

Występowanie wirusów grypy świń w Polsce

IWONA MARKOWSKA-DANIEL, ANDRZEJ KOWALCZYK

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Markowska-Daniel I., Kowalczyk A.

Prevalence of swine influenza in Poland

Summary

The aim of the study was to determine the prevalence of the swine influenza virus (subtypes H1N1, H1N2 and H3N2) in Poland, among pig and wild boar populations as well as among animal keepers. Antibodies to influenza viruses were detected by the hemagglutination inhibition assay. The titer of hemagglutinins $\geq 1:20$ was estimated as a being a positive result. The monitoring study showed that the influenza virus is not widely spread in Poland. Antibodies specific to subtype H1N1 were detected in 8.2% of pig sera, 0.7% of wild boar sera and in 9.4 % of human sera. A serological survey for the antigenic variant H1N2 demonstrated 4.6%, 2.9% and 14.3% of seropositives among pigs, wild boars and animal keepers. The percentage of positive reactions with SIV human subtype attained a level of 9.4%, 14.3% and 46.9% among pigs, wild boars and humans respectively. It should be stressed that the H1N1 subtype of SIV circulates at a higher frequency among swine in the West of Poland while subtypes H1N1 and H3N2 circulate in equal levels throughout the country in both pig and wild boars populations.

Keywords: swine influenza

Grypa jest zakaźną i zaraźliwą chorobą człowieka oraz wielu gatunków zwierząt i ptaków, wywoływaną przez pneumotropowy wirus, należący do rodziny *Orthomyxoviridae*, rodzaju *Influenzavirus* (7). W ostatnich latach, kiedy potwierdzono jego wyjątkową zdolność adaptacji do różnych gospodarzy i przełamania bariery gatunkowej, grypa stała się obiektem zainteresowań wielu zespołów badawczych na świecie (1, 10, 11, 21).

Materiałem genetycznym wirusa grypy jest jednociowy negatywnie spolaryzowany, segmentowany RNA (7). Wirus posiada otoczkę składającą się z 3 białek transmembranowych. Od wewnątrz znajduje się główne białko strukturalne – białko matrycowe M, którego budowa antygenowa determinuje podział wirusów grypy na typy A, B i C (5). W etiologii choroby największe praktyczne znaczenie mają szczepy należące do typu A. Na zewnątrz otoczki zlokalizowane są wypustki o właściwościach hemaglutyniny (H) oraz neuraminidazy (N) (2). Są one powierzchniowymi antygenami indukującymi powstawanie w zakażonym organizmie swoistych przeciwciał i stanowią podstawę podziału wirusów grypy na podtypy. Dotychczas określono 15 odmiennych antygenowo hemaglutynin (H1-15) oraz 9 neuraminidaz (N1-9) (7).

Przyczyną nagłego wybuchu i ciężkiego przebiegu choroby u trzody chlewnej są szczepy wirusa grypy świń typu A (swine influenza virus – SIV), należące najczęściej do podtypu antygenowego H1N1 (4, 6). W ostatnich latach pojawił się w Europie, a następnie w USA i Japonii nowy reasortant SIV o wzorze antygenowym H1N2, który także jest odpowiedzialny za ostry przebieg infekcji u świń (16). W Anglii i Tajwanie izolowa-

no od świń szczepy podtypu H3N1 i H1N7, w Chinach wirusa grypy ptasiej o wzorze antygenowym H9N2, natomiast w Holandii oraz Wietnamie szczepy ptasie podtypu H5N1. W Kanadzie oraz USA od 1999 r. u świń występuje podtyp H4N6 (11). Uważa się, że szczepy o wzorze antygenowym H3N2 nie mają obecnie większego znaczenia epizootycznego u trzody chlewnej, pomimo że w 1984 r. spowodowały one liczne przypadki grypy niemal w całej Europie (5, 6), a w drugiej połowie lat 90. ubiegłego wieku wywołały masowe zachorowania świń w USA (20). Warto dodać, że krążenie szczepów o danym typie antygenowym ma związek z położeniem geograficznym (5).

Celem opracowania było przedstawienie aktualnych danych na temat rozprzestrzenienia się zakażeń SIV wśród krajowego pogłównia świń.

Materiał i metody

Surowice. Badaniom poddano 7194 surowice uzyskane od świń odchowywanych w fermach trzody chlewnej, w trakcie ich uboju w zakładach mięsnych położonych na terenie całego kraju. Z każdego województwa pobierano materiał z 10-30 chlewni, zależnie od wielkości populacji świń odchowywanych na danym terenie. Ze względu na możliwość bezpośredniego kontaktu świń domowych i dzikich badaniem objęto również populację dzików. Ogółem przebadano 544 próby krwi pobranej z serca dzików bezpośrednio po odstrzale, w obwodach łowieckich zlokalizowanych na terenie 11 województw. Do badań włączono ponadto 362 surowice pozyskane od pracowników obsługujących zwierzęta w wybranych obiektach fermowych, zlokalizowanych na terenie 5 województw. Krew od ludzi oraz świń była pobierana w tym sa-

mym czasie, celem ustalenia, czy wśród zwierząt i ludzi krąży te same szczepy wirusowe. Ogółem badaniem objęto 8100 surowic.

Szczepy wirusowe. Posługiwano się szczepami wirusów grypy typu A o wzorach antygenowych H1N1 (szczep A/Sw/Bel/1/98, o mianie $EID_{50} 10^{7,5}/ml$), H1N2 (szczep A/Sw/Eng/96, o mianie $EID_{50} 10^{6,8}/ml$) oraz H3N2 (szczep A/Sw/Fl/1/98, o mianie $EID_{50} 10^{6,5}/ml$). Miano HA wynosiło 1 : 64 w przypadku szczepu H1N1 oraz 1 : 256 w odniesieniu do pozostałych 2 wirusów. Celem uzyskania jednorodnej puli wirusów do badań serologicznych namrażano je w płynie omoczniovym 10-dniowych zarodków kurzych SPF (Lohmann, Niemcy), zgodnie ze standardową procedurą (23).

Surowice referencyjne. Do kontroli odczynu zahamowania hemaglutynacji wykorzystywano surowice referencyjne, zawierające przeciwciała dla badanych antygenów, o mianie antyhemaglutynin wynoszącym 640 w odniesieniu do szczepu H1N1 oraz 1280 w odniesieniu do szczepów H1N2 i H3N2.

Odczynniki. W celu eliminacji nieswoistych inhibitorów reakcji hemaglutynacji stosowano RDE (receptor destroying enzyme) (Sigma).

Postępowanie. Próbkę surowic przechowywano w temp. $-20^{\circ}C$. Pierwszym etapem postępowania była ich inaktywacja w temp. $56^{\circ}C$ przez 30 min., po czym adsorbowano je z 50% zawiesiną erytrocytów kurzych. Następnie eliminowano nieswoiste inhibitory reakcji hemaglutynacji poprzez 18-godzinną inkubację z RDE, w temp. $37^{\circ}C$. Poziom przeciwciał swoistych dla SIV określano testem zahamowania hemaglutynacji (HI – haemagglutination-inhibition assay) w odmianie mikro, wg standardowej procedury badawczej pt. Europejska sieć nadzoru nad grypą świń (23). Stosowano 4 jednostki hemaglutynacyjne (4U HA) wirusa oraz 0,5% roztwór erytrocytów kurzych. Jako graniczne miano dodatnie przyjmowano miano antyhemaglutynin $\geq 1 : 20$.

Wyniki i omówienie

Przeprowadzone badania przeglądowe w kierunku serokonwersji dla SIV wskazują, że aktualnie rozprzestrzenienie tych zakażeń w populacji trzody chlewnej w Polsce nie jest powszechne. Obecność seroreagentów dla szczepu A/Sw/Bel/1/98 (podtyp H1N1) w populacji świń wykazano w 591 surowicach, co stanowiło 8,2% ogółu badanych prób. Odsetek surowic reagujących swoiście z antygenem H1N2 wynosił w omawianej grupie zwierząt 4,6%, natomiast liczba surowic reagujących ze szczepem A/Sw/Fl/1/98 (o wzorze antygenowym H3N2) kształtowała się na najniższym poziomie i wynosiła 157, co stanowiło 2,2% (tab. 1).

Badania stopnia rozprzestrzenienia się zakażeń wirusami grypy typu A w populacji dzików wykazały obecność przeciwciał swoistych dla szczepu o wzorze antygenowym H1N1 w 4 na 544 badane surowice, co stanowiło 0,7% (tab. 1). Nieco większe było zapowietrzenie populacji dzików nowym wariantem antygenowym o wzorze H1N2 oraz podtypem ludzkim H3N2. Serokonwersję stwierdzono odpowiednio w 16 badanych próbach (2,9%), w odniesieniu do szczepu H1N2 oraz 17 surowicach (3,1%) wobec szczepu H3N2.

Stosunkowo wysoki odsetek seroreagentów w stosunku do wszystkich 3 antygenów obserwowano w próbkach krwi pobranych od pracowników obsługujących

Tab. 1. Występowanie przeciwciał dla wirusów grypy świń w Polsce

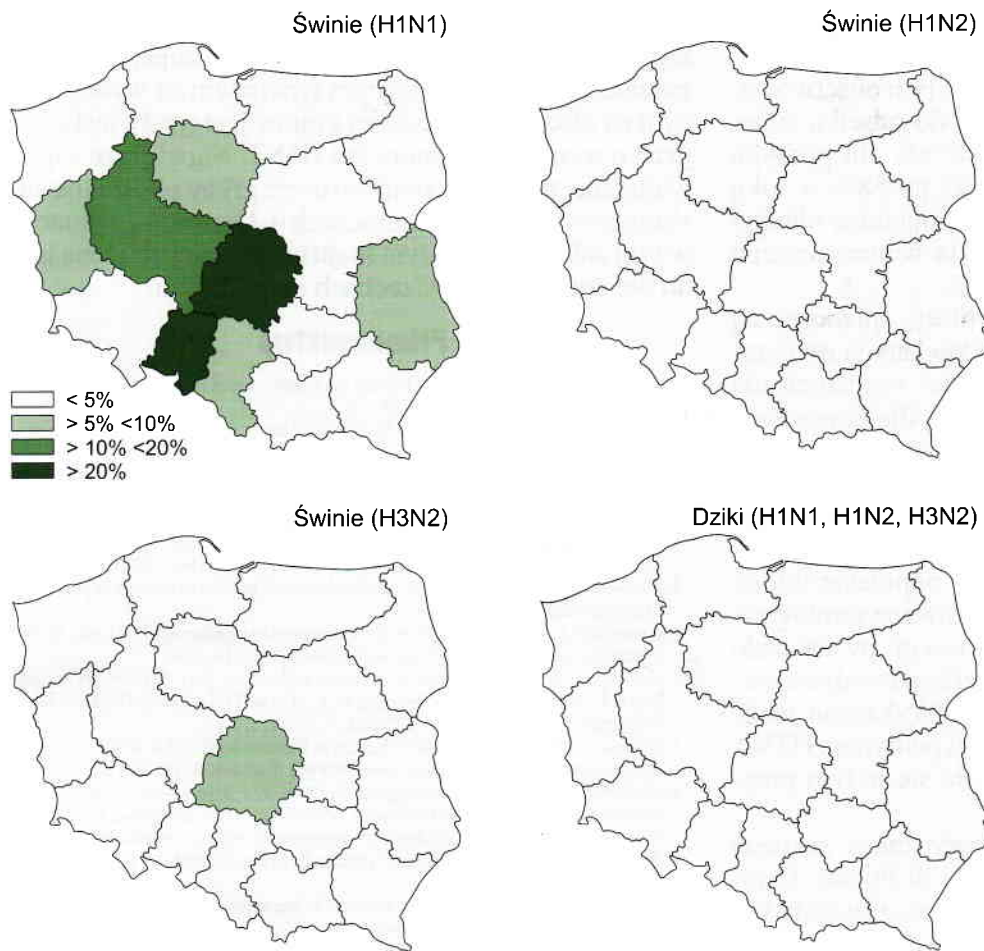
Liczba surowic	Liczba/% surowic dodatnich		
	H1N1	H1N2	H3N2
7194 (świnie)	591/8,2	332/4,6	157/2,2
544 (dziki)	4/0,7	16/2,9	17/3,1
362 (ludzie)	34/9,4	52/14,3	170/46,9

zwierzęta. Kształtował się on na poziomie 9,4% wobec szczepu świńskiego, 14,3% wobec nowego reasortantu wirusa i aż 46,9% wobec ludzkiego szczepu tego wirusa (tab. 1). Otrzymany, zaskakująco wysoki, wskaźnik z pewnością nie jest rezultatem reakcji krzyżowych z antygenami zawartymi w szczepionkach przeciwko grypie, bowiem, jak wynika z wywiadu, nie stosowano ich u personelu objętego badaniem.

W ocenie sytuacji epizootycznej w zakresie grypy świń w kraju interesujący wydaje się fakt, że w regionie Polski zachodniej, w populacji trzody chlewnej, przeważa typ świński SIV – H1N1, podczas gdy szczepy podtypu H1N2 oraz H3N2 rozprzestrzenione są na wyrównanym poziomie na obszarze całego kraju, podobnie jak ma to miejsce w populacji dzików, w odniesieniu do wszystkich badanych antygenów (ryc. 1).

Jak wskazują na to uzyskane wyniki, miano surowic było relatywnie niskie, wobec wszystkich badanych szczepów. Wahało się ono od 1 : 20 do 1 : 160, z tym, że zdecydowanie największy odsetek prób charakteryzował się mianem 1 : 20. Uzyskane dane świadczą o kontakcie świń z wirusami grypy, a nie o czynnej infekcji, występującej u zwierząt w chwili wykonywania badań.

Świnie, obok ptaków, odgrywają niezwykle ważną rolę w międzygatunkowej transmisji wirusów grypy. Badania wielu autorów wykazały, że są one zwierzęcym rezerwuarem podtypów H1N1 i H3N2 SIV i mogą stanowić bezpośrednie źródło zakażenia oraz źródło nowych wariantów antygenowych potencjalnie patogenych dla ludzi (1, 5, 6, 10, 16, 22). W organizmie świń występują jednocześnie dwa rodzaje receptorów: dla ptasiego typu wirusa (NeuAca2,3Gal) oraz dla typu ludzkiego (NeuAca2,6Gal), dzięki czemu mogą one wiązać wymienione antygeny (11). Z tego powodu spełniają one rolę ogniwa pośredniego i stanowią „mikser”, w którym powstają nowe warianty wirusa, niekiedy wysoce patogenne dla ludzi (10, 21). Badania z zakresu genetyki molekularnej, oparte na sekwencjonowaniu genów kodujących nukleoproteinę wirusa typu A i określaniu pokrewieństwa filogenetycznego szczepów, wykazały obecność szczepów „human-avian-like” u świń na kontynencie europejskim, z późniejszą ich izolacją w populacji ludzkiej (5). Z danych historycznych wiadomo, że pandemia grypy ludzkiej w 1918 roku wywołana była wirusem świńskim typu A. Również w latach 1975-1976 w USA miały miejsce masowe zachorowania ludzi na „grypę świńską” (5, 7, 20). Badania Olsena i wsp. (18) wykazały, że w 17 spośród przebadanych 74 gospodarstw odchowujących świnie, farmerzy, ich rodziny lub pracownicy obsługi zwierząt posiadali przeciwciała dla SIV. Wentworth i wsp. (22) stwierdzili za-



Ryc. 1. Rozprzestrzenienie przeciwciał dla wirusów grypy typu A (podtypów H1N1, H1N2 oraz H3N2) w populacji świń i dzików w Polsce

każenia ludzi biorących udział w pobieraniu wymazów z nosa świń doświadczalnie zakażanych wirusem typu H1N1. Campitelli i wsp. (6) na podstawie przeprowadzonych badań uważają, że około 20% osób mających kontakt ze świniami posiada we krwi przeciwciała swoiste dla SIV. Fakty te uzasadniają celowość monitorowania stad trzody chlewnej w celu określenia wariantów antygenowych wirusa krążących aktualnie w tej populacji.

Po raz pierwszy przeglądowe badania nad występowaniem SIV w Polsce przeprowadzili, w latach 1997-1998, Markowska-Daniel i Pejsak (15). Interesująca wydaje się obserwacja, że na przestrzeni ostatnich kilku lat rozprzestrzenienie zakażeń SIV w kraju uległo wyraźnemu obniżeniu. Zjawisko to można tłumaczyć faktem, że w latach 90. wirus grypy występował endemicznie w całej Europie, a serokonwersja kształtowała się na poziomie około 20-25% (5). Z wymienionych powodów prawdopodobnie także w Polsce obserwowano wysoki poziom serokonwersji dla omawianego patogenu. Podczas zwalczania infekcji w wielu krajach zastosowano wówczas szczepienia ochronne szczepionką poliwalentną, co wyraźnie ograniczyło zachorowania i straty. Poprawę sytuacji zdrowotnej w zakresie grypy można wiązać także z wyraźnym polepszeniem warunków odchowu świń i zarządzania produkcją trzody chlewnej w ostatnich latach.

Celowe wydaje się omówienie aktualnej sytuacji epizootycznej w zakresie grypy w Polsce na tle sytuacji obserwowanej w tym zakresie w innych krajach europejskich. Dla przykładu, w Czechach na podstawie analizy wyników badań serologicznych prób krwi świń zgromadzonych w latach 1995-2000, wykazano brak serokonwersji wobec szczepu świńskiego lub ptasięgo o wzorze antygenowym H1N1 oraz niski poziom serokonwersji dla reasortantu antygenowego o podtypie H1N2 (19). Jedynie w odniesieniu do szczepów ludzkich w 50% badanych w 1996 r. chlewni zlokalizowanych na obszarze Moraw, zanotowano znaczny odsetek reakcji dodatnich o wysokim mianie. Wykazano, że u świń obecne były przeciwciała dla szczepu epidemicznego A/Praque625/95, który wywołał liczne zachorowania ludzi w 1995 roku. Z danych przedstawionych przez Pospíšila i Lánego (23) wynika, że aktualnie odsetek zwierząt seropozytywnych w stadach podstawowych Czech wynosi wobec szczepu H1N1

22%, natomiast serokonwersja dla pozostałych typów wirusa grypy jest nieznaczna i osiąga wartość 2,9% dla szczepu H1N2 oraz 0,7% dla szczepu H3N2.

Monitoringowe badania serologiczne, przeprowadzone pomiędzy styczniem 2002 r. a październikiem 2003 r. w 85 fermach trzody chlewnej w Austrii wykazały, że średnio 28% badanych zwierząt posiadało przeciwciała dla podtypu H1N1 SIV, natomiast serokonwersja wobec szczepów H1N2 oraz H3N2 wynosiła odpowiednio 11% oraz 16%. Lang i wsp. (13) prowadzący wspomniane powyżej badania uważają, że dominującym szczepem na terenie Austrii jest szczep H1N1. Podobne rezultaty uzyskali inni badacze, którzy, analizując sytuację zdrowotną w Austrii w zakresie grypy świń, określili poziom serokonwersji dla tego patogenu na około 24,5% (17).

W Niemczech odsetek surowic reagujących z antygenem H1N1 wynosił w latach 2002/2003 64%, odsetek reakcji dodatnich z antygenem H1N2 kształtował się na poziomie 29,3%, natomiast serokonwersja dla szczepu ludzkiego wynosiła 55,7% (23).

Spośród krajów europejskich największy odsetek seroreagentów dla SIV stwierdza się aktualnie na terenie Belgii. Jak podają Labarque i wsp. (12) w 97% chlewni stwierdza się obecność zwierząt seropozytywnych wobec szczepu typu H1N1, w 82% gospodarstw dla szczepu H1N2 oraz w 88% dla podtypu H3N2.

Rozprzestrzenienie się infekcji wirusem grypy w stadach trzody chlewnej w Słowenii badano retrospektywnie w latach 1999-2002 (8). W okresie tym obserwowano tendencję rosnącą w odniesieniu do odsetka zwierząt posiadających swoiste przeciwciała dla podtypu H1N1, z poziomu 27% w roku 1999 do 58% w roku 2002. W kolejnym roku odsetek seroreagentów obniżył się do wartości 33%. Serokonwersja wobec szczepu ludzkiego wynosiła w tym kraju 21%.

Madec i wsp. (23) analizując sytuację epizootyczną w zakresie grypy świń w stadach hodowlanych we Francji stwierdzili, że poziom przeciwciał swoistych dla wirusa grypy świńskiej wynosi 28,9%, dla reasortantu H1N2 – 25,7%, a dla szczepu grypy ludzkiej nie stwierdza się serokonwersji w grupach tuczników.

Podobne badania przeprowadzone zostały przez Browna i wsp. (3) na terenie Wielkiej Brytanii. Zbankowane surowice świń, reprezentujące populację trzody chlewnej Anglii, zostały scharakteryzowane serologicznie z użyciem szeregu szczepów wirusa grypy. Okazało się, że wirus grypy świń krąży w populacji trzody chlewnej w Anglii u około 26% zwierząt. Wykazano także znaczne rozprzestrzenienie się infekcji podtypem H3N2, obecność seroreagentów kształtowała się w tym przypadku na poziomie 39%.

Z kolei w Irlandii sytuacja epizootyczna w zakresie grypy jest zbliżona do obserwowanej w Polsce. Lenihan (23) stwierdził, że w Irlandii dominuje świński typ SIV o wzorze antygenowym H1N1, dla którego wykryto obecność około 17% seroreagentów. Odsetek przeciwciał dla typu H1N2 kształtował się u loch stad podstawowych na poziomie 0,6%, a dla szczepu ludzkiego 4,1%.

Według danych prezentowanych przez Foni (23), znaczne zapowietrzenie populacji loch w stadach podstawowych stwierdza się we Włoszech. Blisko połowa badanych zwierząt wykazywała pozytywny wynik testu HI w odniesieniu do szczepów H1N1 oraz H3N2, jedynie odsetek surowic reagujących dodatnio ze szczepem H1N2 był wyraźnie niższy i wynosił 13,8%.

Przekrojowe badania serologiczne mające na celu ustalenie skali problemu w zakresie grypy świń przeprowadzone zostały przez dwa zespoły badawcze z Hiszpanii. Yus i wsp. (24) przebadali 735 surowic pobranych od świń odchowywanych w 79 tuczarniach w prowincji Segovia. Stwierdzili oni, że odsetek surowic reagujących dodatnio wynosił 78,5% w odniesieniu do szczepu świńskiego oraz 62,5% wobec szczepu ludzkiego. Z kolei Gutierrez-Martin i wsp. (9) skupili swoją uwagę na zwierzętach wykazujących objawy chorobowe ze strony układu oddechowego i poddali je badaniom w kierunku PRRS, choroby Aujeszky'ego, pleuropneumonii oraz grypy. W stawce 198 badanych świń obecność przeciwciał dla wirusa grypy posiadało 30,6% badanych zwierząt.

W przeglądowych badaniach serologicznych przeprowadzonych na terenie Norwegii stwierdzono brak serokonwersji wobec szczepów SIV podtypu H1N1 oraz niski poziom seroreagentów dla typu H3N2 (14).

Podsumowując, można stwierdzić, że sytuacja w zakresie występowania SIV w krajach europejskich jest zróżnicowana. Dominującym typem wirusa występującym na obszarze większości krajów jest typ świński lub ptasi o wzorze antygenowym H1N1. Największe zapowietrzenie populacji świń wirusem grypy obserwuje się aktualnie w Belgii, Niemczech i Hiszpanii; sytuacja w tym zakresie w naszym kraju najbardziej zbliżona jest do obserwowanej w Czechach oraz Irlandii.

Piśmiennictwo

- Alexander D. J., Brown I. H.: Recent zoonoses caused by influenza A viruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000, 19, 197-225.
- Arora D. J. S., N'Diaye M., Dea S.: Genomic study of hemagglutinins of swine influenza (H1N1) viruses associated with acute and chronic respiratory diseases in pigs. *Arch. Virol.* 1997, 142, 401-412.
- Brown I. H., Harris P. A., Alexander D. J.: Serological studies of influenza viruses in pigs in Great Britain 1991-1992. *Epidemiol. Infect.* 1995, 114, 511-520.
- Brown I. H., Ludwig S., Olsen C. W.: Antigenic and genetic analyses of H1N1 influenza A viruses from European pigs. *J. Gen. Virol.* 1997, 78, 553-562.
- Brown I. H.: The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet. Microbiol.* 2000, 74, 29-46.
- Campitelli L., Donatelli I., Foni E.: Continued evolution of H1N1 and H3N2 influenza viruses in pigs in Italy. *Virol.* 1997, 232, 310-318.
- Easterday B. C., Van Reeth K.: Swine influenza, [w:] *Disease of swine*. Straw B. E., D'Allaire S., Mengeling W. L., Taylor D. J. (wyd.), The Iowa State University Press, USA 1999, 277-290.
- Golarin I., Valenčak Z.: Swine influenza in Slovene herds. *Mat. 4th International symposium on emerging and re-emerging pig diseases*, Rzym 2003, s. 274.
- Gutierrez-Martin C. B., Rodriguez-Delgado O., Alvarez-Nistal D., De La Puente-Redondo V. A., Garcia-Rioja F., Martin-Vicente J., Rodriguez Ferri E. F.: Simultaneous serological evidence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, PRRS, Aujeszky's disease and influenza viruses in Spanish finishing pigs. *Res. Vet. Sci.* 2000, 68, 9-13.
- Ito T., Couceiro J. N., Kelm S.: Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J. Virol.* 1998, 72, 7367-7373.
- Karasin A. L., West K., Carman S., Olsen C. W.: Characterization of avian H3N3 and H1N1 influenza A viruses isolated from pigs in Canada. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 4349-4354.
- Labarque G., Vyt P., Van Reeth K., Pensaert M.: Seroprevalence of different swine influenza virus subtypes in swine in Belgium in 2001-2003. *Mat. 18th International Pig Veterinary Society Congress*, Hamburg 2004, 1, s. 84.
- Lang C., Sipos W., Dürrwald R., Herwig V., Schuh M., Schmoll F.: Detection of new swine influenza type A serotypes in Austrian pigs. *Mat. 18th International Pig Veterinary Society Congress*, Hamburg 2004, 1, s. 79.
- Lium B., Hopp P., Tharaldsen J.: Results from the surveillance program for AD, TGE, PRCV, PRRS and swine influenza in the Norwegian pig population. *Mat. 18th International Pig Veterinary Society Congress*, Hamburg 2004, 1, s. 352.
- Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Rozprzestrzenienie zakażeń wirusem grypy w populacji świń i dzików w Polsce. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 302-305.
- Marozin S., Gregory V., Cameron K., Bennett M., Valette M., Aymard M., Foni E., Barigazzi G., Lin Y., Hay A.: Antigenic and genetic diversity among swine influenza A H1N1 and H1N2 viruses in Europe. *J. Gen. Virol.* 2002, 83, 735-745.
- Nowotny N., Mostl K., Maderbacher R., Odorfer G., Schuh M.: Serological studies in Austrian fattening pigs with respiratory disorders. *Acta Vet. Hung.* 1994, 42, 377-379.
- Olsen C. W., Brammer L., Easterday B. C., Arden N., Belay E., Baker I., Cox N. J.: Serological evidence of H1 swine influenza virus infection in swine farm residents and employees. *Emerging Infect. Dis.* 2002, 8, 814-819.
- Pospíšil Z., Lány P., Tůmová B., Buchta J., Zedulková D., Čihal P.: Swine influenza surveillance and the impact of human influenza epidemics on pig herds in the Czech Republic. *Acta Vet. Brno* 2001, 70, 327-332.
- Webby R. J., Swenson S. L., Krauss S. L., Gerrish P. J., Goyal S. M., Webster R. G.: Evolution of swine H3N2 influenza viruses in the United States. *J. Virol.* 2000, 74, 8243-8251.
- Webster R. G., Shortridge K. F., Kawaoka Y.: Influenza: interspecies transmission and emergence of new pandemics. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1997, 18, 275-279.
- Wentworth D. E., McGregor M. W., Macklin M. D., Neumann V., Hinshaw V. S.: Transmission of swine influenza virus to humans after exposure to experimentally infected pigs. *J. Infect. Dis.* 1997, 175, 7-15.
- www.esnip.wur.nl: European surveillance network for influenza in pigs (final report), 2004.
- Yus E., Laviada M. D., Moreno L., Castro J. M., Escibano J. M., Simarro I.: The prevalence of antibodies to influenza virus and respiratory coronavirus in fattening pigs in Spain. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 1989, 36, 551-556.