

Strategia stosowania szczepionek zależna od charakteru choroby zakaźnej

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Vaccination strategy dependent on the character of the infectious disease

Summary

The role of vaccines in the control of different infectious diseases of animals and in the eradication of their etiological agents in their organisms (carriership) was evaluated. The following diseases were the subject of this review: foot and mouth disease, classical swine fever, highly pathogenic avian influenza, Aujeszky's disease, infectious bovine rhinotracheitis and diseases caused by facultatively pathogenic microorganisms. After a time period when the "stamping out" method was recommended, in some cases totally replacing vaccination, the present approach particularly with regards to eradication and gaining or regaining the status of free zones or countries of the disease in question, was presented. Using the vaccination of non infected animals around the zone of disease occurrence, especially with marker vaccines and the application of DIVA strategy, which enables differentiating infected and vaccinated animals, a more effective and less expensive way leading to the eradication of infection and of elimination of the disease being the prerequisite of the status of freedom of disease was proposed. The paper indicates that in relation to diseases caused by facultatively pathogenic microorganisms the role of vaccines is restricted to their control. Since a commonly occurring carriership without an influence on the productivity of animals occurs, in this case the eradication is without importance.

Keywords: control, eradication, vaccines, DIVA strategy

Czynne uodpornienie zwierząt przy użyciu szczepionek przeciw chorobom zakaźnym zajmuje ważną pozycję w zespole działań stosowanych w ich profilaktyce i zwalczaniu. Przeciwdziałają one w różnym stopniu, zależnie od ich skuteczności i rodzaju choroby, pojawianiu się objawów klinicznych i śmiertelności, u ulegających zakażeniu, uprzednio szczepionych zwierząt. Ograniczają w stadzie, w którym krąży patogen, liczbę nosicieli i siewców, zmniejszając również ilość wydalanego do środowiska zarazka. Niestety, nie udaje się po wyłącznym ich zastosowaniu eradykacja choroby, co zgodnie z definicją tego pojęcia oznacza jej totalną eliminację, będącą konsekwencją zlikwidowania przyczyny, czyli zarazka (17). Wywołane bowiem u szczepionego osobnika, nawet przy zastosowaniu wysoce skutecznej szczepionki uodpornienie swoiste, nie eliminuje u wszystkich zwierząt w skali stada nosicielstwa i siewstwa odnośnego patogenu. Mimo to szczepionki mogą przyczynić się znacznie do eradykacji infekcji, a tym samym choroby zakaźnej, kiedy stosowane są obok innych działań, np. bioasekuracji oraz wybijania zwierząt zakażonych i podejrzanych o zakażenie, czego przykładem jest księgosusz lub pryszczycza (3). Odgrywają analogiczną rolę w eliminacji wścieklizny psów (3). W nawią-

zaniu do powyższego przedstawione zostaną różnice w sposobach stosowania szczepionek i efektach profilaktyki swoistej, zależne od rodzaju choroby zakaźnej, a zwłaszcza etiopatogenezy.

Pryszczycza

W przypadku pryszczycy wobec niemożności zapobiegania nosicielstwu i siewstwu wirusa pryszczycy u zwierząt uodpornionych skutecznymi szczepionkami zaprzestano, zwłaszcza w Europie, w ciągu drugiej połowy XX wieku stosowania stałych, masowych szczepień profilaktycznych. Rezygnowano nawet ze szczepień przeciw pryszczycy zwierząt niezakażonych wokół ognisk choroby. Postępowanie takie zastąpiono wybijaniem wszystkich racicowych zwierząt chorych na pryszczycę, zakażonych bezobjawowo i podejrzanych o zakażenie. Tego rodzaju postępowanie określone zostało terminem „stamping out”. Równocześnie utylizacji przez spalanie lub zakopywanie podlegały ich zwłoki, a likwidacji wszystkie produkty pochodzące od tych zwierząt, zgodnie z dyrektywą Rady Europy Unii Europejskiej: 2003/85/WE z 29 września 2003 r. Realizowano postępowanie sanitarno-weterynaryjne, jak: kwarantannę zwierząt przed wprowadzeniem do cyklu produkcyjnego, kontrolę ich przemiesz-

czeń przy maksymalnym ograniczeniu ruchu i dezynfekcję pomieszczeń oraz sprzętu, który był w kontakcie ze źródłem wirusa, a zwłaszcza z chorymi zwierzętami lub nosicielami i siewcami wirusa nie wykazującymi objawów chorobowych (12).

Ze względu na olbrzymie koszty łączące się z metodą „stamping out” oraz protesty społeczne związane z paleniem nierzadko setek tysięcy zwierząt racicowych, co miało miejsce w związku z epizootią pryszczycy w Wielkiej Brytanii w roku 2001, gdzie wybito 4 mln sztuk bydła, ponad 2 mln owiec i kóz oraz 600 000 świń – Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt (OIE) i Komisja Europejska UE dopuszcza obecnie możliwość stosowania szczepień zdrowych zwierząt racicowych wokół ognisk lub stref występowania pryszczycy. Mogą być zatem tworzone strefy buforowe przeciwdziałające szerzeniu się tej choroby (13, 15). W tym kontekście obecne znaczenie zastosowania szczepionek przeciwpryszczycowych w procesie eradykacji obrazują wyniki uzyskane w zwalczaniu epizootii pryszczycy w 2001 r. w Holandii (12). Zastosowano tam, równolegle z bioasekuracją i metodą wybijania w ogniskach choroby zwierząt racicowych, szczepienia interwencyjne zwierząt nie zakażonych, które następnie również wybito. Takie postępowanie umożliwiło odzyskanie statusu kraju wolnego od pryszczycy, czyli jej eradykacji, już po 3 miesiącach od likwidacji ostatniego szczepionego zwierzęcia. Na podstawie analizy kosztów okazało się, że takie postępowanie było tańsze od metody „stamping out”, co miało miejsce w Wielkiej Brytanii.

Opracowanie szczepionek markerowych przeciw pryszczycy oraz odpowiednich zestawów diagnostycznych, umożliwiających odróżnienie zwierząt zakażonych od zwierząt szczepionych, czyli stosowanie strategii DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals), co znajduje się w stadium końcowym, zwiększy zapewne znaczenie tego rodzaju biopreparatów w likwidacji bezobjawowego nosicielstwa oraz w odzyskaniu statusu kraju względnie regionu wolnego od pryszczycy. Bliższe dane na ten temat znajdują się w następującej publikacji (13).

Klasyczny pomór świń

Licząc od 1980 r., zwalczanie klasycznego pomoru świń (Classical Swine Fever, CSF), włącznie do jego eradykacji, opierało się na wybijaniu zwierząt zakażonych i podejrzanych o zakażenie przy wprowadzonym zakazie szczepień, którymi poprzednio obejmowano niekiedy całą populację świń danego państwa, a z reguły strefy wokół ognisk CSF. Jednak obserwacje szeregu epizootii tej choroby dowiodły, że likwidacja jej przyczyny, w tym bezobjawowych nosicieli CSFV, opierająca się wyłącznie na wybijaniu, jest bardzo kosztowna, szczególnie w regionach o intensywnej produkcji oraz dużym zagęszczeniu ferm świń (9). Związane jest to w szczególności z tak zwanym wyprzedzającym wybiciem świń z chlewni znajdujących

się w sąsiedztwie ognisk choroby (pre-emptive culling). Toteż obecnie uważa się, że ten sam cel może być osiągnięty przez wyprzedzające szczepienie przeciw CSF (zamiast wybijania) świń w fermach sąsiadujących z ogniskami choroby, przy niższych nakładach finansowych i uniknięciu niehumanitarnego masowego uboju. Istotne jest, by czas między nabyciem odporności a zagrożeniem ze strony CSF był możliwie jak najkrótszy. Dodatkowo za pożądane uznano ze strony Unii Europejskiej, by opracowane zostały szczepionki znakowane i zestawy diagnostyczne, umożliwiające strategię DIVA (7). Jak dotychczas, licencję uzyskały 2 szczepionki markerowe, których szczepy szczepionkowe wytwarzają najbardziej immunogeny antygen wirusa CSF, czyli glikoproteinę E2. Otrzymuje się ją dzięki ekspresji wprowadzonego do genomu bakulowirusa określonego odcinka genomu wirusa CSV, w drodze rekombinacji (10). Wykrycie zatem wyłącznie przeciwciał swoistych dla E2, a nie innych, swoistych dla pozostałych antygenów CSFV wskazuje, że chodzi o świnię szczepioną, które nie zetknęły się z terenowym wirusem zjadliwym. Jednakże w chwili obecnej testy służące do odróżniania świń szczepionych od zakażonych wymagają udoskonalenia, co aktualnie ma miejsce (4). W chwili, kiedy tego rodzaju testy zostaną szerzej udostępnione do praktycznego stosowania, stanie się jeszcze bardziej uzasadnione zastąpienie wyprzedzającego wybijania wyprzedzającym szczepieniem, co podniesie znaczenie szczepionek w eradykacji wirusa i likwidacji CSF.

Ptasia grypa

Kolejną chorobą zakaźną o zasięgu światowym jest wysoce patogenna grypa ptasia, wywołana aktualnie przez wysoce chorobotwórczy podtyp H5N1 wirusa grypy typu A. Podobnie jak w przypadku zwalczania i eradykacji pryszczycy lub CSF, zależnie od dynamiki szerzenia się choroby i gęstości zagrożonych infekcją ferm drobiu, obok metody „stamping out” tworzy się strefy buforowe, w których prowadzone są masowe szczepienia przeciw ptasiej grypie. Zastosowanie znajdują tam, obok konwencjonalnych, w miarę możliwości szczepionki znakowane, umożliwiające odróżnienie ptaków szczepionych od zakażonych przy posługiwaniu się strategią DIVA przy użyciu odpowiednich testów serologicznych, zwłaszcza ELISA (6, 20).

Choroba Aujeszky'ego

Kolejną chorobą zakaźną w kontekście oceny znaczenia profilaktyki swoistej w jej zwalczaniu i eradykacji jest choroba Aujeszky'ego świń (AD). Wywołana jest, podobnie jak poprzednio omówione choroby, przez jeden, bezwzględnie chorobotwórczy drobnoustrój, to jest wirus choroby Aujeszky'ego (ADV). Cechuje się jednak mniejszą dynamiką szerzenia i wywołuje mniejsze straty gospodarcze niż pryszczycy czy CSF, chociaż również stanowi ważny cel uwal-

niania krajów od jej występowania, co generalnie obniża straty oraz sprzyja, a nawet stanowi podstawę, dla eksportu żywych zwierząt. Podobnie jak wyżej, należy tu odróżnić pojęcie zwalczania choroby (control) od eradykacji, to jest uwalniania stad zwierząt od zakażenia wirusem AD.

Równoległe z profilaktyką ogólną, w tym przestrzeganiem bioasekuracji, nabywania świń wyłącznie ze stad, w których prowadzone są regularne badania monitoringowe w kierunku AD, prowadzona jest profilaktyka swoista. Znaczenie jej w ograniczaniu strat, a nawet eradykacji, jest znaczące. Dużym postępem jest obecna dostępność szczepionek delecyjnych, w których szczepionkowy pozbawiony jest genu kodującego ekspresję glikoproteiny E (gE). Ich zastosowanie umożliwia serologiczne odróżnienie świń szczepionych od zakażonych, czyli stosowanie strategii DIVA. Bardziej skuteczne okazały się szczepionki zawierające żywe atenuowane szczepy ADV niż szczepionki inaktywowane. Doświadczenia krajów Unii Europejskiej – Niemiec, Francji oraz USA – wskazują, że intensywny program szczepień przy równoczesnym serologicznym monitoringu uwalnianego od infekcji stada stwarza szanse stosunkowo szybkiej (2-3 lata) eradykacji infekcji ADV w danej populacji świń (1, 11).

O stopniu trudności i kosztach związanych z uwalnianiem świń od AD świadczy następujące postępowanie odnoszące się przede wszystkim do stad świń o pełnym cyklu produkcji. Wprowadzone tam podstawowe uodpornienie stada loch i knurów polega na dwukrotnym podaniu szczepionki wszystkim svinom w odstępie miesiąca. Następnie całe stado podstawowe należy szczepić co 4 miesiące, niezależnie od stanu fizjologicznego samic. Wprowadzane do stada loszki i knurki szczepione są dwukrotnie jw., a później co 4 miesiące. Warchlaki szczepi się w 10.-12. i 14.-16. tygodniu życia lub jednokrotnie w 12. tygodniu życia. Po dwóch latach stosowania takiego programu oraz eliminacji w tym czasie z chlewni wszystkich zwierząt stada podstawowego, które były w niej w momencie rozpoczęcia szczepień, należy pobrać od odpowiedniego odsetka loch stada podstawowego krew i testem ELISA określić odsetek świń zakażonych. W przypadku niskiego wskaźnika seroreagentów, badaniom serologicznym poddaje się całe stado podstawowe. Wszystkie samice i knury reagujące dodatnio po odchowaniu przez nie prosiąt trzeba wyeliminować z hodowli, czyli poddać ubojowi i utylizacji. Następnie dla kontrolowania stanu zdrowotnego chlewni co pół roku pobierana jest krew od określonego, w zależności od wielkości stada, odsetka loch w celu bieżącej kontroli co do występowania AD. Wszystkie ujawnione serologicznie dodatnio osobniki należy natychmiast wyeliminować ze stada. Po wyeliminowaniu ze stada podstawowego wszystkich samic zakażonych terenowym szczepem wirusa, oraz dwukrotnym, w odstępie 6 miesięcy, serologicznym badaniu całego stada pod-

stawowego i uzyskaniu w tym badaniu wyłącznie wyników ujemnych, uznaje się chlewnię za wolną od AD.

Z przedstawionych danych wynika, iż w procesie eradykacji infekcji w fermie oraz szerzej w regionie czy całym państwie szczepienia profilaktyczne, zwłaszcza przy zastosowaniu skutecznych szczepionek znakowanych (delecyjnych), mają duże znaczenie. Jednakże należy mieć świadomość, że osiągnięcie likwidacji choroby uwarunkowane jest dodatkowo wielkim wysiłkiem organizacyjnym oraz skutecznością w działaniu tak zainteresowanych właścicieli zwierząt, jak też personelu weterynaryjnego; oprócz tego następuje po kilkuletnim lub nawet dłuższym okresie. Wymaga dysponowania dużymi środkami finansowymi. Przykładowo, rząd federalny USA wydatkował w ciągu 10 lat realizowania programu zwalczania AD w jednym tylko stanie, to jest w Ohio, 72 miliony USD, co stanowiło tylko część koniecznych potrzeb dostarczanych również z innych źródeł (2).

Zakaźne zapalenie nosa i tchawicy bydła

Zakaźne zapalenie nosa i tchawicy bydła (Infectious Bovine Rhinotracheitis, IBR) powodowane przez bydłęcy herpeswirus typu 1 (Bovine Herpesvirus typ 1, BHV-1), stanowi kolejną, wywołaną przez bezwzględnie chorobotwórczy drobnoustrój chorobę zakaźną, w odniesieniu do której zostanie oceniona rola profilaktyki swoistej w zwalczaniu i eradykacji. Jak wynika z Raportu Komisji Europejskiej, Komitetu Naukowego Zdrowia Zwierząt i Dobrostanu Zwierząt oraz szeregu innych publikacji (14), w zwalczaniu infekcji bydła wywołanej przez BHV-1 znalazły zastosowanie atenuowane lub inaktywowane szczepionki konwencjonalne oraz delecyjne lub podjednostkowe. W szeregu państw europejskich oraz w USA uzyskano pozytywne wyniki w zwalczaniu choroby przy utrzymującym się stanowisku o braku skuteczności w eradykacji. Przeszkodą jest występujące zjawisko latencji, uniemożliwiające w pełni wiarygodne wykrycie wszystkich nosicieli i siewców wirusa w związku z występowaniem około 5% seronegatywnych, latentnie zakażonych zwierząt (seronegative latent carriers, SNLC). Z przedstawionych danych wynika, że immunoprofilaktyka infekcji wywołanej przez BHV-1 posiada znaczenie w zwalczaniu IBR, zwłaszcza w krajach, względnie regionach, o dużym zagęszczeniu chowu cieląt i częstym występowaniu wymienionej choroby, natomiast nie nadaje się do jej eradykacji, czyli likwidacji źródła zakażenia innych zwierząt.

Choroby wywołane przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze

W odniesieniu do scharakteryzowanych chorób, wywołanych przez jeden bezwzględnie chorobotwórczy patogen, jego eradykacja, jak wykazano, jest możliwa w oparciu o kompleksowe postępowanie sanitarno-weterynaryjne, przy istotnym udziale szczepionek,

zwłaszcza znakowanych. Oprócz tego rodzaju chorób istnieją jednak choroby wywołane przez warunkowo chorobotwórcze drobnoustroje, które mogą normalnie występować w organizmie, a w pewnych okolicznościach ujawniają swe patogenne działanie, w tym zakaźność i wywoływanie choroby u zwierząt dotychczas zdrowych. W takiej sytuacji eradykacja przyczyny nie wchodzi w rachubę, a ograniczenie wywołanych strat związane jest wyłącznie ze zwalczaniem tego rodzaju chorób. Do czynników etiologicznych tej grupy chorób zalicza się m.in. określone serotypy, względnie szczepy, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Circovirus* typ 2 (porcine circovirus 2, PCV-2). Ujawniają one chorobotwórczość często w zespole kilku gatunków drobnoustrojów, przy roli wiodącej jednego spośród nich, np. *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, cirkowirusa typu 2 (porcine circovirus 2, PCV-2). Powstają wtedy zespoły chorobowe o wieloczynnikowej etiologii. W ich profilaktyce i zwalczaniu główne znaczenie ma zapewnienie gwarantujących potrzeby organizmu zwierzęcia warunków środowiskowych. Natomiast profilaktyka swoista ma istotny udział wspomagający, zmierzający do obniżania strat. Bliższe dane na ten temat przedstawia następująca publikacja (8). W szeregu przypadków ze względu na polietiologiczny charakter infekcji, występujących zwłaszcza u młodych osobników, zastosowanie znajdują dostępne szczepionki wieloważne, zawierające immunogeny przeciw infekcjom wywołanym przez kilka drobnoustrojów.

W odniesieniu do roli szczepionek w profilaktyce chorób wywołanych przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze na uwagę zasługuje przykład szczepionki zawierającej immunogeny cirkowirusa PCV-2. W wyniku stosowania jej nawet w fermach, w których nie występowała kliniczna postać poodсадzeniowego, wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń (PMWS) następowało zmniejszenie zachorowań i obniżenie wywołanych strat przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze, które zazwyczaj dołączają się do infekcji wywołanej przez PCV-2. Jak wynika z danych tłumaczących to zjawisko, szczepienie ograniczało na tyle infekcję subkliniczną powodowaną wymienionym wirusem, że nie następowała wywołana przez niego immunosupresja, umożliwiającą innym warunkowo chorobotwórczym drobnoustrojom intensywniejsze namnażanie się i ujawnienie swej chorobotwórczości (16, 18).

W podsumowaniu całości stwierdza się, że immunoprofilaktyka swoista, mimo niemożności likwidowania tym sposobem nosicieli i siewców drobnoustrojów bezwzględnie chorobotwórczych, odgrywa nie tylko w zwalczaniu, ale też w eradykacji ważnych chorób zakaźnych zwierząt, znaczącą rolę. Ma to miejsce wtedy, kiedy łączona jest z innymi sposobami postępowania weterynaryjnego. Umożliwia bowiem ogra-

niczenie metody „stamping out”, a tym samym kosztów związanych z osiąganiem statusu kraju lub regionu wolnego od choroby zakaźnej. Znaczenie szczepień zwiększa stworzona w ostatnich latach dostępność szczepionek znakowanych i strategii DIVA. Natomiast w odniesieniu do chorób lub zespołów chorobowych wywołanych przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze, gdzie nie wchodzi w grę ich eradykacja, szczepienia zapobiegawcze przyczyniają się znacząco do ograniczenia strat.

Piśmiennictwo

1. Andersson H. A., Lexman J. A., Robertsson N., Lundeheim J., Wierup M.: Agricultural policy and social return to eradication programs: The case of Aujeszky's disease in Sweden. *Prev. Vet. Med.* 1997, 29, 311-328.
2. Bech-Nielsen S., Bowman G. L., Miller G. Y., Orloski-Snyder K. O., Burkholder R. H., Dodaro S. J.: Pseudorabies (Aujeszky's disease) eradication progress and program cost in Ohio, USA. *Prev. Vet. Med.* 1995, 22, 41-53.
3. Blancou J., Pastoret P. P.: Role of Vaccination. *Veterinary Vaccinology*. Pastoret P. P., Blancou J., Vannier P., Verschueren C. (eds.) 1997, 597-609.
4. Blome S., Maindl-Böckner A., Loeffen W., Thuer B., Moennig V.: Assessment of classical swine fever diagnostics and vaccination performance. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2006, 25, 1025-1038.
5. Capua I., Cattoli G., Marangon S. W., Bardotelli L., Ortali G.: Strategies for the control of avian influenza in Italy. *Veterinary Record*, 2002, 150 (7), 223.
6. Capua I., Terregino C., Cattoli G., Mutinelli F., Rodriguez J. F.: Development of DIVA – Differentiating infected from vaccinated animals – strategy using a vaccine containing a heterologous neuraminidase for the control of avian influenza. *Avian Pathology* 2003, 32, 47-55.
7. Diagnostic Techniques and Vaccines for Foot – and Mouth Disease, Classical Swine Fever, Avian Influenza and other important OIE List A Diseases. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, European Commission. Adopted 24-25th April 2003.
8. Haesebrouck F., Pasmans F., Chers K., Maes D., Ducatelle R., Decostere A.: Efficiency of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect? *Veterinary Microbiology* 2004, 100, 255-268.
9. Meuwissen M. P., Horst S. H., Huirne R. B., Dijkhuizen A. A.: A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Preventive Veterinary Medicine*. 1999, 42, 249-270.
10. Moormann R. J., Bouma A., Kramps J. A., Terpstra C., De Smit H. J.: Development of the classical swine fever subunit marker vaccine and comparison diagnostic test. *Veterinary Microbiology*. 2000, 73, 209-219.
11. Müller T., Batza H. J., Schluter H., Conraths F. J., Mettenleiter T. C.: Eradication of Aujeszky's disease in Germany. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 2003, 50, 207-213.
12. Niedbalski W., Kęsy A.: Pryszczycza – nosicielstwo wirusa u przeżuwaczy. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 115-118.
13. Niedbalski W., Wijaszka T., Kęsy A.: Szczepionki markerowe – nowe możliwości zapobiegania i zwalczania pryszczycy. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 279-282.
14. Report on Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines and the accompanying diagnostic tests. Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, 25 October 2000.
15. Salt J.: Vaccination against FMD. *Veterinary Vaccinology*. Pastoret P. P., Blancou J., Vanier P., Verschuren C. (eds.), Amsterdam, Elsevier 1997, 641-649.
16. Todd D.: Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. *Avian Pathology* 2000, 29, 373-394.
17. Toma B., Benet J. J., Dufour B., Eloit M., Montou M., Sana M.: *Glossaire d'Epidemiologie Animale Editions du Point Veterinaire* 1991, 227-229.
18. Truszczyński M., Pejsak Z.: Mechanizm chorobotwórczości cirkowirusów ze szczególnym uwzględnieniem poodсадzeniowego, wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń i wskazania do jest zwalczania. *Medycyna Wet.*, w druku.
19. van Drunen Littel-van den Hurk S.: Rationale and perspective on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Veterinary Microbiology* 2006, 113, 275-282.
20. van Oirschot J.: Diva vaccines that reduce virus transmission. *J. Biotechnol.* 1999, 73, 195-205.