Yamanaka T., Kondo T., Kato M., Matsumura T.: Prevalence of Equine Herpesvirus Type 1 Strains of Neuropathogenic Genotype in a Major Breeding Area of Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2011, **73**, 1663–1667.
22. Dunowska M., Gopakumar G., Perrott M.R., Kendall A.T., Waropastrakul S., Hartley C.A., Carslake H.B.: Virological and serological investigation of Equid herpesvirus 1 infection in New Zealand. *Vet. Microbiol.* 2015, **176**, 3–4.
23. Turan N., Yildirim F., Altan E., Sennazli G., Gurel A., Diallo I., Yilmaz H.: Molecular and pathological investigations of EHV-1 and EHV-4 infections in horses in Turkey. *Res. Vet. Sci.* 2012, **93**, 1504–1507.
24. Bażanów B., Jackulak N., Florek M., Staroniewicz Z.: Equid Herpesvirus-Associated Abortion in Poland between 1977–2010. *J. Equine Vet. Sci.* 2012, **32**, 747–751.
25. Stasiak K., Rola J., Ploszay G., Socha W., Zmudzinski J.F.: Detection of the neuropathogenic variant of equine herpesvirus 1 associated with abortions in mares in Poland. *BMC Vet. Res.* 2015, **11**, 102.

---

Dr Joanna Cymerys, Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa