Charakterystyka nowego wirusa grypy typu D

IWONA MARKOWSKA-DANIEL, MARCIN MICKIEWICZ, LUCJAN WITKOWSKI, JERZY KITA

Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

Otrzymano 22.03.2016

Zaakceptowano 26.04.2016

Markowska-Daniel I., Mickiewicz M., Witkowski L., Kita J.

Characterization of a new influenza virus type D

Summary

Influenza is caused by viruses belonging to the Orthomyxoviridae family. Currently three types of influenza virus are known: A (Influenza A virus, IAV), B (IBV) and C (ICV). Despite the fact that all these viruses are derived from a common ancestor they differ from each other by the number of segments, the size and sequence of RNA segments, antigenicity, pathogenicity and the spectrum of natural reservoirs.

In 2011, a new influenza virus was isolated in the USA from pigs manifesting influenza-like symptoms. The virus was the most closely related to ICV. It was able to replicate in vitro in different cell cultures and displayed much broader cell tropism than human ICV. Moreover, in contrast to ICV, it was able to replicate at 37°C.

Electron microscopic studies demonstrated features characteristic of Orthomyxoviruses. Despite morphological and organizational similarities, the biological properties of the new virus, including biochemical activity, differ from that of other influenza viruses. Enzymatic assays revealed that the new virus had negligible neuraminidase but detectable O-acetyloesterase activity.

Further studies evidenced that the new virus varied from ICV in receptor binding, despite its sharing a conserved array of functional domains in the viral RNA genome replication and viral entry machinery.

Analysis conducted with the use of the model of crystal structure of the hemagglutinin-esterase fusion protein (HE) of the new virus and its receptor demonstrated that this protein was multifunctional. It catalyzes cellular receptor binding, receptor cleavage, as well as membrane fusion. Moreover, divergent receptor-binding sites than HE of ICV have been discovered in the new virus. These amino acid differences may alter the binding specificity and affinity of the HE protein to the receptor that in turn result in the observed differences in cellular tropism between the two viruses. It also possesses an open channel between the 230-helix and 270-loop in the receptor-binding site, which is a unique feature of this virus. This might explain why the new virus has a broad cell tropism. It is possible that the sequence variation in the fusion domain may influence the replication of this virus at a higher temperature when compared to ICV.

Next-generation sequencing demonstrated that the genome of the new virus, similarly to ICV, had seven single-stranded negative-sense RNA segments coding 9 viral proteins. Deep RNA sequencing found a M1 protein expression strategy different from that of ICV.

Studies aimed at evaluating of the evolutionary relationship of both viruses revealed that the new virus and ICV shared an approximately 69-72% mean pairwise identity in the PB1 gene, which is reported to be the most conserved influenza virus protein. Additionally, differences were detected at 5' and 3' ends of noncoding regions, which are also highly conserved. They both may be responsible for the lack of in vitro reassortment between ICV of human origin and the new virus.

In the study characterizing antigenic properties of the new virus, no cross-reactivity was observed using HI and AGID tests. This indicates the major differences in conserved proteins M1 and NP between both viruses.

Summing up, despite the fact that new virus is the most closely related to human ICV, the number of important antigenic and genetic distinctions among them is the basis for suggesting that the International Committee of Virus Taxonomy classify it as a separate genus – D.

There is no doubt that the discovery of a new influenza virus genus will have a great impact on influenza research and ecology.

Keywords: influenza virus type D, taxonomy, biological, antigenic and genetic properties

Charakterystyka wirusów grypy

Grypę wywołują wirusy należące do rodziny *Orthomyxoviridae*. Na podstawie różnic w organizacji genomu do chwili obecnej w tej rodzinie wyodrębniono

sześć rodzajów. Cztery z nich, w tym wywołujące gripę wirusy typu A (*Influenza A virus*, IAV), B (*Influenza B virus*, IBV) i C (*Influenza C virus*, ICV) oraz wywołujący zakaźną anemię łososi *Isavirus* obejmują po jednym gatunku, a dwa kolejne, tj. *Quaranjavirus*

i *Thogotovirus*, które zakażają przede wszystkim stawonogi i ptaki, aczkolwiek mogą także powodować zakażenia zwierząt gospodarskich i ludzi, obejmując po dwa gatunki (18).

Ewolucyjnie IAV, IBV i ICV wywodzą się od wspólnego przodka, na co wskazuje wysoki stopień podobieństwa sekwencji nukleotydowych na końcach 3' i 5' RNA. Organizacja genomu IAV i IBV oraz rodzaj syntetyzowanych białek wskazują, że ICV oddzielił się od wspólnego przodka, tworząc odrębną gałąź filogenetyczną, znacznie wcześniej niż doszło do wyodrębnienia się typów A i B (6, 27). Na uwagę zasługuje fakt, że homologia w zakresie konserwatywnych białek matriks 1 (M1) i nukleoproteiny (NP) w obrębie typu jest wysoka (> 85%), natomiast pomiędzy typami jest niska (20-30%) (10).

Pomimo wspólnego pochodzenia szczepy reprezentujące poszczególne typy wirusa grypy różnią się między sobą: liczbą, długością i sekwencją nukleotydową segmentów RNA, stopniem zmienności genetycznej i antygenowej, chorobotwórczością, a także zakresem gospodarzy.

Wirusy grypy typu A

Najbardziej rozpowszechnione w przyrodzie są IAV. Wywołują one infekcje zarówno u ludzi, jak i u licznych gatunków ssaków, w tym u zwierząt gospodarskich (świnie, konie), zwierząt towarzyszących (psy, okazjonalnie koty), zwierząt egzotycznych (tygrysy, pantery, lamparty, gepardy, cywety, pandy, szopy), ssaków morskich (foki, wieloryby), wielbłądów, norek, frettek, nietoperzy oraz u wielu gatunków ptaków hodowlanych i dzikich (4, 12, 16, 19, 20, 25). Naturalnym rezerwuarem IAV jest dzikie ptactwo wodne.

Wśród szczepów IAV wyróżnia się podtypy. Do chwili obecnej wykryto 18 podtypów białka powierzchniowego hemaglutyniny (HA) oraz 11 podtypów białka neuraminidazy (NA) (26).

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że IAV w wyniku procesów mutacji lub reasortacji genów stosunkowo często ulegają zmianom genetycznym, mają zdolność do przekraczania bariery gatunkowej oraz posiadają potencjał pandemiczny.

Wirusy grypy typu B

Wirusy grypy należące do typu B są często izolowane w czasie sezonowych epidemii grypy. Za ich główny rezerwuuar uważani są ludzie, aczkolwiek w 2013 r. infekcje powodowane przez IBV stwierdzono także u fok (2).

Pomimo iż w obrębie typu B nie wyróżnia się podtypów, jak ma to miejsce w odniesieniu do szczepów IAV, to na podstawie analizy właściwości genetycznych i antygenowych, szczególnie HA, wśród szczepów IBV aktualnie wyodrębniono dwie linie filogenetyczne, reprezentowane przez szczepy B/Yamagata oraz B/Victoria (22). Wirusy należące do obydwu linii są zawarte w szczepionkach sezonowych przeciwko grypie.

Szczepy IBV nie powodują pandemii grypy.

Wirusy grypy typu C

Głównym rezerwuarem ICV są również ludzie. Wirusy te wywołują łagodne infekcje górnych dróg oddechowych, zwłaszcza u dzieci, a przeciwciała dla tego typu są wykrywane u większości osób starszych oraz u dzieci. Były one także izolowane w czasie epidemii grypy wywołanych przez IAV oraz IBV (1, 15). Szczepy ICV izolowane od ludzi reprezentują jeden podtyp, wykazują niski poziom zmienności genetycznej i ewoluują około dziewięciokrotnie wolniej niż IAV. Do chwili obecnej wyodrębniono sześć linii genetycznych ludzkich szczepów ICV o wysokim pokrewieństwie (> 95%) (17, 23). Podobnie jak IBV, ICV nie powodują pandemii grypy (7).

Wirusy należące do ICV izolowano także od świń oraz od psów (8, 14). Świnie są wrażliwe na zakażenie zarówno szczepami ludzkimi ICV, jak i izolowanymi od świń. Podobnie jak u ludzi, ICV powoduje u świń łagodne infekcje dróg oddechowych. Zarówno wirus, jak i swoiste dla ICV przeciwciała wykryto dotychczas w Chinach oraz USA. Analiza filogenetyczna wykazała bliskie pokrewieństwo pomiędzy szczepem ICV izolowanym od świń w Chinach a ludzkim szczepem ICV izolowanym w Japonii. Potwierdza to fakt krążenia ICV w obydwu populacjach. Ponadto przeciwciała dla ludzkiego szczepu ICV wykryto u 9,9% świń w Japonii oraz 19% świń w Wielkiej Brytanii (13, 28, 29).

Izolacja i charakterystyka nowego typu wirusa grypy

W kwietniu 2011 r. u 15 tygodniowych świń w USA wystąpiły objawy grypopodobne. Od zwierząt pobrano próbki wymazów z nosa, które przebadano testem PCR, ze starterami używanymi do wykrywania obecności RNA IAV. Wynik badania był negatywny (10).

Podjęto także próbę izolacji wirusa w hodowli komórek jąder świń (swine testicle, ST). W 3. dniu po zakażeniu (dpz) z badanych próbek wymazów wyizolowano szczep, który powodował efekt cytopatyczny (cytopathic effect, CPE) podobny do obserwowanego przy zakażeniu wirusem grypy. Zbiór wirusa z hodowli komórkowej przebadano testem PCR opracowanym do wykrywania szczepów IAV i ponownie uzyskano wynik ujemny (10).

Ostatecznie, w Laboratorium Newport w Worthington, w stanie Minnesota, USA, wyizolowano z badanych wymazów nowy szczep wirusa grypy, o cechach zbliżonych do ICV. Pierwsza praca na ten temat ukazała się w 2013 r. (10).

Replikacja *in vitro*

Nowy wirus grypy wykazywał zróżnicowaną zdolność do replikacji *in vitro* w różnych liniach komórkowych, odmienną od ludzkiego ICV, który namnaża się optymalnie w temperaturze 33°C oraz generalnie replikuje słabo, wyłącznie w hodowlach ST i komórek raka prostaty (human rectal tumor, HRT-18G). W przeciwieństwie do ICV, nowy wirus grypy najlepiej

namnażał się w temperaturze 37°C w następujących hodowlach komórkowych: ST, w komórkach nerki psa (Madin-Darby canine kidney, MDCK), komórkach nerki małpy (Green African monkey kidney, MARC-145), HRT-18G i komórkach gruczołakoraka ludzkiego (adenocarcinomic human alveolar basal epithelial, A549). Minimalną replikację stwierdzono w komórkach nerki chomika (baby hamster kidney, BHK-21) i nerki świni (pig kidney, PK-15) (10). Dowodzi to, że nowy wirus grypy posiada szerokie spektrum komórkowe oraz jest bardziej plastyczny, bowiem jego replikacja *in vitro* nie jest hamowana w temperaturze 37°C, jak ma to miejsce w przypadku ICV.

Morfologia

Badanie w mikroskopie elektronowym wykazało, że nowy wirus grypy posiada cechy morfologiczne charakterystyczne dla ortomyksowirusów. Kontrastowym barwieniem negatywowym octanem uranylu w badanym materiale wykazano obecność sferycznych i pleomorficznych cząstek wirusowych o średnicy około 100-120 nm. Na powierzchni otoczki wiriony posiadały dwa rodzaje wypustek, o grubości 10-13 nm oraz 4-6 nm. Widoczne były również typowe dla ortomyksowirusów nitkowate wiriony pączkujące z błony plazmatycznej, uwalniające się z zakażonej komórki (10).

Właściwości biologiczne

Pomimo zbliżonej morfologii nowy wirus różnił się od innych szczepów wirusa grypy właściwościami biologicznymi, w tym biochemicznymi. Testem enzymatycznym wykazano nieznaczna aktywność neuraminidazy, natomiast po dodaniu octanu 4-nitrofenolu stwierdzono, że aktywność O-acetyloesterazy, typowa dla ICV, była wyraźna (10).

W związku z tym wykonano badanie wymazów z nosa wspomnianych powyżej świń testem PCR z użyciem starterów typowych dla IBV i ICV, a także dla wirusa zespołu rozrodco-oddechowego, koronawirusa oraz cirkowirusa świń. We wszystkich testach uzyskano wynik ujemny (10).

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono dodatkowo, że w nowym wirusie białko kodowane przez gen polimerazy 3 (PB3) ma właściwości pośrednie pomiędzy IAV/IBV i ICV, a mianowicie ujemny logarytm dziesiętny stałej dysocjacji – pKa wynosił 6,2 (w szczepach IAV i IBV PB3 koduje białko o właściwościach kwasowych, pKa wynosi 5,2, zaś w szczepach ICV kodowane jest białko obojętne, pKa wynosi około 7,2) (10).

Struktura genomu

Badanie właściwości genetycznych nowego wirusa grypy uwidoczniło, że jego genom zawiera jednociowe, negatywnie spolaryzowane RNA, podzielone, podobnie jak ICV, na 7 segmentów, podczas gdy w szczepach IAV i IBV genom składa się z 8 seg-

mentów. Siedem segmentów genomu nowego wirusa koduje 9 białek wirusowych: glikoproteinę (białko fuzyjne hemaglutynino-esterazę, HE), polimerazy (PB 1, 2 i 3), NP, białka matriks (M1 i CM2) oraz białka niestrukturalne (NS1 i NEP) (5).

Sekwencjonowaniem całego genomu nowego wirusa stwierdzono obecność pojedynczych ramek odczytu (open reading frame, ORF) w większości kontigów, z wyjątkiem dwóch najmniejszych. Kontigi obejmowały 1000-2400 par zasad. Głębokim sekwencjonowaniem RNA stwierdzono ponadto, że ekspresja białka M1 nowego wirusa różni się od ICV (10).

Każdy segment RNA wirusów grypy zawiera regiony niekodujące (noncoding, NC) na końcach 5' i 3', które są wysoce konserwatywne. Sekwencje NC nowego wirusa grypy były bardzo zbliżone do ICV, różniły się jedynie ostatnimi 11 nukleotydami na końcu 5' oraz pierwszymi 12 nukleotydami na końcu 3' (24). Mimo że różnice te nie są duże, mogą one, razem z białkiem HE, odpowiadać za brak reasortacji pomiędzy ludzkimi szczepami ICV i nowym wirusem (9, 24). Z drugiej strony, dowodzi to, że nowy wirus grypy wywodzi się od wspólnego przodka z ICV.

Analiza transkryptomu po sekwencjonowaniu nowej generacji wykazała obecność delekcji: w regionach środkowych genów PB 1-3 (segmenty subgenomowe miały wielkość 300-700 nukleotydów, odpowiada to wielkości cząstek związanych z defektywnym interferującym RNA w replikujących wirusach grypy, włącznie z ICV); w genie NP, a także obecność intronów w genach M i NS (21).

Wykonano również badania nad możliwością reasortacji genów *in vitro* pomiędzy ludzkimi szczepami ICV i szczepami nowego wirusa grypy pochodzącymi od świń oraz bydła. Okazało się, że zjawisko reasortacji nie zachodzi, nie powstają żywe szczepy potomne, zdolne do zakażenia komórki, co prawdopodobnie jest związane z różnicami w NC oraz HE, o czym wspomniano powyżej (9).

Ewolucja

W badaniach nad ewolucją wirusów grypy stopień pokrewieństwa pomiędzy szczepami określa się na podstawie analizy sekwencji najbardziej konserwatywnego genu, jakim jest PB1. Pokrewieństwo sekwencji w obrębie genu PB1 pomiędzy nowym szczepem a ICV wynosiło 69-72%, natomiast pomiędzy nowym szczepem a IAV i IBV 39-41%. Warto nadmienić, że stopień pokrewieństwa pomiędzy IAV i IBV wynosi 61%. Stopień pokrewieństwa pomiędzy nowym wirusem a ICV, wyliczony na podstawie analizy sekwencji innych genów wynosił, odpowiednio: 53% dla PB2 i HE (stopień pokrewieństwa HA pomiędzy podtypami IAV wynosi 49%, a pomiędzy IAV i IBV wynosi 29-33%); 50% dla PB3; 38-41% dla NP; 38% dla M oraz 29-33% dla NS1 (pokrewieństwo pomiędzy IAV i IBV dla NS1 wynosi 22%) (10). Sheng i wsp. (23) oszacowali, że zmiany genetyczne pomiędzy ICV

i nowym wirusem grypy zaszły w czasie od 334 lat (dla genu PB1) do 1299 lat (dla genu HE).

Na podkreślenie zasługuje fakt, że analiza filogenetyczna oparta o sekwencję genu kodującego białko fuzyjne HE wykazała obecność dwóch odrębnych linii filogenetycznych (kłádów) IDV: jednej, reprezentowanej przez szczep wyizolowany od bydła: D/bovine/Oklahoma/660/2013 (D/660) oraz drugiej, reprezentowanej przez wspomniany powyżej szczep prototypowy IDV wyizolowany od świń D/OK (3).

Właściwości antygenowe

W badaniach właściwości antygenowych nowego wirusa grypy stwierdzono brak reakcji krzyżowych w testach zahamowania hemaglutynacji (haemagglutination inhibition assay, HI) oraz immunodyfuzji w żelu (agar gel immunodiffusion, AGID) pomiędzy ICV i nowym wirusem. Wskazuje to na występowanie różnic w białkach konserwatywnych M1 i NP pomiędzy tymi dwoma wirusami. Homologia pomiędzy nimi jest szacowana na 40% (homologia pomiędzy białkami NP i M1 w szczepach IAV i IBV wynosi 30-40%, a w szczepach IAV/IBV i ICV wynosi 10-20%) (10).

Powinowactwo do receptorów komórkowych

Dalsze badania wykazały, że nowy wirus różni się także od ICV powinowactwem do receptorów komórkowych, mimo iż domeny funkcjonalne w wirusowym RNA oraz mechanizm replikacji i wnikania do komórki są podobne. Analiza strukturalna obydwu wirusów wykazała, że, analogicznie jak w przypadku ICV, triada katalityczna HE nowego wirusa grypy obejmuje S57, D356 i H359 (24). Białko to katalizuje zarówno wiązanie się wirusa z receptorem komórkowym, niszczenie receptorów z udziałem acetyloesterazy, jak i aktywność fuzyjną błony komórkowej. W tym miejscu warto zaznaczyć, że w procesie wiązania się IAV/IBV z receptorem komórkowym biorą udział dwie glikoproteiny powierzchniowe otoczki wirusa – HA i NA. Hemaglutynina łączy się z sialooligosacharydami w receptorach komórkowych i decyduje o fuzji wirusa z błoną komórkową, natomiast NA niszczy receptory przez rozszczepienie kwasu sialowego, umożliwiając tym samym uwolnienie się potomnych cząstek wirusa z komórki, a także inicjuje inwazję kolejnych komórek przez uszkodzenie mucyny połączonej z kwasem sialowym. Stwierdzono, że HE ICV i nowego wirusa posiada konserwatywne, ale odmienne miejsce wiązania z receptorem komórkowym (24). Obydwa wirusy wykazują powinowactwo do sialooligosacharydów połączonych zarówno wiązaniem 2,3α, jak i 2,6α między kwasem *N*-acetylneuraminowym a galaktozą i rozpoznają receptory zakończone podstawnikami NeuAc i NeuGc (24).

Białko HE składa się z 2 podjednostek HE1 i HE2 oraz posiada 3 główne domeny. Pierwszą z nich jest domena wiązania się z receptorem (stopień pokrewieństwa pomiędzy nowym wirusem i ICV wynosi 46,3%).

Drugą domeną jest domena aktywności esterazy; ta domena jest najbardziej konserwatywna, w niej znajduje się enzym uszkadzający receptory (receptor destroying enzyme, RDE). W jej obrębie można wyróżnić subdomeny E1, E2 i E3 (stopień pokrewieństwa pomiędzy E1-E3 nowego wirusa i ICV wynosi, odpowiednio: 66,7; 68,8 oraz 56,6%). Trzecią domeną jest domena fuzyjna, w obrębie której także można wyróżnić 3 subdomeny F1, F2 i F3 (stopień pokrewieństwa pomiędzy F1-F3 nowego wirusa i ICV wynosi, odpowiednio, 42,1; 41,1 i 56,8%) (24).

Badania Shenga i wsp. (23) uwiaryściły również różnice sekwencji w domenach funkcjonalnych P3 lub PA i PB2 oraz w 3-aminokwasowym ogonie cytoplazmatycznym białka HE. Wyjaśnienie ich znaczenia dla właściwości biologicznych ocenianych wirusów wymaga dalszych badań.

Aby odkryć podstawy strukturalne zróżnicowanego tropizmu komórkowego, Hause i wsp. (10) wykonali model przestrzenny białka HE nowego wirusa oraz jego receptora, w oparciu o strukturę krystalograficzną białka HE ludzkiego ICV. Pozwoliło to na odkrycie różnic w procesie rozpoznawania receptorów przez HE obydwu wirusów. Zidentyfikowano konserwatywne miejsca aktywności enzymatycznej w HE obydwu wirusów oraz odkryto, że kieszonki wiązania receptorowego różniły się pomiędzy nimi. W procesie zakażenia nowy wirus grypy wykorzystuje jako komórkowy receptor 9-0-octan kwasu sialowego, natomiast ICV 9-0-octan kwasu neuraminowego. Poza tym białko HE ICV używa 2 kieszonek do rozpoznania receptora, jedna wiąże się z grupą 9-0-octanową, a druga z grupą 5-N-octanową. Wcześniejsze badania dowodzą, że specyficzność i siła wiązania receptorowego HE i HA są zależne od sekwencji aminokwasów w tym regionie, a wszelkie substytucje aminokwasowe mogą rzutować na proces zakażenia (11). W odniesieniu do nowego wirusa grypy kieszonka wiązania z grupą 5-N-octanową jest mniejsza z powodu substytucji aminokwasowej, tj. zamiany leucyny w pozycji 198 na tryptofan w pozycji 201. Posiada ponadto unikalną cechę w postaci otwartego kanału pomiędzy 230-helisa a 270 pętla, dzięki czemu mieści w sobie większe fragmenty cząsteczki glikanu (24). Na jej dnie znajduje się 5 podstawowych aminokwasów: F127, W185, Y231, F229 i F297. Ta cecha strukturalna determinuje szersze spektrum komórkowe nowego wirusa grypy. Uważa się, że ta zmiana ma największe znaczenie. Sugeruje ona, że obydwa wirusy używają odmiennych substratów. Nie można także wykluczyć, że te różnice sekwencji w domenie odpowiedzialnej za fuzję odpowiadają za replikację obydwu wirusów w różnych temperaturach (23). Potwierdzenie tej hipotezy wymaga dalszych badań.

Z analizy krystalograficznej wynika również, że podobnie jak w przypadku białka HE ICV, miejsce wiązania receptorowego nowego wirusa grypy znajduje się prawdopodobnie na górnej powierzchni domeny F1 HE i jest otoczone przez 4 struktury drugorzędowe

składające się, odpowiednio, z 170 pętli, 190 pętli, 230 helis i 270 pętli (24). Ponadto w czasie interakcji z grupą 9-0-octanową ICV wykorzystuje m.in. aminokwasy: tyrozynę w pozycjach 141 i 241, fenyloalaninę w pozycji 239 oraz argininę w pozycjach 250 i 302, natomiast nowy wirus grypy wykorzystuje wprawdzie 4 analogiczne spośród 9 aminokwasów wykorzystywanych przez ICV w miejscu wiązania receptorowego, ale w pozycji 141 znajduje się fenyloalanina zamiast tyrozyny, a w pozycji 250 tyrozyna zamiast argininy. Te różnice aminokwasowe mogą determinować specyficzność i siłę wiązania HE do receptora komórkowego oraz rzutować na różnice w tropizmie komórkowym obydwu wirusów.

Podsumowując wyniki przedstawionych powyżej badań można jednoznacznie stwierdzić, że nowy wirus grypy jest najbardziej zbliżony do ludzkich ICV (10). Na tej podstawie nazwano go pierwotnie C/Oklahoma/1334/2011. Po wykryciu wielu opisanych powyżej różnic pomiędzy ICV a nowym szczepem, przemianowano go na D/swine/Oklahoma/1334/2011 (D/OK).

W związku z izolacją i wielokierunkową charakterystyką nowego szczepu wirusa grypy zaproponowano Międzynarodowemu Komitetowi do Spraw Nomenklatury Wirusów wyodrębnienie nowego typu wirusa grypy – typu D (*Influenza D virus*, IDV).

Dane na temat epidemiologii zakażenia IDV są na razie fragmentaryczne, ich poznanie wymaga dalszych badań.

Nie ulega wątpliwości, że odkrycie nowego wirusa grypy stanowi ważny krok w badaniach nad grypą, w tym w ekologii tej choroby.

Piśmiennictwo

- Antón A., Marcos M. A., Codoner F. M., de Molina P., Martínez A., Cardenosa N., Godoy P., Torner N., Martínez M. J., Ramón S., Tudó G., Isanta R., Gonzalo V., Jiménez de Anta M. T., Pumarola T.: Influenza C virus surveillance during the first influenza A(H1N1)2009 pandemic wave in Catalonia, Spain. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011, 69, 419-427.
- Bodewes R., Morick D., de Mutsert G., Osinga N., Bestebroer T., van der Vliet S., Smits S. L., Kuiken T., Rimmelzwaan G. F., Fouchier R. A. M., Osterhaus A. D. M. E.: Recurring influenza B virus infections in seals. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, 19, 511-512.
- Collin E. A., Sheng Z., Lang Y., Ma W., Hause B. M., Li F.: Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *J. Virol.* 2015, 89, 1036-1042.
- Crawford P. C., Dubovi E. J., Castleman W. L., Stephenson I., Gibbs E. P. J., Chen L., Smith C., Hill R. C., Ferro P., Pompey J., Bright R. A., Medina M. J., Jonson C. M., Olsen C. W., Cox N. J., Klimov A. I., Katz J. M., Donnis R. O.: Transmission of equine influenza virus to dog. *Science* 2005, 310, 482-485.
- Ferguson L., Eckard L., Epperson W. B., Long L. P., Smith D., Huston C., Genova S., Webby R., Wan X. F.: Influenza D virus infection in Mississippi beef cattle. *Virol.* 2015, 486, 28-34.
- Forrest H. L., Webster R. G.: Perspectives on influenza evolution and the role of research. *Anim. Health Res. Rev.* 2010, 11, 3-18.
- Gatherer D.: Tempo and mode in the molecular evolution of Influenza C. *PLOS Currents Influenza*. 2010, 7, doi: 10.1371/currents.RRN1199.
- Guo Y., Jin F., Wang P., Wang M., Zhu J.: Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. *J. Gen. Virol.* 1983, 64, 177-182.
- Hause B. M., Collin E. A., Liu R., Huang B., Sheng Z., Lu W., Wang D., Nelson E. A., Li F.: Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine: proposal for a new genus in the Orthomyxoviridae family. *mBio*. 2014, 5, 1-10.
- Hause B. M., Ducatez M., Collin E. A., Ran Z., Liu R., Sheng Z., Arminen A., Kaplan B., Chakravarty S., Hoppe A. D., Webby R. J., Simonson R. R., Li F.: Isolation of a novel swine influenza virus from Oklahoma in 2011 which is distantly related to human influenza C viruses. *PLOS Pathogens* 2013, 9, 1-11.
- Hensley S. E., Das S. R., Bailey A. L., Schmidt L. M., Hickman H. D., Jayaraman A., Viswanathan K., Raman R., Sasisekharan R., Bennink J. R., Yewdell J. W.: Hemagglutinin receptor binding avidity drives influenza A virus antigenic drift. *Science* 2009, 326, 734-736.
- Keawcharoen J., Oraveerakul K., Kuiken T., Fouchier R. A. M., Amonsin A., Payungporn S., Noppornpanth S., Wattanadorn S., Theamboonlers A., Tantilertcharoen R., Pattanarangsarn R., Arya N., Ratanakorn P., Osterhaus A. D. M. E., Poovorawan Y.: Avian Influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg. Infect. Dis.* 2004, 10, 2189-2191.
- Kimura H., Abiko C., Peng G., Muraki Y., Sugawara K., Hongo S., Kitame F., Mizuta K., Numazaki Y., Suzuki H., Nakamura K.: Interspecies transmission of influenza C virus between humans and pigs. *Virus Res.* 1997, 48, 71-79.
- Manuguerra J. C., Hannoun C.: Natural infection of dogs by influenza C virus. *Res. Virol.* 1992, 143, 199-204.
- Matsuzaki Y., Abiko C., Mizuta K., Sugawara K., Takashita E., Muraki Y., Suzuki H., Mikawa M., Shimada S., Sato K., Kuzuya M., Takao S., Wakatsuki K., Itagaki T., Hongo S., Nishimura H.: A nationwide epidemic of influenza C virus infection in Japan in 2004. *J. Clin. Microbiol.* 2007, 45, 783-788.
- Mänz B., Schwemmle M., Brunotte L.: Adaptation of avian influenza A virus polymerase in mammals to overcome the host species barrier. *J. Virol.* 2013, 87, 7200-7209.
- Muraki Y., Hongo S., Sugawara K., Kitame F., Nakamura K.: Evolution of the haemagglutinin-esterase gene of influenza C virus. *J. Gen. Virol.* 1996, 77, 673-679.
- Palese P., Shaw M. L.: Orthomyxoviridae: the viruses and their replication, [w:] Lippincott W. & Wilkins (red.): *Fields virology*. Philadelphia, USA 2007, s. 1647-1689.
- Parrish C. R., Murcia P. R., Holmes E. C.: Influenza virus reservoirs and intermediate hosts: dogs, horses, and new possibilities for influenza virus exposure of humans. *J. Virol.* 2015, 89, 2990-2994.
- Reperant L. A., Rimmelzwaan G. F., Kuiken T.: Avian influenza viruses in mammals. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2009, 28, 137-159.
- Saira K., Lin X., DePasse J. V., Halpin R., Twaddle A., Stockwell T., Angus B., Cozzi-Lepri A., Delfino M., Dugan V., Dwyer D. E., Freiberg M., Horban A., Lasso M., Lynfield R., Wentworth D. N., Holmes E. C., Davey R., Wentworth D. E., Ghedin E.: INSIGHT FLU002 Study Group, INSIGHT FLU003 Study Group.: Sequence analysis of in vivo defective interfering-like RNA of influenza A H1N1 pandemic virus. *J. Virol.* 2013, 87, 8064-8074.
- Sandt C. E. van de, Bodewes R., Rimmelzwaan G. F., de Vries R. D.: Influenza B viruses: not to be discounted. *Future Microbiol.* 2015, 10, 1447-1465.
- Sheng Z., Ran Z., Wang D., Hoppe A. D., Simonson R., Chakravarty S., Hause B. M., Li F.: Genomic and evolutionary characterization of a novel influenza-C-like virus from swine. *Arch. Virol.* 2014, 159, 249-255.
- Song H., Qi J., Khedri Z., Diaz S., Yu H., Chen X., Varki A., Shi Y., Gao G. F.: An open receptor-binding cavity of hemagglutinin-esterase-fusion glycoprotein from newly-identified influenza D virus: basis for its broad cell tropism. *PLOS Pathog.* 2016, 12, 1-24.
- Songserm T., Amonsin A., Jam-On R., Sae-Heng N., Meemak N., Pariyothorn N., Payungporn S., Theamboonlers A., Poovorawan Y.: Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, 12, 681-683.
- Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L. M., Johnsons A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P. J., Gilbert A. T., Chang J., Guo Z., Davis C. T., Paulson J. C., Stevens J., Rupprecht C. E., Holmes E. C., Wilson I. A., Donis R. O.: New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PloS Pathog.* 2013, 9, 1-12.
- Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawaoka Y.: Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 1992, 56, 152-179.
- Yuanji G., Desselberger U.: Genome analysis of influenza C viruses isolated in 1981/82 from pigs in China. *J. Gen. Virol.* 1984, 65, 1857-1872.
- Yuanji G., Fengen J., Ping W., Min W., Jiming Z.: Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. *J. Gen. Virol.* 1983, 64, 177-182.

Adres autora: prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa; e-mail: iwona_markowska_daniel@sggw.pl