

# Badania molekularne serotypów wirusa pryszczycy

GRAŻYNA PAPROCKA

Zakład Pryszczycy Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach,  
ul. Wodna 7, 98-220 Zduńska Wola

Paprocka G.

## Molecular studies of foot-and-mouth disease virus serotypes

### Summary

The foot-and-mouth disease virus (FMDV) belongs to the family of Picornaviridae, genus Aphthovirus. The virus exists in the form of seven different serotypes: O, A, C, Asia 1, SAT 1, SAT 2, SAT 3 and multiple subtypes reflecting significant genetic variability. The FMDV genome organization is similar to that of other picornaviruses.

The determination of FMDV nucleotide sequences and phylogenetic analysis is the definitive technique for characterizing individual isolates of the virus.

The paper presents information regarding genetic studies of FMDVs originating from different parts of the world.

**Keywords:** FMDV

Wirus pryszczycy (foot-and-mouth disease virus – FMDV, rodzina *Picornaviridae*, rodzaj *Aphthovirus*) egzystuje w siedmiu serotypach O, A, C, Asia 1, SAT 1, SAT 2, SAT 3, wśród których istnieją podtypy (29, 32). Pierwsze serologicznie różniące się typy wirusa wykryli badacze francuscy Vallee i Carre w 1922 r. Oznaczyli je na podstawie miejsca pochodzenia jako typ O (Oise) i typ A (Allemagne – niemiecki) zawleczony z Niemiec z zakupionym bydlęciem. W 1926 r. Waldmann i Trautwein podzielili badane na wyspie Riems szczepy wirusowe na trzy grupy A, B, C. Typ A odpowiadał francuskiemu typowi O, typ B typowi A, typ C był nowym serotypem. Następne trzy serotypy nazwane SAT 1, SAT 2, SAT 3 zostały wykryte przez Brooksby w Afryce w 1952 r., natomiast siódmy serotyp Asia 1 wykryli Brooksby i Rogers w Azji w 1957 r. (31). Identyfikację serotypów FMDV prowadzono w oparciu o surowice serotypowo-swoiste, a następnie różnicowano na podtypy i warianty antygenowe. Potrzeba rozpoznawania źródła pochodzenia ognisk oraz konieczność ustalenia, czy podobieństwo między szczepami szczepionkowymi a izolatami terenowymi jest wystarczające do skutecznego zabezpieczenia przed pryszczycą, wymagały wprowadzenia doskonalszych, niezawodnych metod. Początkowo wykorzystywano różne techniki biochemiczne takie jak elektroforeza w żelu poliakrylamidowym w obecności SDS (PAGE-SDS) w celu rozdzielania i analizy białek kapsydu (15) lub mapowanie fragmentów genomu przy użyciu rybonukleazy T1 (17). Jednak zdecydowanym postępowaniem było dopiero wprowadzenie metod biologii molekularnej, które pozwoliły jednoznacznie ocenić

pokrewieństwo genetyczne wirusów i przedstawić dowody dla badań epidemiologicznych (4). Znajomość budowy genomu FMDV warunkuje praktyczne zastosowanie tych metod. Genom wirusa pryszczycy jest zbudowany z pojedynczej, pozytywnie spolaryzowanej nici RNA o długości około 8500 nukleotydów. Zawiera jedną, długą ramkę odczytu kodującą pierwotną poliproteinę, która ulega licznym przemianom enzymatycznym w wyniku których powstają strukturalne i niestrukturalne białka wirusowe. Organizację genomu FMDV omówiono szczegółowo w innym artykule (27). Region kodowania białka kapsydu VP1 wykazujący zróżnicowanie sekwencji nie tylko wśród serotypów, ale także wśród izolatów tego samego serotypu jest najbardziej odpowiedni do analizy w celu precyzyjnego określenia stopnia pokrewieństwa (11). Pierwsze badania molekularne dotyczyły bezpośredniego oznaczania sekwencji krótkich fragmentów RNA FMDV metodą Maxama i Gilberta (22) z rozszczepieniem chemicznym poszczególnych zasad lub Sanger (34), przy użyciu 2',3'-dwudeoksy-pochodnych nukleotydów. Kolejnym przełomem było wprowadzenie reakcji polimeryzacji łańcuchowej co pozwoliło na badanie większych fragmentów genomu. W 1995 roku Knowles i wsp. (13) opisali metodę PCR z odwrotną transkrypcją (RT-PCR), która umożliwiła amplifikację regionu genomu kodującego białko VP1 serotypów O, A, C i Asia 1. Później opracowano podobną metodę dla serotypów SAT (2). Następnie, przy wykorzystaniu reakcji polimeryzacji łańcuchowej amplifikowane były sekwencje całego genomu FMDV (21). W oparciu o analizę sekwencji nukleotydowych

uzyskanych poprzez amplifikację i sekwencjonowanie regionu kodującego białko VP1 zostały opracowane drzewa filogenetyczne, przedstawiające wizualnie podobieństwa i różnice między sekwencjami reprezentującymi dane wirusy. Były one konstruowane przy użyciu różnych programów m.in. NEIGHBOR (29). Badania z tego zakresu dostarczają ważnych danych epidemiologicznych.

Siedem serotypów wirusa pryszczycy należy do odmiennych antygenowo linii, wśród których różnice dotyczące genu VP1 wynoszą w przybliżeniu 30-50% (11).

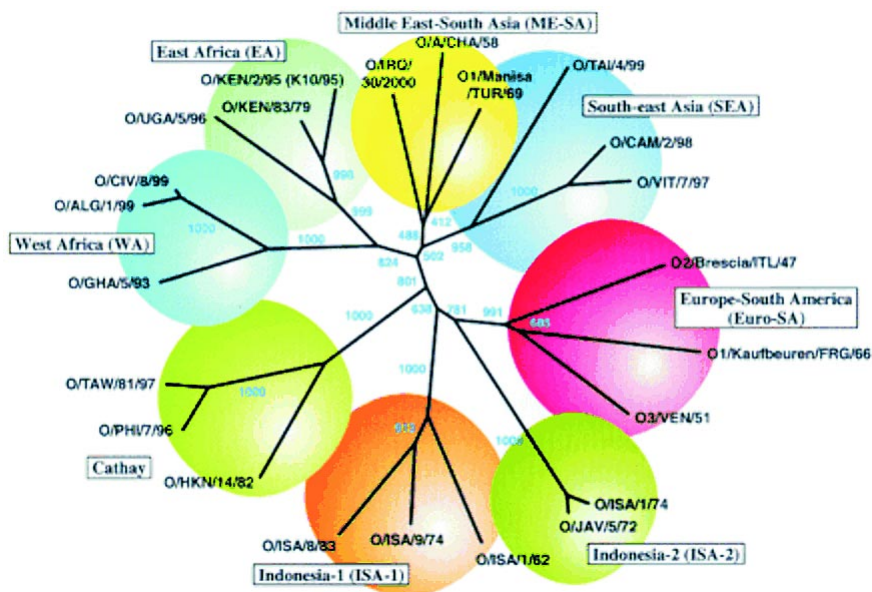
### Geograficzne rozmieszczenie serotypów wirusa pryszczycy

Serotypy O, A, C były obecne w Afryce, Azji, Ameryce Południowej i sporadycznie w Europie. Występowanie serotypów SAT 1, SAT 2, SAT 3 ograniczało się zwykle do Afryki; serotypu Asia 1 do Azji. W okresie ostatnich pięciu lat serotyp O był typem najczęściej wykrywanym, stanowił ponad 60% próbek dodatnich potwierdzonych w World Reference Laboratory for FMD (WRLFMD) w Pirbright (14). Według raportów OIE ([www.oie.int/eng/info/hebdo/a\\_dsum.htm](http://www.oie.int/eng/info/hebdo/a_dsum.htm)), ogniska pryszczycy stwierdzone w okresie od stycznia do czerwca 2006 r. zostały wywołane przez serotypy: O (Argentyna, Brazylia, Ekwador, Izrael, Autonomia Palestyńska, Wietnam), A (Egipt, Turcja, Kolumbia, Kongo), Asia 1 (Chiny, Rosja), SAT 2 (Botswana).

### Wirus pryszczycy serotyp O

Jest typem najbardziej rozpowszechnionym, najczęściej występującym w wielu różnych regionach świata. W obrębie tego serotypu wyróżniono 10-11 podtypów antygenowych (5). Jednak obecnie ustalono że zmienność antygenowa serotypu O nie jest tak rozległa, znacznie większa jest jego różnorodność genetyczna (32). Analizę sekwencyjną zastosowali po raz pierwszy w badaniach epidemiologicznych Beck i Strohmaier w 1987 r. (4). Autorzy wykazali, że wiele wirusów serotypu O i A izolowanych z ognisk europejskich w latach 70. i 80. było blisko spokrewnionych ze szczepami używanymi do produkcji szczepionek. Ci sami autorzy wykryli również wirusy serotypu O, które zostały wprowadzone do Europy (Thalheim, Austria, 1981 r.; Wuppertal, Niemcy, 1982 r.) Później stwierdzono, że były one blisko spokrewnione z wirusami z Chin i Hongkongu (11). Od tego czasu podobne badania opublikowało wielu autorów. Prace te dostarczyły informacji do opracowania bazy danych na skalę globalną.

Interesujące badania zaprezentowali w 2001 r. Samuel i Knowles (32), badacze z WRLFMD w Pirbright. Wzorując się na określaniu genotypów wirusa



Ryc. 1. FMDV serotyp O – topotypy (wg Samuel i wsp., 32)

polio (30), na podstawie zróżnicowania sekwencji nukleotydów do 15%, pogrupowali 105 wirusów serotypu O, pochodzących z różnych części świata, w ośmiu genotypach odpowiadających różnym regionom geograficznym. Nazwano je topotypami: ME-SA (Middle East-South Asia), SEA (South-East Asia), Euro-SA (Europe-South America), ISA-1 (Indonesia-1), ISA-2 (Indonesia-2), EA (East Africa), WA (West Africa) i Cathay, do którego zaliczono wirusy z Hongkongu i Chin (ryc. 1). Dwa z tych topotypów ISA-1 oraz ISA-2, których nie wykryto dotąd poza Indonezją, prawdopodobnie przestały już istnieć. W późniejszych badaniach wśród wirusów wschodnioafrykańskich (topotyp EA) wyróżniono trzy topotypy: EA-1 (East Africa 1), EA-2 (East Africa 2), EA-3 (East Africa 3) (14). Podobne badania przedstawili Reid i wsp. (29). Inni badacze (33) opisali siedem genotypów, które oznaczyli literami od A do G. Genotyp A występował w Azji, Środkowym Wschodzie oraz w Południowej Afryce i odpowiada topotypowi ME-SA. Genotyp B był wykryty we Wschodniej Afryce i odpowiada topotypowi EA, genotyp C wykryty w Zachodniej i Północnej Afryce odpowiada topotypowi WA, natomiast genotyp D wykryty w Tajwanie i Rosji odpowiada topotypowi Cathay. Pozostałe genotypy: E (Angola i Wenezuela), F (Zachodnia Europa) i G (Europa i Ameryka Południowa) pokrywają się z topotypem Euro-SA.

König i wsp. (16) analizowali wirusy typu O izolowane w latach 1977-1994 z ognisk w Argentynie. Autorzy wykazali, że wszystkie badane wirusy (poza jednym) były blisko spokrewnione z południowo- amerykańskimi szczepami szczepionkowymi (O<sub>1</sub>/Campus/Brazil/58 lub O<sub>1</sub>/Caseros/Argentina/67).

Istotne dane na temat sytuacji epidemiologicznej pryszczycy w Afryce podają Bastos i wsp. (2) oraz Vosloo i wsp. (36). Najnowsze badania wykazały obecność na tym kontynencie ośmiu topotypów wirusa se-

rototypu O. Warte odnotowania jest występowanie aż czterech z tych topotypów w Ugandzie oraz trzech w Sudanie (36).

W ostatnich latach wiele prac dotyczących analizowania różnic genetycznych pomiędzy wirusami serotypu O opublikowano w Indiach, a także w innych krajach azjatyckich. Dostarczyły one cennych informacji o rozprzestrzenianiu się wirusa w miejscach, gdzie nieograniczone przemieszczanie zwierząt jest często przyczyną trudnej sytuacji epidemiologicznej.

### **Wirus pryszczycy serotyp O szczep PanAsia**

Ten pandemiczny wirus, który wywołał chorobę na szeroką skalę, pojawił się po raz pierwszy w północnych Indiach, w 1990 r. Następnie, w 1994 r. rozprzestrzenił się w Arabii Saudyjskiej, a w 1996 r. dotarł do Turcji, Grecji i Bułgarii. W ciągu kolejnych dwóch lat wywołał ogniska w Iranie, Iraku, Syrii, Izraelu, Libanie, Jordanii i na Półwyspie Arabskim. Rozprzestrzenianie się tego szczepu w kierunku wschodnim jest mniej pewne. W latach 1993-1994 był wykrywany w próbkach dostarczonych do WRLFMD z Nepalu, a w 1998 r. z Butanu. Ten sam wirus w latach 1998-1999 spowodował ogniska w Chinach. W 2000 r. zatakował Tajwan, Koreę, Japonię, Mongolię, Rosję oraz pojawił się w Afryce Południowej. Natomiast 20 lutego 2001 r. został wykryty w Wielkiej Brytanii, a następnie w ciągu miesiąca przeniósł się do Irlandii, Francji i Holandii. Również w lutym 2001 r. wystąpiły ponowne ogniska w Mongolii i Korei. Nie jest jasne, czy wirus przetrwał w tych krajach czy został zawleczony z zewnątrz (11). Knowles i wsp. (14) porównali sekwencje nukleotydowe regionu kodującego białko VP1 wirusów serotypu O izolowanych w latach 2000-2005 z wcześniej opublikowanymi sekwencjami wybranych wirusów i wykazali, że wśród badanych szczepów azjatyckich, 253 należało do topotypu ME-SA, 18 do SEA, a 49 do topotypu Cathay. Szczep PanAsia stanowił 168 (66%) izolatów topotypu ME-SA. Ważne są również doniesienia Hemadri i wsp. (7) oraz Knowles i wsp. (10) o pojawieniu się w Indiach i na Środkowym Wschodzie nowego szczepu wirusa typu O, który ewoluował z PanAsia i jest blisko spokrewniony z wirusami występującymi w połowie lat 90.

### **Wirus pryszczycy serotyp A**

Wirusy typu A są wyjątkowo zróżnicowane antygenowo i genetycznie. W obrębie tego serotypu wyodrębniono 32 podtypy (5). Wspomniane historyczne badania Beck i Strohmaier wykazały, że wirusy izolowane w latach 80. z ognisk wywołanych europejskim typem A (Półwysep Iberyjski, 1983; Włochy, Niemcy Zachodnie 1984) były blisko spokrewnione z europejskimi szczepami szczepionkowymi (4). Z innych badań wynika, że wirus typu A wykryty w ogniskach w Europie (Albania, Macedonia, 1996 r.) już po zaniechaniu rutynowych szczepień, został zawleczony z Azji (12). W kolejnych badaniach stwierdzono, że

izolaty współczesnego wirusa typu A z Arabii Saudyjskiej i Iranu różnią się między sobą genetycznie i nie są spokrewnione z wymienionym powyżej izolatem niemieckim z 1984 r. (18).

Ostatnio pojawiły się liczne publikacje dotyczące wirusów serotypu A wykrytych w Indiach. Nayak i wsp. (26) zaklasyfikowali indyjskie wirusy izolowane w latach 1987-1996 do 21 grup genetycznych. Nie znaleziono jednak korelacji między grupą genetyczną a geograficznym rozmieszczeniem, co zdaniem autorów wskazuje na znaczne przemieszczanie się zwierząt w Indiach. Inni autorzy (35), porównując sekwencje 83 indyjskich wirusów typu A izolowanych w latach 1977-2000 z 37 sekwencjami wybranych wirusów, wyodrębnili 10 głównych genotypów. Indyjskie izolaty zostały umieszczone w czterech z tych genotypów (I, IV, VI, VII), co najmniej dwa z nich (VI i VII) krążą w różnych stanach Indii. Autorzy pracy stwierdzili ponadto, że trzy izolaty z 1986 r. były blisko spokrewnione z europejskimi wirusami A<sub>10</sub>; A<sub>10</sub>/Holland/42 używano w Indiach jako szczepu szczepionkowego. Badania izolatów z ognisk pryszczycy z lat 1993-2001 potwierdziły istnienie w Indiach VI i VII genotypu (23). Natomiast analiza sekwencyjna wirusów izolowanych w latach 2001-2003 ujawniła dominację genotypu VII nad VI i pojawienie się nowego wariantu odpowiedzialnego za większość ostatnich ognisk (8).

Badania filogenetyczne 51 wirusów typu A izolowanych w Afryce wykazały, że były one skrajnie zróżnicowane. Mogły być zgrupowane w sześciu topotypach, jedna z tych grup była blisko spokrewniona z wirusami pochodzenia europejskiego i południowoamerykańskiego (topotyp Euro-SA) (12).

König i wsp. (16) przedstawili istotne różnice genetyczne 16 wirusów typu A izolowanych w Argentynie w latach 1961-1992, porównywanych z południowoamerykańskim szczepem szczepionkowym A<sub>24</sub>/Cruzeiro/Brazil/55. Podobnie Araujo i wsp. (1) opisali zróżnicowanie 9 wirusów izolowanych w okresie dwóch lat 1994-1995 w brazylijskim stanie Sao Paulo. Wirusy te należały do trzech odległych linii genetycznych, które różniły się także od wymienionego szczepu szczepionkowego A<sub>24</sub>/Cruzeiro/Brazil/55. Wspólne badania, ponad czterdziestu południowoamerykańskich wirusów, przeprowadzone przez laboratoria Argentyny, Brazylii i WRLFMD potwierdziły dużą zmienność serotypu A w okresie 44 lat (1955-1998). Z kolei wirusy, które spowodowały ogniska w Argentynie, Urugwaju i południowej Brazylii w 2001 r. były bardzo blisko spokrewnione między sobą i z wirusami izolowanymi wcześniej na tym obszarze (28). Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika, że poprzez częściowe lub pełne sekwencjonowanie genu VP1 wyodrębniono wiele grup genetycznych wirusa pryszczycy serotypu A. Jednak badania na licznej populacji wirusów sugerują, że można je zgrupować w trzech głównych, geograficznie ograniczonych genotypach: Euro-SA, Azja, Afryka (11).

### Wirus pryszczycy serotyp C

Wirusy typu C izolowane w Europie i Ameryce Południowej zostały sklasyfikowane w latach 60. w pięciu podtypach C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> (5). Do podtypu C<sub>1</sub> zaliczono izolat niemiecki z 1926 r. oraz wirusy europejskie izolowane w okresie 1953-1989 r. Podtyp C<sub>2</sub> był reprezentowany przez urugwajski szczep szczepionkowy C/Pando izolowany w 1944 r. i brytyjski szczep terenowy C997 z 1953 r. Do podtypu C<sub>3</sub> należały izolaty południowo-amerykańskie reprezentowane przez szczepy szczepionkowe C<sub>3</sub>/Resende/Brazil/55 i C<sub>3</sub>/Indaial/Brazil/71. Podtyp C<sub>4</sub> zawierał pojedynczy izolat C<sub>4</sub>/Tierra del Fuego/Argentine/66, natomiast do podtypu C<sub>5</sub> przydzielono izolaty południowo-amerykańskie reprezentowane przez C<sub>5</sub>/Argentine/69. W późniejszych badaniach, na podstawie porównania sekwencji nukleotydowych regionu kodującego białko VP1 dokonano analizy genetycznej wszystkich wymienionych wirusów (20). W oparciu o kryteria zastosowane przy klasyfikacji wirusów typu O (32), klasyczne podtypy wirusa serotypu C zaliczono do jednego topotypu Euro-SA (11). Autorzy innej pracy na podstawie analizy sekwencyjnej pogrupowali badane wirusy serotypu C w pięciu topotypach: Euro-SA, EA, Philippines, ME-SA, Sri-Lanka (29). Jak wspomniano, serotyp C w przeszłości występował w Europie, Ameryce Południowej, Afryce Wschodniej i Północnej oraz w Południowej Azji. Obecnie występuje sporadycznie i nie wiadomo dlaczego zanika. W latach 1977-1990 spowodował 8% wszystkich ognisk pryszczycy, natomiast w okresie od 1991 do 1994 r. – 1,6%. W ciągu ostatnich ośmiu lat WRLFMD nie diagnozowało tego serotypu (25). Knowles i wsp. (11) sugerują, że serotyp C jest kandydatem do całkowitej globalnej likwidacji.

### Wirus pryszczycy serotyp Asia 1

Wśród wirusów typu Asia 1 wyróżniono tylko trzy podtypy (5). Według badań Muthuchelvan i wsp. (24), wirusy Asia 1 można podzielić na dwie grupy w ramach jednego genotypu. Jedną grupę tworzy prototypowy szczep z Pakistanu Asia1/PAK/1/54, w drugiej znajdują się izolaty z Bangladeszu, Bhutanu, Indii, Izraela i Nepalu. Inni badacze (6) pogrupowali wirusy izolowane w latach 1985-1999 w czterech genotypach (I-IV). Izolaty z Indii należą do genotypu II, który został podzielony na trzy linie (B1, B2, B3). Wirusy z linii B1 i B3 występowały częściej przed 1996 r. natomiast wirusy z linii B2 są nowymi wariantami izolowanymi z późniejszych ognisk. Kolejne badania wykazały, że niedawna epizootia wywołana przez wirus serotypu Asia 1, która przeszła przez Iran oraz Turcję w 1999 r. i dotarła do Grecji w 2000 r., rozpoczęła się w Pakistanie, Indiach i Bangladeszu w połowie lat 90. Ustalono również, że ten szczep dotarł w 1994 r. do Arabii Saudyjskiej, ale przypuszczalnie nie rozprzestrzenił się (19). Zmienność genetyczna

między wirusami pryszczycy serotypu Asia 1 jest znacznie mniejsza niż wśród wirusów innych serotypów. Wszystkie badane dotychczas izolaty należą do jednego topotypu (29).

### Wirus pryszczycy serotypy SAT 1-3 (Southern African Territories)

Pierwotnym źródłem zakażenia wirusami SAT innych parzystokopytnych jest bawół afrykański (*Syncerus caffer*), u którego rzadko obserwuje się jawną postać choroby, natomiast nosicielstwo może trwać nawet pięć lat (3, 9). Większość badań molekularnych dotyczących epidemiologii serotypów SAT ograniczała się do sytuacji w Południowej Afryce.

Południowoafrykańskie wirusy serotypu SAT 1 zakwalifikowano do trzech topotypów (29). Topotyp I występuje w południowo-wschodnim Zimbabwe oraz w Afryce Południowej (w tym w Parku Narodowym Krugera), natomiast topotyp II w zachodnim Zimbabwe, Botswanie i Namibii. Topotyp III został wykryty w północno-zachodniej części Zimbabwe, Zambii i Malawi. Dalsze topotypy istnieją we Wschodniej i Zachodniej Afryce.

Serotyp SAT 2 jest najczęściej wykrywany w ogniskach w Południowej i Zachodniej Afryce. Bastos i wsp. (2, 3) sugerują, że ten serotyp najefektywniej przekracza bariery gatunkowe. Vosloo i wsp. (36) analizując sekwencje fragmentu kodującego białko VP1 wirusów SAT 2 izolowanych od bydła i bawołów w Afryce Południowej, Namibii i Zimbabwe wykazały, że wirusy izolowane od bydła w Zimbabwe w latach 1983-1989 charakteryzowało bliskie pokrewieństwo, natomiast izolaty z pozostałych krajów były znacznie zróżnicowane genetycznie. Z kolei Keet i wsp. (9) stwierdzili, że wirusy SAT 2 izolowane od antylop impala (*Aepyceros melampus*) z Narodowego Parku Krugera nie były spokrewnione z wirusami izolowanymi wcześniej od innych dzikich zwierząt. Inni autorzy opisali cztery epizootie wśród antylop impala w okresie 1985-1995 r., z których trzy mogły mieć związek z wirusami izolowanymi wcześniej od bawołów (3). Wirusy SAT 2 z Południowej Afryki można podzielić na dwa topotypy, jeden występujący w Zimbabwe w latach 1981-1991, drugi w całej południowej Afryce rozprzestrzeniający się na Afrykę Wschodnią i Środkowy Wschód. Kolejne topotypy są obecne we wschodniej i zachodniej Afryce (14).

Serotyp SAT 3 jest najrzadziej wykrywany. Geograficzne rozmieszczenie południowo-afrykańskich wirusów SAT 3 jest zbliżone do wirusów SAT 1. Wyodrębniono trzy topotypy: I (południowo-wschodnia część Zimbabwe i Afryka Południowa), II (zachodnia część Zimbabwe i Botswana) oraz III (północno-zachodnia część Zimbabwe i Malawi) (29).

Z najnowszych badań wynika, że występujące na terenie Afryki wirusy serotypów SAT 1, SAT 2, SAT 3 można zakwalifikować kolejno do 8, 14, 6 topotypów (36).

Podsumowując należy stwierdzić, że wprowadzenie molekularnych technik badawczych umożliwia badanie zróżnicowania genetycznego FMDV w oparciu o analizę zmienności w genie odpowiedzialnym za ekspresję białka VP1. Dzięki tym badaniom oraz dostępnym bankom informacji możliwe jest nie tylko ustalenie źródła pochodzenia choroby, ale również monitorowanie dróg szerzenia się wirusów pryszczycy zarówno w obrębie kraju, jak i w skali globalnej.

### Piśmiennictwo

1. *Araujo J. P., Montassier H. J., Pinto A. A.*: Extensive antigenic and genetic variation among foot-and-mouth disease type A viruses isolated from the 1994 and 1995 foci in Sao Paulo, Brazil. *Vet. Microbiol.* 2002, 84, 15-27.
2. *Bastos A. D. S.*: Detection and characterisation of foot-and-mouth disease virus in sub-Saharan Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1998, 65, 37-47.
3. *Bastos A. D. S., Boshoff C. I., Keet D. F., Bengis R. G., Thomson G. R.*: Natural transmission of foot-and-mouth disease virus between African buffalo (*Syncerus caffer*) and impala (*Aepyceros melampus*) in the Kruger National Park, South Africa. *Epidemiol. Infect.* 2000, 124, 591-598.
4. *Beck E., Strohmaier K.*: Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *J. Virol.* 1987, 61, 1621-1629.
5. *Davie J.*: A complement fixation technique for the quantitative measurement of antigenic differences between strains of foot-and-mouth disease virus. *J. Hyg. Camb.* 1964, 62, 407-411.
6. *Gurumurthy C. B., Sanyal A., Venkataramanan R., Tosh C., George M., Hemadri D.*: Genetic diversity in the VP1 gene of foot-and-mouth disease virus serotype Asia 1. *Arch. Virol.* 2002, 147, 85-102.
7. *Hemadri D., Tosh C., Sanyal A., Venkataramanan R.*: Emergence of a new strain of type O foot-and mouth disease virus: its phylogenetic and evolutionary relationship with the PanAsia pandemic strain. *Virus Genes* 2002, 25, 23-34.
8. *Jangra R. K., Tosh C., Sanyal A., Hemadri D., Bandyopadhyay S. K.*: Antigenic and genetic analysis of foot-and-mouth disease virus type A isolates for selection of candidate vaccine strain reveals emergence of a variant virus that is responsible for most recent outbreaks in India. *Virus Res.* 2005, 112, 52-59.
9. *Keet D. F., Hunter P., Bengis R. G., Bastos A. D. S., Thomson G. R.*: The 1992 foot-and-mouth disease epizootic in the Kruger National Park. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 1996, 67, 83-87.
10. *Knowles N. J., Davies P. R., Samuel A. R.*: Molecular Epidemiology of Foot-and-Mouth Disease Virus: The Current Situation in Europe and the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, Island of Moen, Denmark, 12-15 September 2001 (Appendix 3). *FAO, Rome* 2001, s. 38-47.
11. *Knowles N. J., Samuel A. R.*: Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res.* 2003, 91, 83-87.
12. *Knowles N. J., Samuel A. R.*: Molecular Techniques in Foot-and-Mouth Disease Epidemiology. Towards Livestock Disease Diagnosis and Control in the 21<sup>st</sup> Century: Proceedings of an International Symposium on Diagnosis and Control of Livestock Disease jointly organized by the International Atomic Energy Agency and the Food and Agriculture Organization of the United Nations, held in Vienna, 7-11 April 1997. *International Atomic Energy Agency, Vienna* 1998, s. 185-201.
13. *Knowles N. J., Samuel A. R.*: Polymerase Chain Reaction Amplification and Cycle Sequencing of the 1D (VP1) Gene of Foot-and-Mouth Disease Viruses. Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease held jointly with the FMD Sub-group of the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Community, Vienna, Austria, 19-22 September 1994 (Appendix 8). *FAO, Rome* 1995, s. 45-53.
14. *Knowles N. J., Samuel A. R., Davies P. R., Midgley R. J., Valarcher J.-F.*: Pandemic strain of foot-and-mouth disease virus serotype O. *Emerging Infectious Diseases*, www.cdc.gov/eid, Vol. 11, No. 12, December 2005.
15. *Knowles N. J., Sharma G. K.*: A study of antigenic variants of foot-and-mouth disease virus type A in India between 1977 and 1985. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 1990, 9, 1157-1168.
16. *König G., Blanco C., Knowles N. J., Palma E. L., Maradei E., Piccone M. E.*: Phylogenetic analysis of foot-and-mouth disease viruses isolated in Argentina. *Virus Genes* 2001, 23, 175-182.
17. *La Torre J. I., Underwood B. O., Lebendiker M., Gorman B. M., Brown F.*: Application of RNase T1 one- and two- dimensional analyses to the rapid identification of foot-and-mouth disease viruses. *Infect. Immun.* 1982, 36, 142-147.
18. *Marquardt O., Adam K.-H.*: Sequences of capsid protein VP1 of two type A foot-and-mouth disease viruses. *Virus Genes* 1989, 2, 283-291.
19. *Marquardt O., Rahman M. M., Freiberg B.*: Genetic and antigenic variance of foot-and-mouth disease virus type Asia 1. *Arch. Virol.* 145, 149-157.
20. *Martinez M. A., Hernández J., Piccone M. E., Palma E. L., Domingo E., Knowles N. J., Mateu M. G.*: Two mechanisms of antigenic diversification of foot-and-mouth disease virus. *Virology* 1991, 184, 695-706.
21. *Mason P. W., Pacheco J. M., Zhao Q. Z., Knowles N. J.*: Comparisons of the complete genomes of Asian, African and European isolates of a recent foot-and-mouth disease virus type O pandemic strain (PanAsia). *J. Gen. Virol.* 2003, 84, 1583-1593.
22. *Maxam A. M., Gilbert W.*: A new method for sequencing DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1977, 74, 629-637.
23. *Mittal M., Tosh C., Hemadri D., Sanyal A., Bandyopadhyay S. K.*: Phylogeny, genome evolution, and antigenic variability among endemic foot-and-mouth disease virus type A isolates from India. *Arch. Virol.* 2005, 150, 911-928.
24. *Muthuchelvan D., Venkataramanan R., Hemadri D., Sanyal A., Tosh C.*: Sequence analysis of recent Indian isolates of foot-and-mouth disease virus serotypes O, A and Asia 1 from clinical materials. *Acta Virol.* 2001, 45, 159-167.
25. *Nagendrakumar S. B., Reddy G. S., Chandran D., Thiagarajan D., Rangarajan P. N., Srinivasan V. A.*: Molecular characterization of foot-and-mouth disease virus type C of Indian origin. *J. Clin. Microbiol.* 2005, 43, 966-969.
26. *Nayak B., Patnaik B., Tosh C., Sanyal A., Hemadri D., Patil S. S., Venkataramanan R.*: Genetic and antigenic analysis of type A food-and-mouth disease viruses isolated in India during 1987-1996. *Acta Virol.* 2001, 45, 13-21.
27. *Paprocka G.*: Wirus pryszczycy i jego budowa molekularna. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 753-756.
28. *Piccone M. E., Lopez J. W., Blanco C., Samuel A. R., König G., Viera P. J., Sepulveda L. M., Davies P. R., Maradei E., Palma E. L., Knowles N. J.*: Genetic relationships between recent and historical isolates of foot-and-mouth disease viruses from South America. *Europic 2000: XI<sup>th</sup> Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses*, Baia delle Zagare, Mattinata, Italy 25-31 May 2000.
29. *Reid S. M., Ferris N. P., Hutchings G. H., De Clercq K., Newman B. J., Knowles N. J., Samuel A. R.*: Diagnosis of foot-and-mouth disease by RT-PCR: use of phylogenetic data to evaluate primers for the typing of viral RNA in clinical samples. *Arch. Virol.* 2001, 146, 2421-2434.
30. *Rico-Hesse R., Pallansch M. A., Nottay B. K., Kew O. M.*: Geographic distribution for wild poliovirus type 1 genotypes. *Virology* 1987, 160, 311-322.
31. *Röhler H., Olechnowitz A. F.*: Maul-und-Klauenseuche. *VEB Gustav Fischer Verlag, Jena* 1980, s. 60.
32. *Samuel A. R., Knowles N. J.*: Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes). *J. Gen. Virol.* 2001, 82, 609-621.
33. *Sangare O., Bastos A. D. S., Marquardt O., Venter E. H., Vosloo W., Thomson G. R.*: Molecular epidemiology of serotype O foot-and-mouth disease virus with emphasis on West and South Africa. *Virus Genes* 2001, 22, 345-351.
34. *Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R.*: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1977, 74, 5463-5467.
35. *Tosh C., Sanyal A., Hemadri D., Venkataramanan R.*: Phylogenetic analysis of serotype A foot-and-mouth disease virus isolated in India between 1977 and 2000. *Arch. Virol.* 2002, 147, 493-513.
36. *Vosloo W., Dwarka R. M., Bastos A. D. S., Esterhuysen J. J., Sahle M., Sangare O.*: Molecular epidemiological studies of foot-and-mouth disease virus in sub-Saharan Africa indicate the presence of large numbers of topotypes: implications for local and international control. *Proceedings of the Open Session of the EUFMD Research Group. Crete, Greece* 12-15 October 2004, s. 149-158.

Adres autora: doc. dr hab. Grażyna Paprocka, ul. Wodna 7, 98-220 Zduńska Wola; e-mail: grazyna@piwzp.invar.net.pl