

MARTA CHROBOCIŃSKA

# Nowe dane nt. zakażeń kaliciwirusami królików i zajęcy

Zakład Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Choroba wirusowa królików, nazywana krwiotoczną bronchopneumonią lub pomorem królików (RHD – Rabbit haemorrhagic disease), jest znana od 1984 r., kiedy to wirus RHD wywołał liczne padnięcia królików importowanych z Niemiec do Chin (59). W chwili obecnej RHD występuje w całej niemal Europie, krajach północnej Afryki, w Meksyku i na Kubie (6–8, 26, 35, 41, 43, 44, 46, 54, 60, 62, 69, 76, 80, 84, 89, 91, 106). W Australii są prowadzone badania nad możliwością wprowadzenia wirusa RHD do populacji królików, jako naturalnego czynnika ograniczającego liczbę tych zwierząt (24). W Polsce choroba po raz pierwszy została stwierdzona w 1988 r. W Państwowym Instytucie Weterynaryjnym opracowano metody jej diagnozowania oraz technologię produkcji szczepionki i zasady swoistej immunoprofilaktyki (32, 41–43, 68).

Choroba wirusowa zajęcy wywoływana przez wirus EBHS (European brown hare syndrome), nazywana syndromem zająca szaraka lub krwiotoczną chorobą zajęcy, pojawiła się w Europie w latach 80. Wysokie straty w populacji zajęcy obserwowano początkowo w krajach skandynawskich (Szwecja, Dania) (38, 39, 48, 50). Obecnie EBHS występuje w większości krajów Europy (28–30, 56, 60, 69, 74, 79, 98, 100, 101). W Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach badania nad zakażeniami zajęcy wirusem EBHS podjęto w 1990 r., a obecność antygeny wirusowego wykryto w 1992 r. (19). Występowanie zakażeń wirusem EBHS u zajęcy w Polsce potwierdziły badania Frolicha wsp. (34).

Obydwa wirusy RHD i EBHS należą do rodziny *Caliciviridae*, chociaż początkowo uważano, że czynnikiem etiologicznym RHD jest parwowirus albo picornawirus (46, 106, 107). Badania z użyciem również technik biologii molekularnej, pozwoliły na określenie ich przynależności do rodziny *Caliciviridae* oraz wykazały ich podobieństwo (9, 16, 36, 70, 76–78, 82, 94, 104). Ostatnio Cappucci i wsp. (14) wykryli niepatogenny wirus i nazwali go króliczym kaliciwirusem (RCV – Rabbit calicivirus). Wirus ten po podaniu królikom nie wywołuje choroby, ale indukuje powstawanie swoistych przeciwciał, reagujących krzyżowo z RHDV. Najwyższe miano antygeny wirusa RCV stwierdzono w jelitach, a nie w wątrobie i śledzionie, jak to ma miejsce w przypadku wirusów RHD i EBHS.

Wirusy RHD, EBHS i RCV są bezotoczkowe o wielkości 30–35 nm. Przy użyciu technik biologii molekularnej określono sekwencje i budowę ich genomu (37, 40, 65, 67, 86). Wiriony są zbudowane z kapsydu o masie cząsteczkowej ok. 60 kD (VP60) oraz jednoniciowego dodatnio spolaryzowanego RNA, o długości ok. 7,5 kb. Genom wirusów jest podobnie zbudowany i różni się od pozostałych kaliciwirusów, przede wszystkim obecnością 2, a nie 3 otwartych ramek odczytu (ORF). Białko kapsydu wirusów jest kodowane przez geny zawarte w ORF1, zlokalizowanej przy końcu 5' genomu, natomiast u pozostałych kalicivirusów, geny te są zawarte w osobnej otwartej ramce odczytu ORF2. Oprócz genów kodujących białko kapsydu, ORF1, zawiera geny kodujące białka niestrukturalne, między innymi RNA-zależną polimerazę RNA. ORF1 zajmuje 7 kb genomu i ma hipotetyczną pojemność kodowania poliproteiny o masie cząsteczkowej 257 kD. ORF2 jest zlokalizowana przy końcu 3' genomu i koduje białko homologiczne do produktu ORF3 pozostałych kalicivirusów (65, 67). Identyfikacja białek strukturalnych i niestrukturalnych pozwoliła na przedstawienie pełnej mapy genomu wirusa RHD oraz na wykazanie podobieństwa między kalicivirusami i picornawirusami (105). Obok genomowego RNA występuje subgenomowy RNA o długości ok. 2,2 kb i zawierający geny VP60 oraz sekwencje ORF2 (4, 66, 83). Dokonano ekspresji białka kapsydu (VP60) wirusa RHD w *E. coli* oraz w systemie bakulowirusowym, po wcześniejszej odwrotnej transkrypcji dla uzyskania cDNA, zarówno z subgenomowego jak i genomowego RNA (5, 92). Wszystkie trzy wirusy RHDV, EBHSV i RCV wykazują identyczną organizację genomu. Białko kapsydu wirusa EBHS różni się od RHDV delecją 4 i insercją jednego aminokwasu. Natomiast w białku kapsydu wirusa RCV występuje delecja 3 aminokwasów (14). Analiza sekwencji nukleotydów i aminokwasów genomów tych wirusów i innych przedstawicieli *Caliciviridae* pozwoliła na określenie motywów konserwatywnych aminokwasów oraz regionów o dużej zmienności. Analiza sekwencji aminokwasów białka kapsydu wirusów RHD (o długości 579 aminokwasów) oraz EBHS i RCV (o długości 576 aminokwasów) wykazała wysoką homologię wszystkich trzech wirusów, między RHDV i RCV wynosi ona 91,5%, między RHDV i EBHSV – 76,4%, zaś między RCV i EBHSV – 75% (14). Natomiast homo-

logia między tymi wirusami i innymi przedstawicielami *Caliciviridae* jest niska i wynosi od kilkunastu do 30% (65, 104). Badania z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych dostarczają informacji dotyczących struktury i właściwości antygenowych kaliciwirusów, które nadal nie są do końca poznane (12).

Pochodzenie obu jednostek chorobowych nie zostało dotychczas wyjaśnione. Pewne informacje o rozprzestrzenianiu się tych chorób daje przeprowadzona przez Nowotnego i wsp. (75) analiza filogenetyczna izolatów wirusa EBHS z Europy oraz wirusa RHD, pochodzących z Chin, Korei, Meksyku oraz z różnych lat z Europy. W niektórych krajach europejskich obie choroby pojawiły się nieomal równocześnie, w drugiej połowie lat 80., lub choroba królików poprzedziła wystąpienie zakażeń wirusem EBHS u zajęcy. EBHS pojawiła się na początku lat 80. w Szwecji u dziko żyjących zajęcy, 10 lat przed wystąpieniem RHD u królików w tym kraju i kilka lat wcześniej od pierwszej epizootii RHD w Chinach (1984 r.) (38). Podobnie w Wielkiej Brytanii zakażenia wirusem EBHS stwierdzono 2 lata wcześniej (w 1990 r.) niż zakażenia wirusem RHD królików (16). Obecność cząstek wirusowych morfologicznie podobnych do kaliciwirusa wykryto w wątrobach zajęcy przechowywanych w Wielkiej Brytanii od 1982 r. w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Dodatkowo badanie surowic zajęcy zbieranych od 1971 r. wykazało obecność przeciwciał dla wirusa EBHS (29, 70). Ponadto badania przeprowadzone w Czechosłowacji wykazały obecność przeciwciał dla wirusa RHD w niskim mianie w surowicach królików pobieranych 12 lat przed wystąpieniem pierwszych ognisk RHD w Europie (87, 95). Podobnie w Wielkiej Brytanii, Austrii i Szwajcarii stwierdzono obecność przeciwciał w surowicach królików przy braku epizootii RHD (18, 70). Sugerowano możliwość istnienia w populacji logomorfów szczepu antygenowo podobnego do wirusa RHD, o niskiej zjadliwości i nie wywołującego tak dramatycznego przebiegu choroby (17, 77, 87, 95). Sugestie te potwierdziło wykrycie wirusa RCV (14) oraz badania nad indukcją przeciwciał i analiza klas przeciwciał dla wirusa RHD, przeprowadzone w hodowli królików, w której nie stwierdzono zachorowań na RHD (15). Scicluna i wsp. (90) nie wykluczyli istnienia również niepatogennych szczepów wirusa EBHS, gdyż badania surowic zajęcy pochodzących z Argentyny wykazały obecność przeciwciał dla tego wirusa, zaś do tej pory nie ma informacji o występowaniu tej choroby w Ameryce.

Przeprowadzone badania wykazały, że wirus EBHS jest patogenny dla zajęcy, natomiast nie wywołuje choroby u zakażonych nim królików, zaś wirus RHD jest patogenny tylko dla hodowlanych i dziko żyjących królików. Ponadto wykazano, że niskie poziomy przeciwciał u królików po zakażeniu wirusem EBHS i u zajęcy po zakażeniu wirusem RHD, nie zabezpieczają tych zwierząt przed zakażeniem wirusami homologicznymi, odpowiednio RHD i EBHS (16, 57, 73). Poda-

nie wirusa RCV seronegatywnym królikom i zajęcom indukuje odporność u królików na zakażenie wirusem RHD, natomiast nie zabezpiecza zajęcy przed zakażeniem wirusem EBHS (14). Do zakażenia dochodzi poprzez kontakt bezpośredni oraz na drodze pokarmowej lub oddechowej. Wydzieliny i wydaliny chorych zwierząt zanieczyszczają środowisko, przez co odchody, ściółka i woda stają się źródłem zakażenia dla innych zwierząt, również mięso od chorych zwierząt może być źródłem zakażenia (8, 38, 46, 60, 69, 84, 106, 107). Rola innych gatunków zwierząt w rozprzestrzenianiu wirusów w środowisku nie została do końca wyjaśniona. Niewrażliwość innych gatunków zwierząt na zakażenie wirusem RHD prezentowano wcześniej (43, 95, 106, 107). Badania serologiczne wykonane u lisów przez Leightona i wsp. (58) oraz przez Simon i wsp. (93) u lisów i psów, którym podawano homogenizat narządów padłych królików, wykazały obecność przeciwciał dla wirusa RHD. Simon i wsp. (93) nie stwierdzili natomiast żadnych objawów klinicznych choroby i obecności antygeny wirusowego w narządach wewnętrznych lisów. Jednakże wykazali obecność infekcyjnego wirusa RHD w kałach psów zakażonych doświadczalnie. Sądzą oni, że domowe i dziko żyjące zwierzęta mięsożerne mogą pełnić pewną rolę w transmisji wirusa. Również Dedek i Frolich (27) stwierdzili obecność przeciwciał reagujących z antygenem wirusa RHD w surowicach lisów. W Australii, Gould i wsp. (40) przeprowadzili szerokie badania na 28 gatunkach domowych i dziko żyjących zwierząt, zakażanych wirusem RHD. U żadnego nie wykryli replikacji wirusa w badaniach serologicznych i wirusologicznych. Natomiast wykazali metodą PCR obecność wirusa RHD w komarach i muchach, które miały możliwość kontaktu z zakażonymi królikami. Nie wiadomo czy wirus może się replikować w tych owadach, sugerują natomiast możliwość transmisji wirusa na inne króliki przez te i inne owady. Również inni badacze uważają, że owady i ptaki mogą odgrywać rolę w przenoszeniu wirusa (18, 39, 60, 69).

U młodych królików i zajęcy do wieku ok. 2 miesięcy życia występuje odporność matczyzna (39, 69, 95, 107, 108). Według danych piśmiennictwa nie występuje typowa sezonowość zachorowań lecz obserwowano ich nasilenie w okresie jesienno-zimowym (7, 29, 38, 39, 43, 60, 98, 106–108). Może to zależeć między innymi od zwiększenia liczby zwierząt w hodowlach i zagęszczenia zwierząt na danym terenie, warunków klimatycznych (wrażne obniżenie temperatury) oraz zwiększenia kontaktów między zwierzętami, np. w okresie odłowów lub polowań. Duff i wsp. (29) podali hipotezę o występowaniu okresowej wrażliwości zajęcy na zakażenie, tzn. sugerują, że przeciwciała krążą przez krótki okres w populacji zajęcy, a następnie zwierzęta stają się ponownie wrażliwe na zakażenie. U zajęcy hodowlanych po naturalnym zakażeniu, wysoki poziom przeciwciał Zanni i wsp. (108) obserwowali w 22 dniu po zakażeniu, natomiast po 87 dniach miano przeciwciał wyraźnie uległo obniżeniu.

Przebieg choroby, objawy kliniczne oraz anatomo- i histopatologiczne w obu jednostkach chorobowych są podobne i zostały uprzednio opisane (8, 28, 29, 35, 38, 41, 46, 48, 50, 56, 59, 63, 68, 70, 74, 79, 89, 91, 94, 97, 100, 101, 106).

W badaniach nad rozpoznawaniem zakażeń królików wirusem RHD i zajęcy wirusem EBHS stosuje się, oprócz metod histologicznych i immunohistologicznych, odczyn hemaglutynacji, metody immunoenzymatyczne, ELISA, mikroskopię elektronową, metodę Western blot, a ostatnio również metodę PCR (10, 11, 17, 25, 35, 36, 38, 48, 61, 63, 72, 76, 81, 87, 99, 102). W badaniach serologicznych oprócz odczynu zahamowania hemaglutynacji powszechnie stosuje się ELISA, a ostatnio opracowano również metodę immunoblotingu (10, 11, 17, 24, 61, 87, 88).

Badania nad zakażeniami królików wirusem RHD podjęto w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach w 1988 r., zaś zajęcy wirusem EBHS w 1990 r. Materiał do badań stanowiły wycinki narządów wewnętrznych padłych zwierząt i surowice żywych, przy czym materiał od zajęcy pobierano w okresie ich zimowych odłowów (listopad-styczeń). Bardzo niewielki odsetek stanowiły próby pobrane od zajęcy odławianych w okresie letnio-jesiennym (sierpień-wrzesień). Badania nad wykrywaniem obecności antygeny wirusów RHD i EBHS, w homogenizatach narządów wewnętrznych, prowadzono początkowo odczynem hemaglutynacji wobec erytrocytów ludzkich grupy „0”, a następnie testem ELISA (19, 21, 32, 43, 68).

Ponadto prowadzono badania nad wykrywaniem białek wirusów RHD i EBHS metodą Western blot (21, 22, 33). Badania te potwierdziły wcześniejsze doniesienia o występowaniu degradacji proteolitycznej białka kapsydu VP60 do białka o masie cząsteczkowej ok. 30 kD. Capucci i wsp. (9, 11) wykazali, że zjawisko to występuje u zwierząt, u których proces chorobowy trwa dłużej niż 72 godziny. W takich wypadkach antygen wirusowy nie jest wykrywany w odczynie hemaglutynacji, natomiast jest wykrywany w ELISA. Ostatnio Granzow i wsp. (45), stwierdzili w wątrobach królików z chronicznym przebiegiem choroby, obecność cząstek wirusowych o wielkości 25-27 nm. Wirus nie posiadał właściwości hemaglutynacyjnych, a wiriony zawierały tylko jedno białko strukturalne o masie cząsteczkowej 30 kD. Sugerują oni, że występowanie takich cząstek wirusowych nie jest wynikiem degradacji proteolitycznej ale pochodzą one z niekompletnej ekspresji lub skrócenia genomu RHDV. W Wielkiej Brytanii, Włoszech i Polsce zaobserwowano występowanie nowego fenotypu wirusa RHD, który wykazuje obecność białka VP60 ale nie posiada właściwości aglutynowania erytrocytów ludzkich w temperaturze pokojowej, natomiast aglutynuje erytrocyty w temperaturze 4°C (3, 17, 21, 53). W początkowym okresie występowania RHD nie obserwowano różnic w mianie antygeny wirusowego przy prowadzeniu odczynu w temperaturze 4°C i pokojowej (43).

Ostatnio wprowadzono również technikę PCR do wykrywania wirusów RHD i EBHS (23). We wstępnych badaniach przeprowadzonych w Zakładzie Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, uzyskano fragmenty cDNA kodujące część lub całe białko kapsydu.

Innym kierunkiem badań prowadzonym w Zakładzie Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych są badania serologiczne głównie surowic żywych zajęcy, pobranych od odłowionych zwierząt w różnych rejonach kraju. W okresie od 1992 r. przebadano ogółem 1579 surowic w ELISA, a 198 z nich również odczynem zahamowania hemaglutynacji (20). W ELISA jako antygen używano wirus EBHS, natomiast odczyn HI wykonywano wobec antygeny wirusa pomoru królików. Badania 198 surowic w HI wykazały niską czułość i specyficzność tego odczynu w porównaniu z ELISA. Wyniki badań serologicznych świadczą o rozpowszechnieniu zakażeń wirusem EBHS w populacji zajęcy.

Od szeregu lat w zwalczaniu RHD królików stosuje się szczepienia profilaktyczne. Próby izolowania wirusa w hodowlach komórkowych nie przyniosły rezultatów. Jedynie w Chinach zaadaptowano wirus RHD do zmodyfikowanej tkanki nerki królika (52). Z tego względu, w swoistej immunoprofilaktyce stosuje się zabita szczepionkę narządową, przygotowaną przez doświadczalne zakażenie królików wrażliwych. Szczepionka ta posiada dobre właściwości immunogenne i skutecznie zabezpiecza króliki przed zakażeniem (1, 42, 49, 51, 95, 103). Ostatnio w kilku krajach podjęto próby opracowania szczepionek rekombinowanych. Szczepionki te są oparte na wytwarzaniu białka kapsydu VP60 w różnych systemach ekspresyjnych: bakulowirusowym, w wirusie vaccini, ospy kanarków oraz w wirusie myksomatozy królików (2, 3, 31, 55, 64, 71). Ta ostatnia umożliwia jednocześnie uodparnianie królików przeciwko myksomatozie i RHD (3). Wszystkie wymienione systemy wytwarzają immunogenne białko VP60 zabezpieczające króliki przed zakażeniem wirusem RHD. Jednakże produkcja rekombinowanej szczepionki wymaga odpowiedniego warsztatu i możliwości zastosowania drogiej metody biologii molekularnej. Capucci i wsp. (15) uważają, że wykrycie niepatogennego wirusa RHD, stwarza hipotetyczną możliwość zastosowania go jako naturalnej szczepionki. Jednakże wymaga to przeprowadzenia dokładnych badań nad patogenezą, replikacją, czasem trwania infekcji oraz udowodnienia braku patogenności tego wirusa. Stosowano również z dobrymi rezultatami homologiczną surowicę odpornościową dla wirusa RHD do zabezpieczania królików w hodowlach podejrzanych o zakażenie (51, 85, 96).

## Piśmiennictwo

1. Arguello J. L., Perez-Ordoyo L. I., Llanos A., Ovejero J. I., Eizner G.: Tierarztl. Umschau 47, 440, 1992.
2. Bertagnoli S., Gelfi J., Petit F., Vautherot J.-F., Rasschaert D., Laurent S., Le Gall G., Boilletot E., Chantal J., Boucraut-Baralon C.: Vaccine 14, 506, 1996.

3. Bertagnoli S., Gelfi J., Le Gall G., Boilletot E., Vautherot J.-F., Rasschaert D., Laurent S., Petit F., Boucraut-Baralon C., Milon A.: *J. Virol.* 70, 5061, 1996.
4. Boga J. A., Marin M. S., Casais R., Prieto M., Parra F.: *Virus Res.* 26, 33, 1992.
5. Boga J. A., Casais R., Casais R. S., Martin-Alonso J. M., Carmenes R. S., Prieto M., Parra F.: *J. Gen. Virol.* 75, 2409, 1994.
6. Bouslama A., De Mia G. M., Hammami S., Aouina T., Soussi H., Frescura T.: *Vet. Rec.* 138, 108, 1996.
7. Brander P., Boujon C. E., Bestetti G. E.: *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 134, 383, 1992.
8. Buczek J., Deptula W., Piekarski J.: *Medycyna Wet.* 47, 447, 1991.
9. Capucci L., Scicluna M. T., Lavazza A., Brocchi E.: *Estratto Selez. Vet.* 31, 301, 1990.
10. Capucci L., Scicluna M. T., Lavazza A.: *Estratto Selez. Vet.* 32, 1381, 1991.
11. Capucci L., Scicluna M. T., Lavazza A.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 347, 1991.
12. Capucci L., Frigoli G., Ronshold L., Lavazza A., Brocchi E., Rossi C.: *Virus Res.* 37, 221, 1995.
13. Capucci L., Chasey D., Lavazza A., Westcott D.: *J. Vet. Med. B.* 43, 245, 1996.
14. Capucci L., Fusi P., Lavazza L., Paciarini M. L., Rossi C.: *J. Virol.* 70, 8614, 1996.
15. Capucci L., Nardin A., Lavazza A.: *Vet. Rec.* 140, 647, 1997.
16. Chasey D., Lucas M., Westcott D., Williams M.: *Arch. Virol.* 124, 363, 1992.
17. Chasey D., Lucas M. H., Westcott D. G., Sharp G., Kitching A., Hughes S. K.: *Vet. Rec.* 137, 158, 1995.
18. Chasey D.: *Vet. Rec.* 135, 496, 1994.
19. Chrobocińska M., Górski J.: *Bull. vet. Inst. Pulawy.* 39, 97, 1995.
20. Chrobocińska M., Górski J.: *Bull. vet. Inst. Pulawy.* 39, 17, 1995.
21. Chrobocińska M.: *Bull. vet. Inst. Pulawy.* 40, 61, 1996.
22. Chrobocińska M.: *Medycyna Wet.* 53, 343, 1997.
23. Chrobocińska M.: Próby amplifikacji cDNA kodującego białko kapsydu wirusów RHD królików i EBHS zajęcy metodą PCR. Materiały XIII Konferencji Naukowej p.t. Diagnostyka mikrobiologiczna. Puławy, 17.06.1997, s. 107-108.
24. Collins B. J., White J. R., Lenghaus C., Boyd V., Westbury H. A.: *Vet. Microbiol.* 43, 85, 1995.
25. Collins B. J., White J. R., Lenghaus C., Morrissy C. J., Westbury H. A.: *J. Virol. Methods* 58, 145, 1996.
26. Collery P. M., Mooney J., O'Connor M.: *Vet. Rec.* 137, 547, 1995.
27. Dedek J., Frolich K.: *Tierarztl. Umschau* 52, 149, 1997.
28. Deptula W., Buczek J.: *Medycyna Wet.* 49, 208, 1993.
29. Duff J. P., Chasey D., Munro R., Woodrighs J.: *Vet. Rec.* 134, 1994.
30. Eskens U., Volmer K.: *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 96, 464, 1989.
31. Fischer L., Le Gros F. X., Mason P. W., Paoletti E.: *Vaccine* 15, 90, 1997.
32. Fitzner A., Niedbalski W.: *Bull. vet. Inst. Pulawy.* 40, 69, 1996.
33. Fitzner A., Kęsy A., Niedbalski W., Paprocka G., Walkowiak B.: *Medycyna Wet.* 52, 302, 1996.
34. Frolich K., Heinrich H., Meyer D., Pielowski Z., Ronsholt L., Seck-Lanzen-dorf S. v., Stolte M.: *J. Wildlife Dis.* 32, 280, 1996.
35. Fuller H. E., Chasey D., Lucas M. H., Gibbens J. C.: *Vet. Rec.* 133, 611, 1993.
36. Le Gall G., Boilletot E., Morisse J. P.: *Ann. Rech. Vet.* 23, 381, 1992.
37. Le Gall G., Huguet S., Vende P., Vautherot J.-F., Rasschaert D.: *J. Gen. Virol.* 77, 1693, 1996.
38. Gavier-Widen D., Morner T.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 453, 1991.
39. Gavier-Widen D., Morner T.: *J. Wildlife Dis.* 29, 15, 1993.
40. Gould A. R., Kattenbelt J. A., Lenghaus C., Morrissy C., Chamberlain T., Collins B. J., Westbury H. A.: *Virus Res.* 47, 7, 1997.
41. Górski J., Mizak B., Mizak Z., Komorowski A.: *Życie wet.* 63, 266, 1988.
42. Górski J., Mizak B., Kęsy A., Fitzner A., Lój H.: *Medycyna Wet.* 45, 519, 1989.
43. Górski J., Mizak B., Chrobocińska M.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13, 881, 1994.
44. Graham D. A., Cassidy J., Beggs N., Curran W. L., McLaren I. E., Connor T. J., Kennedy S.: *Vet. Rec.* 138, 47, 1996.
45. Granzow H., Weiland F., Strehelov H.-G., Liu C. M., Schirmmeier H.: *Virus Res.* 41, 163, 1996.
46. Gregg D. A., House C., Meyer R., Berninger M.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 435, 1991.
47. Guittre C., Baginski I., Le Gall G., Trepo C., Cova L.: *Res. Vet. Sci.* 58, 128, 1995.
48. Gustafsson K., Svensson T., Uggla A.: *J. Vet. Med. A* 36, 631, 1989.
49. Haralambiev H., Peschlejski P., Jotov M., Dimitrov K., Vasilev V., Petkov P.: *Mh. Vet. Med.* 45, 788, 1990.
50. Henriksen P., Gavier D., Elling F.: *Vet. Rec.* 125, 486, 1989.
51. Huang H.-B.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 481, 1991.
52. Ji Ch.-Y., Du N.-X., Xu W.-Y.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 337, 1991.
53. Kęsy A., Fitzner A., Niedbalski W., Paprocka G., Walkowiak B.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 15, 1029, 1996.
54. Kolbl S., Settele J., Schonbauer M.: *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* 103, 261, 1990.
55. Laurent S., Vautherot J.-F., Madelaine M.-F., Le Gall G., Rasschaert D.: *J. Virol.* 68, 6794, 1994.
56. Lavazza A., Vecchi G.: *Estratto Selez. Vet.* 30, 461, 1989.
57. Lavazza A., Scicluna M. T., Capucci L.: *J. Vet. Med. B.* 43, 401, 1996.
58. Leighton F. A., Artois M., Capucci L., Gavier-Widen D., Morisse J. P.: *J. Wildl. Dis.* 31, 541, 1995.
59. Liu S. J., Xue H. P., Pu B. Q., Quian N. H.: *Animal Husbandary and Veterinary Medicine* 16, 253, 1984.
60. Loliger H.-Ch., Eskens U.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 423, 1991.
61. Maess J., Ryll V., Keyslerlingk M. v., Wenk L., Pohlmeier K.: *Z. Jagdwiss* 37, 49, 1991.
62. Marcato P. S., Benazzi C., Vecchi G., Della Salda L., Simoni P., Aiello P., Tumino G.: *Riv. Conigliocoltura* 25, 59, 1988.
63. Marcato P. S., Benazzi C., Vecchi G., Galeotti M., Della Salda L., Sarli G., Lucidi P.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 371, 1991.
64. Marin M. S., Alonso J. M. M., Garcia L. I. P. O., Boga J. A., Arguello-Villares J. L., Casais R., Venugopal K., Jiang W., Gould E. A., Parra F.: *Virus Res.* 39, 119, 1995.
65. Meyers G., Wirblich Ch., Thiel H. J.: *Virology* 184, 664, 1991.
66. Meyers G., Wirblich Ch., Thiel H. J.: *Virology* 184, 677, 1991.
67. Milton I. D., Vlasak R., Nowotny N., Rodak L., Carter M. J.: *FEMS Microbiol. Letters* 93, 37, 1992.
68. Mizak B., Górski J., Kozaczyński W.: *Bull. vet. Inst. Pulawy.* 34, 37, 1991.
69. Morisse J.-P., Le Gall G., Boilletot E.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 269, 1991.
70. Moussa A., Chasey D., Lavazza A., Capucci L., Smid B., Meyers G., Rossi C., Thiel H.-J., Vlasak R., Ronsholt L., Nowotny N., McCullough K., Gavier-Widen D.: *Vet. Microbiol.* 33, 375, 1992.
71. Nagesha H. S., Wang L. F., Hyatt A. D., Morrissy C. J., Lenghaus C., Westbury H. A.: *Arch. Virol.* 140, 1095, 1995.
72. Nardelli S., Agnoletti F., Constantini F., Parpajola R.: *J. Vet. Med. B* 43, 393, 1996.
73. Nauwynck H., Callebaut P., Peeters J., Ducatelle R., Uyttebroeck E.: *J. Wildl. Dis.* 29, 203, 1993.
74. Nowotny N., Steineck Th., Tataruch F., Schilcher F., Weissenbock H.: *Wien. Tierarztl. Mschr.* 78, 370, 1991.
75. Nowotny N., Ros Bascanana C., Ballagi-Pordany A., Gavier-Widen D., Uhlen M., Belak S.: *Arch. Virol.* 142, 657, 1997.
76. Ohlinger V. F., Haas B., Meyers G., Weiland F., Thiel H. J.: *J. Virol.* 64, 3331, 1990.
77. Ohlinger V. F., Thiel H. J.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 311, 1991.
78. Ohlinger V. F., Haas B., Thiel H. J.: *Vet. Res.* 24, 103, 1993.
79. Okerman L., Van de Kerckhove P., Osaer S., Devriese L., Uyttebroeck E.: *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 58, 44, 1989.
80. Park J. H., Kida H., Ueda K., Ochiai K., Goryo M., Itakura C.: *J. Vet. Med. B* 38, 749, 1991.
81. Park J. H., Ochiai K., Itakura C.: *J. Comp. Path.* 107, 329, 1992.
82. Parra F., Prieto M.: *J. Virol.* 64, 4013, 1990.
83. Parra F., Boga J. A., Marin M. S., Casais R.: *Virus Res.* 27, 219, 1993.
84. Peeters J. E., Broes A., Charlier G.: *Ann. Med. Vet.* 134, 567, 1990.
85. Peschlejski P., Petkov P., Dimitrov K., Jatov M., Vasilev V., Haralambiev H.: *Tierarztl. Umschau* 46, 223, 1991.
86. Rasschaert D., Huguet S., Madelaine M.-F., Vautherot J.-F.: *Virus Genes* 9, 121, 1994.
87. Rodak L., Smid B., Valicek L., Vesely T., Stepanek J., Hampl J., Jurak E.: *J. Gen. Virol.* 71, 1075, 1990.
88. Ruvoen-Clouet N., Blanchard D., Andre-Fontaine G., Song B., Geniere J. P.: *J. Vet. Med. B.* 42, 197, 1995.
89. Schirmmeier H., Granzow H., Bergmann H., Schluter H.: *Mh. Vet. Med.* 45, 193, 1990.
90. Scicluna M. T., Lavazza A., Capucci L.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13, 893, 1994.
91. Sesevickova A., Pechac O., Mirossay E.: *Veterinarstvi* 38, 250, 1988.
92. Sibilina M., Boniotti M. B., Angoscini P., Capucci L., Rossi C.: *J. Virol.* 69, 5812, 1995.
93. Simon M. C., Muguruza R., Alonso J. L., Muzquiz J. L., Girones O., Haffar A.: *Rec. Med. Vet.* 170, 841, 1994.
94. Smid B., Valicek L., Stepanek J., Jurak E., Rodak L.: *J. Vet. Med. B* 36, 237, 1989.
95. Smid B., Valicek L., Rodak L., Stepanek J., Jurak E.: *Vet. Microbiol.* 26, 77, 1991.
96. Smid B., Valicek L., Rodak L., Dedek L., Jordan V.: *Veterinarstvi* 10, 436, 1995.
97. Soltysiak Z., Michalska Z.: *Medycyna Wet.* 45, 521, 1989.
98. Steineck Th., Nowotny N.: *Tierarztl. Umschau.* 48, 225, 1993.
99. Stoerckle-Berger N., Keller-Berger B., Ackermann M., Ehrensperger F.: *J. Vet. Med. B.* 39, 237, 1992.
100. Uyttebroeck E., Nauwynck H., Ducatelle R., Callebaut P., Charlier G.: *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 132, 478, 1990.
101. Valicek L., Smid B., Rodak L., Sevcik J.: *Veterinarstvi* 42, 6, 1992.
102. Vend P., Le Gall G., Rasschaert D.: *Vet. Res.* 26, 174, 1995.
103. Villares J. L. A.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 459, 1991.
104. Wirblich Ch., Meyers G., Ohlinger V. F., Capucci L., Eskens U., Haas B., Thiel H.-J.: *J. Virol.* 68, 5164, 1994.
105. Wirblich Ch., Thiel H.-J., Meyers G.: *J. Virol.* 70, 7974, 1996.
106. Xu Z. J., Chen W. X.: *Vet. Res. Communications* 13, 205, 1989.
107. Xu W.-Y.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 10, 393, 1991.
108. Zanni M. L., Benassi M. C., Scicluna M. T., Lavazza A., Capucci L.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 931, 1993.