

# Grypa psów – nowa, niebezpieczna choroba zakaźna?

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Nadal brak racjonalnych sposobów przewidywania miejsca i czasu, kiedy pojawią się nowe patogeny odpowiedzialne za masowe choroby ludzi i zwierząt. Najlepiej świadczy o tym fakt, że w ostatnim stuleciu nie udało się przewidzieć u bydła gąbczastej encefalopatii i choroby Schmallerberg, pandemii grypy „hiszpanki” u ludzi, a w naszym stuleciu zespołu ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej – SARS (2002–2003 r.), ptasiej grypy (2004–2008 r.), epidemii Ebola (2014–2016 r.), wirusa Zika (2016 r.), gorączki krwotocznej Lassa w Nigerii (2018 r.) czy zjadliwego koronawirusa (2019–nCoV), który zaatakował po raz pierwszy w Wuhan w Chinach pod koniec 2019 r., szerzy się bardzo szybko i w drugiej połowie 2020 r. stwierdzono go w 189 krajach.

Można jednak, na podstawie analizy istniejących danych epidemiologicznych, oceny rozwoju społeczeństw i gospodarki, tendencji do zmian klimatycznych i ekologicznych, w dużym stopniu przewidzieć, które z istniejących chorób mogą dominować wśród ludzi i zwierząt w XXI w. oraz która grupa patogenów może odpowiadać za pojawienie się nowo zagrażających chorób. Dotyczy to szczególnie chorób wirusowych, ponieważ wirusy cechują się dużą zmiennością, właściwościami przekraczania granic międzygatunkowych i adaptacją do nowych gatunków gospodarzy i często dużą zaraźliwością. Zmienność wirusa grypy jest jego cechą najbardziej charakterystyczną, która go wyróżnia spośród wszystkich znanych wirusów. Zmiany dotyczące składowych wirionu zależą przy tym też od struktury komórek gospodarza, w których namnaża się wirus, ale też od odpowiedzi immunologicznej organizmu na zakażenie (1). Następnym reasortacji genów są nowe genetycznie i antygenowo podtypy wirusów grypy (2, 3). Grypa psów (canine influenza, dog flu) jest drugą obok zakażenia Boka parwowirusem mięsożernych, nowo zagrażającą chorobą psów (4).

## Struktura wirusa grypy

Grypę wywołują wirusy z rodziny *Orthomyxoviridae*, rodzaju *Influenzavirus*. Na podstawie różnic w strukturze nukleoproteiny (NP) i białka rdzenia (M) wyróżnia się typy A, B, C i D wirusa grypy. Wirus grypy typu A wywołuje zakażenia u ludzi, koni, świń, norrek, fok, wielorybów, ptaków (3), psów oraz kotów (5, 6, 7). Może być przyczyną epidemii i pandemii (3). Typ D wirusa występuje u świń i bydła w USA i u bydła we Francji (8). Wirion wirusa grypy typu A, kulisty (50–120 nm) lub w formie wydłużonej (około 1000 nm) zawiera w nukleokapsydzie lipidowo-białkowym jednopasmowy liniowy RNA o polaryzacji ujemnej (–ss RNA) podzielony na osiem segmentów. Genom koduje białka PA, PB1 i PB2 – należące do kompleksu

## Canine influenza – an emerging, threatening disease?

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Here, an emerging, threatening disease, influenza in dogs, is presented. Like other mammalian influenza viruses, canine influenza virus (CIV), causes an acute respiratory infection. There is no season for this disease and infections can occur any time of the year. Dogs have acquired two influenza viruses since 1999. Canine influenza H3N8 virus is thought to develop from an equine H3N8 strain, whereas canine H3N2 influenza virus most likely arose through the direct transfer of an avian influenza virus from birds. The H3N8 CIV has only been reported in dogs, whereas the H3N2 CIV has caused clinical cases in dogs and cats in Asia, and antibodies to this virus have been found in both species. Almost all dogs exposed to canine influenza virus become infected, with approximately 80% developing clinical signs of disease. Some dogs have asymptomatic infections, while some have severe illness, however death cases due to CIV infection are rare. Fatal H3N8 cases in racing greyhounds were often characterized by hemorrhages in the lungs, mediastinum and pleural cavity. Severe hemorrhagic, cranio-ventral broncho-interstitial pneumonia was reported in most fatal cases of canine H3N2 influenza in naturally infected dogs from Asia. Experimentally infected dogs also had signs of pneumonia with multifocal to coalescing reddish consolidation, edema and hemorrhages in the lungs. No lesions were found outside the respiratory tract. The majority of infected dogs have the mild form of canine influenza. The approximately 20% of infected animals that do not exhibit clinical signs of disease can still shed the virus. The diagnosis is performed by serological methods, with hemagglutination inhibition (HI) as the test of choice, and by molecular methods as RT-PCR. Treatment is supportive, and often includes antibiotics to control secondary bacterial infections. Vaccines for canine influenza are available in some areas. Infection control measures include isolation of infected animals, cleaning and disinfection of cages, bowls and other fomites, and hygiene measures.

**Keywords:** influenza, dog, H3N2 CIV, H3N8 CIV, clinical signs, lesions, control.

polimerazy RNA, białko nukleokapsydu NP, glikoproteiny NA i HA, a także białko osłonki błonowej M1 i jej elementy integralne, tj. M2. W osłonce lipidowej otaczającej białko M są zakotwiczone silnie immunogenne glikoproteiny: HA i NA. Wirus typu A wykazuje dużą zmienność antygenową i na podstawie różnic w antygenach powierzchniowych wyodrębnia się 11 podtypów warunkowanych neuraminidazą (N1–N11) i 18 podtypów warunkowanych hemaglutyniną (H1–H18; 3, 9). W oparciu o genomikę wyróżnia się kłady i subklady wirusa grypy (10).

## Epidemiologia grypy psów

Przez długi czas przeważał pogląd, że psy nie zakażają się wirusem grypy (11). Na początku XXI w. okazało się, że grypę psów wywołują dwa reasortanty wirusa grypy A: podtyp H3N8 CIV (canine influenza

virus) i H3N2 CIV. Podtyp H3N8 CIV stwierdzono po raz pierwszy u psów w USA. Cechuje się on ścisłym pokrewieństwem, bo wykazuje 96–98% homologii nukleotydów genu HA z wirusem, który był przyczyną grypy u koni A H3N8 (12). H3N8 CIV jest mutantem tego wirusa, który przekroczył granicę koń→pies i zaadaptował się do psa w latach 1999–2000 (13). U chartów na torach wyścigowych wystąpiły przypadki choroby cechujące się gwałtownym wystąpieniem gorączki, kaszlem, przyspieszeniem oddechów i krwistym wyciekami z nozdrzy. Przy 100% zachorowalności śmiertelność nie przekraczała 5% i była spowodowana krwotocznym odoskrzelowo-śródmiażdżowym zapaleniem płuc (14). Za powszechnością zakażeń wirusem H3N8 CIV przemawiają badania w USA 5160 psów ze schronisk testem zahamowania hemaglutynacji i RT-PCR przeprowadzone w okresie od grudnia 2009 do stycznia 2012 r. Wyniki dodatnie uzyskano u 4,4% psów z Nowego Jorku, 4,7% z Kolorado, 3,2% z Południowej Karoliny i 1,2% z Florydy. Seroreagentów nie stwierdzono u psów ze schronisk w Kalifornii i Teksasie (15). W USA w 2005 r. odsetek surowic reaktywnych w teście IHA dla H3N8 CIV wyniósł 49%, w 2004 r. 44% w 2006 r. 53% a w 2007 r. 62%, spadł w 2008 r. do 38% i do 15% w 2009 r. Zależał on zarówno od regionu USA, jak i od tego, czy badano psy przebywające w domach, czy ze schronisk (16).

W odróżnieniu od pochodzącego podtypu H3N8 CIV od koni podtyp wirusa grypy H3N2 CIV pochodzi od ptaków. W Korei Południowej w 2007 r. zidentyfikowano trzy szczepy wirusa grypy psów należące do podtypu H3N2 CIV (A/canine/Korea/01/2007, A/canine/Korea/02/2007, and A/canine/Korea/03/2007) pochodzące od psów z chorych wśród objawów ciężkiego zapalenia układu oddechowego bardzo podobne pod względem genetycznym do wirusa H3N2 ptaków (17). U psów rasy beagle zakażonych doświadczalnie przez H3N2 CIV rozwinęło się ciężkie martwicowe zapalenie tchawicy, oskrzeli i pęcherzyków płucnych, któremu towarzyszył wyciek z nozdrzy, wysoka gorączka i serokonwersja. Obecność w nabłonku tchawicy, oskrzelach i płucach receptora SAalpha 2,3-gal dla wirusa grypy ptasiej świadczy za bezpośrednim przeniesieniem wirusa grypy ptasiej H3N2 na psy oraz na adaptację i szerzenie się wirusa H3N3 CIV wśród psów. Przeskok miał najprawdopodobniej miejsce w 2005 r. (18). Źródłem zakażenia psów były najprawdopodobniej narządy wewnętrzne i głowy kaczek i gęsi, niepoddane obróbce termicznej, często wykorzystywane w Korei Południowej jako karma dla psów. Szczepy H3N2 CIV wyosobnione od psów w Korei Południowej zawierają fragment genomu kwaśnej polimerazy (PA) pandemicznego wirusa grypy ptaków (H9N2) i dlatego pies może odgrywać istotną rolę jako rezerwuar tego wirusa, z którego może zakazić się człowiek i inne gatunki psowatych (19). Następnie wirus spowodował zachorowania u psów w Chinach i Tajlandii i w 2015 r. zaczęły chorować psy i koty w USA (13). Wyróżniono trzy kłady tego wirusa: Chiny, Korea i USA (20). Tak jak H3N8 CIV jest chorobotwórczy wyłącznie dla psów (21) to H3N2 jest chorobotwórczy dla psów i kotów i u obydwu gatunków wywołuje serokonwersję (22).

## Źródło zakażenia i transmisja choroby

Zakażenie wirusami grypy psów szerzy się drogą kropelkową i aerozolową podczas kaszlu i kichania, kontaktów bezpośrednich z chorymi osobnikami oraz ze środowiska zanieczyszczonego wydzieliną dróg oddechowych zawierającą wirus (21). Wirusy grypy psów nie są wydalane z kałem (23). Szerzeniu się zakażenia sprzyja przebywanie psów w pomieszczeniach zamkniętych (schroniska, hodowle; 24). Przeżywalność wirusów grypy w środowisku nie przekracza 24–48 godzin. Niska temperatura i brak nasłonecznienia przedłuża przeżywalność w środowisku. H3N8 CIV występuje w wydzielinie dróg oddechowych psów chorych i psów zakażonych bezobjawowo przy czym u około 20–25% psów zakażenie przebiega bezobjawowo. W przypadku H3N8 CIV siewstwo wirusa utrzymuje się przez 10 dni, w zakażeniu H3N2 CIV trwa przez 26 dni po zakażeniu (25).

Okres inkubacji choroby waha się od 1 do 5 dni, najczęściej jednak wynosi 2–3 dni, a przeciwciała przeciwko białku wirusowemu H3 pojawiają się po około 7 dniach po zakażeniu (26). W zakażeniu H3N2 CIV gorączka występuje po 1–3 dniach, a zaburzenia oddechowe po 2–8 dniach. Przy wysokiej zachorowalności, wynoszącej w przypadku H3N8 do 80%, śmiertelność jest bardzo niska i nie przekracza 1% (14, 27).

## Objawy kliniczne

Choroba nie ma charakteru sezonowego. W większości przypadków wyróżnia się dwie jej kliniczne postaci: łagodną najczęściej spowodowaną przez H3N8 CIV i ciężką cechującą się śmiertelnością, wywołaną często zakażeniem H3N2 CIV (27, 28). W postaci łagodnej choroby występuje niewielkiego stopnia wzrost temperatury ciała poprzedzający kichanie i suchy kaszel, w powikłaniach bakteryjnych kaszel może być wilgotny, utrzymujący się od 10 do 30 dni oraz śluzowo-ropny wyciek z nozdrzy barwy zielonej, zaczerwienienie spojówek, trudności w oddychaniu i utrata apetytu. W większości przypadków po 2–3 tygodniach następuje wyzdrowienie (6). U części psów występuje tylko stan podgorączkowy, zaś o przebytych zakażeniu świadczy serokonwersja (24). Zakażenie H3N8 CIV może, chociaż rzadko, cechować się wysoką gorączką oraz objawami klinicznymi typowymi dla zapalenia płuc lub odoskrzelowego zapalenia płuc. W tych przypadkach zwykle do zakażenia wirusowego dołączają się zakażenia bakteryjne lub mykoplazmowe, i to one przyczyniają się do ciężkiego przebiegu choroby. U części chartów zakażonych choroba miała przebieg nadostrej, któremu towarzyszyła wybroczynowość w układzie oddechowym (14).

W przebiegu ciężkiej choroby występuje wysoka gorączka (40–41°C), wyciek z nozdrzy, kichanie, kaszel i utrata apetytu (7) oraz objawy krwotocznego odoskrzelowego lub odoskrzelowo-śródmiażdżowego zapalenia płuc spowodowane najczęściej powikłaniem bakteryjnym. Przy braku leczenia śmiertelność w zapaleniu płuc dochodzi nawet do 50% (5, 6). Ciężki

przebieg choroby notowano w Chinach i Korei Południowej (29). Chinach H3N2 był przyczyną ciężkiego martwiczego zapalenia tchawicy i oskrzeli, oskrzelików i pęcherzyków płucnych (30). H3N2 może też wywoływać zakażenia bezobjawowe.

### Zmiany anatomopatologiczne i histopatologiczne

Nasilenie zmian zależy od postaci choroby. W chorobie o ciężkim przebiegu, zwłaszcza w postaci nadostrej, występują intensywne wylewy krwi w płucach, śródpiersiu i do jamy opłucnej. Zwątrobiałe i konsystencji twardej płuca mają barwę ciemnoczerwoną. Niekiedy występują niewielkie ilości złogów włókniaka na opłucnej. Badaniem histopatologicznym stwierdza się typowe zmiany dla zapalenia tchawicy, oskrzeli i oskrzelików oraz ciężkie krwotoczne śródmiąższowe odoskrzelowe zapalenie płuc, zapalenie naczyń krwionośnych z zatorami oraz włóknikowe zapalenie opłucnej o średnim nasileniu (14). Występuje martwica nabłonka dróg oddechowych i naciek neutrofilowy, zgrubienie przegród międzypęcherzykowych w płucach. W zakażeniu H3N2 CIV ciężkie krwotoczne zapalenie oskrzeli i płuc dotyczy zazwyczaj przedniodolnych płatów płuc (31). Obfity naciek neutrofilowy w tchawicy jest efektem nadmiernej produkcji cytokin TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8 przez zakażone komórki nabłonka oskrzeli we wczesnym i makrofagi w późnym okresie zakażenia wirusowego. Neutrofile usuwają obumarłe komórki nabłonków i biorą udział w zwalczaniu wtórnych zakażeń (32). U psów eksperymentalnie zakażonych przez H3N2 CIV występują zmiany zapalne oraz oddzielone lub zlewające się liczne ogniska konsolidacji, obrzęk i wybroczyny w płucach. Brak zmian poza układem oddechowym (33). Antygen H3N2 CIV był obecny wyłącznie w komórkach nabłonka oskrzeli i oskrzelików, czasem w przegrodach i przestrzeniach międzypęcherzykowych (18).

U padłych psów po zakażeniu H3N8 CIV stwierdzano albo obfite wybroczyny w płucach, śródpiersiu i jamie opłucnowej oraz ciężkie zapalenie płuc, czasem też włóknikowe zapalenie opłucnej albo ropne zapalenie płuc. Rzadko występują zmiany wskazujące na zapalenie oskrzeli i oskrzelików, które występowały zazwyczaj w początkowej fazie zakażenia (28). U szczeniąt zakażonych przez H3N8 CIV stwierdza się typowe zmiany dla zapalenia płuc występujące w grypie. W płucach i tchawicy 3 i 6 dnia po zakażeniu miała miejsce replikacja wirusa (34).

### Rozpoznanie

W rozpoznawaniu grypy psów jest wykorzystywany test RT-PCR, mikroseroneutralizacji, cELISA i odczyn zahamowania hemaglutynacji, który jest w wielu krajach testem z wyboru (13). Przeciwciała pojawiają się po 7–10 dniach po zakażeniu, ich miano wzrasta do 14 dnia. Nie zawsze jednak reaktywność surowic długo się utrzymuje. W teście RT-PCR najlepiej użyć wymazy z jamy nosowej. Wirus izoluje się w hodowli komórkowej MDCK lub na zarodkach jaja kurzego.

Zarówno test RT-PCR, jak izolacja dają wyniki pozytywne z próbkami pobranymi we wczesnym okresie choroby (35). Ze względu na istniejące różnice antygenowe pomiędzy H3N2 CIV i H3N8 CIV testy serologiczne wykorzystywane do diagnostyki zakażenia H3N2 są nieprzydatne w diagnostyce zakażeń H3N8 CIV. W Kanadzie opracowano test multiplex PCR do wykrywania wirusów grypy psów (35).

### Leczenie i profilaktyka

Ze względu na brak leczenia przyczynowego stosuje się leczenie objawowe, a w powikłaniach bakterieryjnych antybiotyki o szerokim spektrum działania. W profilaktyce najważniejszą rolę odgrywa bioasekuracja (izolacja chorych, odkażania i oczyszczenie mechaniczne pomieszczeń i klatek, legowisk) i szczepienia profilaktyczne (36). W USA inaktywowana szczepionka dla H3N8 redukowała siewstwo wirusa oraz nasilenie zmian klinicznych w płucach (37). Opracowano szczepionki przeciwko zakażeniu H3N8 CIV (np. Nobivac<sup>®</sup> Canine flu H3N8) i H3N2 oraz przeciw obu wirusom (38). Żywa atenuowana szczepionka (CIV H3N2 LAIV) przeciwko podtypowi H3N2 opracowana metodami inżynierii genetycznej w pełni chroni psy przed zakażeniem zjadliwym wirusem. Do jej produkcji wykorzystano jako dawcę genów żywą atenuowaną szczepionkę dla H3N8 (CIV H3N8 LAIV) i geny HA i NA szczepu H3N2 CIV. Wirus szczepionkowy replikował się dobrze w niskich temperaturach, a słabo w wyższych (39). Wyniki i perspektywy zastosowania strategii „rewersyjnej genetyki” (reverse genetics, odwrotna genetyka) do produkcji szczepionek przeciwko grypie omawiają Blanco-Lobo i wsp. (40). Techniki inżynierii genetycznej umożliwiają modyfikowanie genomu wirusów grypy prowadzące do powstania rekombinantów z ekspresją obcych białek jako wektorów szczepionkowych z reporterami lub genami o ściśle określonych mutacjach, co w efekcie umożliwia atenuację wirusa i jego wykorzystanie w produkcji żywych atenuowanych, bezpiecznych o dużej immunogenności szczepionek. Niektóre z nich już wykorzystano do produkcji szczepionek przeciwko grypie psów (38, 39).

### Piśmiennictwo

1. Wierzbicka-Woś A., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Układ odpornościowy a wirus grypy. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online) 2015, **69**, 214–220.
2. Webster R.G., Bean W.I., Gormon O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y.: Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 1992, **56**, 152–179.
3. Brydak L.B.: *Grypa. Pandemia grypy mit czy realne zagrożenie?* Oficyna Wyd. Rytm, Warszawa 2008.
4. Carmichael L. E., Schlafer D. H., Hashimoto A.: Minute virus of canines (MVC, canine parvovirus type-1): pathogenicity for pups and seroprevalence estimate. *J. Vet. Diagn. Investig.* 1994, **6**, 165–174.
5. Rosenthal M.: Include new virus in the diagnosis of dogs with kennel cough. *Vet. Forum Vet. Learn. Systems* 2007, **24**, 12–14.
6. Payunporn S., Crawford P.C., Kouo T.S., Chen L., Pompey J., Castleman W.L., Dubovi E.J., Katz J.M., Donis R.O.: Influenza A virus (H3N8) in dogs with respiratory disease, Florida. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 902–908.
7. Voorhees I.E.H., Glaser A.L., Toohey-Kurth K., Newbury S., Dalziel B.D., Dubovi E.J., Poulsen K., Leutenegger C., Willgert K.J.E., Brisbane-Cohen L., Richardson-Lopez J., Holmes E.C., Parrish C.R.: Spread



- of canine influenza A (H3N2) virus, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, **23**, 1950–1957.
8. Ducatez M.F., Pelletier C., Meyer G.: Influenza D virus in cattle, France, 2011–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, **21**, 368–371.
  9. Shao W., Li X., Mu GGORaya M.U., Wang S., Chen J.L.: Evolution of influenza virus A by mutation and reassortment. *Int. J. Mol. Sci.* Doi: 10.3390/ijms180811650.
  10. Allen J.D., Ross T.M.: H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation. *Hum. Vaccin Immunother.* 2018, **14**, 1840–1847.
  11. Gibbs E.P., Anderson T.C.: Equine and canine influenza: a review of current events. *Anim. Health Res. Rev.* 2010, **11**, 43–51.
  12. Crawford P.C., Dubovi E.J., Castleman W.L., Stephenson I., Gibbs E.P.J., Chen L.: Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science* 2005, **310**, 482–485.
  13. Center for Food Security Public Health: Canine influenza. *Fact Sheets* 2016, 1–11, www.cfsph.iastate.edu
  14. Yoon K., Cooper V., Schwartz K., Harmon K., Kim W., Janke B., Strohbahn J., Butts D., Troutman J.: Influenza virus infection in racing greyhounds. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, **11**, 1974–1976.
  15. Pecoraro H.L., Bennett S., Huyvaert K.P., Spindel M.E., Landolt G.A.: Epidemiology and ecology of H3N8 canine influenza viruses in US shelter dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**, 311–318.
  16. Anderson T.C., Crawford P.C., Dubovi E.J., Gibbs E.P., Hernandez J.A.: Prevalence of and exposure factors for seropositivity to H3N8 canine influenza virus in dogs with influenza-like illness in the United States. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 2013, **242**, 209–216.
  17. Lee E., Kim E.J., Kim B.H., Song J.Y., Cho I.S., Shin Y.K.: Molecular analyses of H3N2 canine influenza viruses isolated from Korea during 2013–2014. *Virus Genes* 2016, **52**, 204–217.
  18. Song D., Kang B., Lee C., Jung K., Ha G., Kang D., Park S., Park B., Oh J.: Transmission of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 741–746.
  19. Lee I.W.: Comparison of the virulence and transmissibility of canine H3N2 influenza viruses and characterization of their canine adaptation factors. *Emerg. Microbes Infect.* 2018.710.1038/s41426-017-0013-x5841232.
  20. Li G., Wang R., Zhang Z., Wang S., He W., Zhang J., Liu J., Cai Y., Zhou J., Su S.: Genetic and evolutionary analysis of emerging H3N2 canine influenza virus. *Emerg. Microb. Infect.* 2018, **7**, 73. Doi 10.1038/s41426-018-0079-0
  21. Jirjis F.F., Deshpande M.S., Tubbs A.L., Jayappa H., Lakshmanan N., Wasmoen T.L.: Transmission of canine influenza virus (H3N8) among susceptible dogs. *Vet Microbiol.* 2010, **144**, 303–309.
  22. Hai-Xia F., Yuan-Yuan L., Qian-Qian S., Zong-Shuai L., Feng-Xia Z., Yan-Li Z., Shi-Jin J., Zhi-Jing X.: Interspecies transmission of canine influenza virus H5N2 to cats and chickens by close contact with experimentally infected dogs. *Vet. Microbiol.* 2014, **170**, 414–417.
  23. Bean B., Moore B.M., Sterner B., Peterson L.R., Gerding D.N., Balfour H.H. jr.: Survival of influenza viruses on environmental surfaces. *J. Infect. Dis.* 1982, **146**, 47–51.
  24. Barrell E.A., Pecoraro H.L., Torres-Henderson C., Morley P.S., Lunn K.F., Landolt G.A.: Seroprevalence and risk factors for canine influenza virus (H3N8) exposure in household dogs in Colorado. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, **24**, 1524–1527.
  25. Buonavoglia C., Martella V.: Canine respiratory viruses. *Vet. Res.* 2007, **38**, 355–373.
  26. Dubovi E.J.: Canine influenza. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2010, **40**, 1063–1071.
  27. Kang Y.M., Kim H.M., Ku K.B., Park E.H., Yum J., Seo S.H.: H3N2 canine influenza virus causes severe morbidity in dogs with induction of genes related to inflammation and apoptosis. *Vet. Res.* 2013, **44**, 92–97.
  28. Castleman W.L., Powe J.R., Crawford P.C.: Canine H3N8 influenza virus infection in dogs and mice. *Vet. Pathol.* 2010, **47**, 507–517.
  29. Li S., Shi Z., Jiao P., Zhang G., Zhong Z., Tian W., Long L.P., Cai Z., Zhu X., Liao M., Wan X.F.: Avian origin H3N2 canine influenza A viruses in southern China. *Infect. Genet. Evol.* 2010, **10**, 1286–1288.
  30. Song D., Lee C., Kang B., Jung K., Oh T., Kim H., Park B., Oh J.: Experimental infection of dogs with avian origin canine influenza A virus (H3N2). *Emerg. Infect. Dis.* 2009, **15**, 56–58.
  31. Kang B., Lee C., Jung K., Ha G., Kang D., Park S., Park B., Oh J.: Transmission of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 741–746.
  32. Arndt U., Wennemuth G., Barth P., Nain M., Al-Abed Y., Meinhardt A., Gema D., Bacher M.: Release of macrophage migration inhibitory factor and CXCL8/interleukin-8 from lung epithelial cells rendered necrotic by influenza A virus infection. *J. Virol.* 2002, **76**, 9298–9306.
  33. Jung K., Lee C.S., Kang B.K., Park B.K., Oh J.S., Song D.S.: Pathology in dogs with experimental canine H3N2 influenza virus infection. *Res. Vet. Sci.* 2009, **88**, 523–527.
  34. Deshpande M., Abdelmagid O., Tubbs A., Jayappa H., Wasmoen T.: Experimental reproduction of canine influenza virus H3N8 infection in young puppies. *Vet. Ther.* 2009, **10**, 29–39.
  35. Kruth S.A., Carman S., Weese J.S.: Seroprevalence of antibodies to canine influenza virus in dogs in Ontario. *Can. Vet J.* 2008, **49**, 800–802.
  36. Dubovi E.J., Njaa B.L.: Canine influenza. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.* 2008, **38**, 827–835.
  37. Larson L.J., Henningson J., Sharp P., Thiel B., Deshpande M.S., Davis T., Jayappa H., Wasmoen T., Lakshmanan N., Schultz R.D.: Efficacy of the canine influenza virus H3N8 vaccine to decrease severity of clinical disease after cochallenge with canine influenza virus and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011, **18**, 559–564.
  38. Rodriguez L., Nogales A., Murcia P.R., Parrish C.R., Martinez-Sobrido L.: A bivalent live-attenuated vaccine for the control and prevention of HCN8 and H3N2 canine influenza viruses. *Vaccine* 2017, **35**, 4374–4381.
  39. Rodriguez L., Nogales A., Reilly E.C., Topham D.J., Murcia P.R., Parrish C.R., Sobrido L.M.: A live-attenuated influenza vaccine for H3N2 canine influenza virus. *Virology* 2017, **504**, 96–106.
  40. Blanco-Lobo P., Nogales A., Rodriguez L., Martinez-Sobrido L.: Novel approaches for the development of live attenuated influenza vaccines. *Viruses* 2019, **11**, doi: 10.3390/v11020190.