

Choroba niebieskiego języka – szczepienia profilaktyczne w Europie

WIESŁAW NIEDBALSKI, ANDRZEJ KĘSY

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

Niedbalski W., Kęsy A.

Bluetongue – prophylactic vaccinations in Europe

Summary

The article reviews the history, present status and the future of Bluetongue BT vaccines and prophylactic vaccinations against BT in Europe. To date, attenuated (modified live viruses, MLV) and inactivated virus preparations vaccines against BTV serotypes 2 and 4 were developed and used in the field. Moreover, virus-like particles (VLPs) produced from recombinant baculovirus and live recombinant vaccinia or canarypox virus-vectored vaccines were tested in the laboratory. The main aims of BT vaccination strategy are as follows: to prevent clinical disease, the reduction of the spread of the BT virus in the environment and to safeguard the movement of susceptible animals between affected and free zones. The mass vaccinations of all susceptible animals are the most efficient veterinary method to fight against BT and a harmonized strategy for vaccinations in Europe would improve the intra-Community trade of live animals. The amount of BT vaccines needed for the protection of the European livestock exceed 220 million doses, including about 150 million doses of BTV serotype 8. In January 2008, the Intervet International B.V., as the first vaccine producer, has developed a vaccine against BTV serotype 8 for sheep and cattle and declared the delivery of the first quantities of vaccine on the European trade in May 2008. The BT eradication policy combining administrative methods and prophylactic vaccination of all susceptible animals, completed with application of insecticides – pesticides to control *Culicoides* midges in the environment – is currently the most effective method of fighting against BT.

Keywords: bluetongue (BT), vaccines, prophylactic vaccinations in Europe

Zmiany w środowisku i intensyfikacja obrotu zwierzętami na skalę lokalną oraz międzynarodową, a także rozwój wymiany towarowej i komunikacji osobowej na skalę globalną sprzyjają szerzeniu się chorób zakaźnych zwierząt. Obecnie dla hodowli zwierząt w krajach UE największe zagrożenie stanowi choroba niebieskiego języka (BT), wywołana przez serotyp 8 wirusa choroby niebieskiego języka (BTV). Choroba pojawiła się niespodziewanie w Europie północno-zachodniej w sierpniu 2006 r. i przyczynia się do poważnych strat w populacji zwierząt podatnych, głównie owiec, bydła i kóz. W 2006 r. stwierdzono 2047 ognisk BT (22), a rok później ich liczba wzrosła już do ponad 31 000 (24). Aktualne dane wskazują, że tylko w okresie od 1 maja 2007 r. do 24 czerwca 2008 r. w Europie odnotowano ogółem 46 719 ognisk choroby, w tym najwięcej we Francji (21 186), Niemczech (ponad 11 000)

oraz Belgii i Holandii (<http://eubtnet.izs.it/btnet.reports/EpidemiologicalSituation.html>) (tab. 1). Polska jest krajem wolnym od BT, jednakże przeprowadzone

Tab. 1. Ogniska choroby niebieskiego języka (BTV-8) w Europie w okresie 01.05.2007-24.06.2008 (według Animal Disease Information System – ADNS)

Kraj	Bydło	Małe przeżuwacze	Dziki przeżuwacze	Stada mieszane	Brak danych odnośnie do gatunku	Ogółem
Belgia	681	902	–	1	5286	6870
Czechy	2	–	–	–	–	2
Dania	–	1	–	–	–	1
Francja	19 303	1509	–	350	24	21 186
Niemcy	6308	4822	27	199	55	11 411
Włochy	5	–	–	–	–	5
Luksemburg	991	252	1	68	–	1312
Holandia	2722	3049	1	7	1	5780
Hiszpania	11	–	–	1	–	12
Szwajcaria	6	–	–	1	–	7
Wielka Brytania	108	8	–	16	1	133
Ogółem	30 137	10 543	29	643	5367	46 719

w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym – Państwowym Instytucie Badawczym (PIWet-PIB) w latach 2006-2007 serologiczne badania przeglądowe zwierząt podatnych sprowadzonych do Polski z krajów UE, w których stwierdzono ogniska BT po 15 czerwca 2006 r., wykryły 33 seroreagenty (13, 14). Ponadto badanie wirusologiczne metodą real-time RT-PCR próbek krwi pobranych na antykoagulant (EDTA), wykazało obecność materiału genetycznego BTV w 11 próbkach krwi od serologicznie dodatniego bydła sprowadzonego z Niemiec (12).

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zapobieganie i zwalczanie BT obejmuje, między innymi: kwarantannę zwierząt i stad, w których wykryto zwierzęta serologicznie dodatnie, zakaz ich przemieszczania, dezynsekcję zwierząt, budynków i otoczenia chemicznymi środkami owadobójczymi, utylizację zwłok zwierząt padłych oraz wyznaczenie strefy ochronnej i nadzoru, w których prowadzi się przeglądy entomologiczne i serologiczne zwierząt. Zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1266/2007, strategia zwalczania BT przewiduje także szczepienia profilaktyczne w celu uodpornienia zwierząt podatnych i ograniczenia występowania klinicznych przypadków choroby. Zakłada się, że użycie szczepień przyczyni się do zminimalizowania strat ekonomicznych z powodu padnięć zwierząt oraz zmniejszenia produktywności hodowli a przede wszystkim umożliwi uchylenie embarga na międzynarodowy handel zwierzętami.

Tab. 2. Szczepienia przeciwko chorobie niebieskiego języka w Europie

Szczepionka	Okres szczepień	Kraj	Gatunek zwierząt
Atenuowana (MLV)			
BTV-2	2000-2004	Francja (Korsyka)	owce
	2002-2006	Włochy	owce, bydło
	2000-2001	Hiszpania (Baleary)	owce
BTV-4	2004-2006	Hiszpania	owce
	2005-2006	Portugalia	owce
BTV-2, -4	2003-2004	Francja (Korsyka)	owce, kozy
	2004-2006	Włochy	owce, bydło
	2003	Hiszpania (Baleary)	owce, kozy
BTV-2, -9	2002-2006	Włochy	owce, kozy
BTV-16	2004	Francja (Korsyka)	owce
BTV-2, -4, -16	2004	Włochy	owce, bydło
BTV-2, -4, -9, -16	2004	Włochy	owce, bydło
BTV-2, -4, -9	2005-2006	Włochy	bydło, owce, kozy
Inaktywowana			
BTV-2	2005	Francja (Korsyka)	owce
BTV-4	2005-2006	Hiszpania, Portugalia	owce, bydło
BTV-2, -4	2005-2006	Włochy	owce
	2006	Francja (Korsyka)	owce
BTV-8	2008-	Wielka Brytania, Francja, inne (?)	owce, bydło, kozy

W artykule przedstawiono historię, stan obecny oraz perspektywę w zakresie szczepień i dostępnych szczepionek przeciwko BT w Europie. Dotychczas opracowano i zastosowano w warunkach terenowych szczepionki atenuowane (modified live viruses-MLV) oraz szczepionki inaktywowane przeciwko serotypom 2 i 4 wirusa BT. Ponadto w warunkach laboratoryjnych oceniano skuteczność szczepionek rekombinowanych z użyciem bakulowirusowego systemu ekspresji genu kodującego cząstki pseudowirusowe (virus like particles-VLPs) oraz szczepionki żywe, uzyskane w oparciu o rekombinowany wirus krowianki lub ptasiej ospy, które posiadają właściwość ekspresji wybranych genów BTV odpowiedzialnych za indukowanie odpowiedzi immunologicznej (15, 16).

Szczepionki atenuowane (MLV)

W USA, Turcji, Republice Południowej Afryki (RPA) i Indiach szczepionki atenuowane dla kilku serotypów BTV stosuje się od wielu lat. Szczepionki te produkuje się z użyciem wirusa BT atenuowanego metodą namnażania *in vitro* w kolejnych pasażach w hodowlach komórkowych linii ciągłych lub na zarodkach kurzych. Odpowiedź immunologiczna na te szczepionki jest bezpośrednio skorelowana ze zdolnością do namnażania się wirusa atenuowanego w organizmie szczepionego zwierzęcia. Szczepionki te są relatywnie tanie w produkcji komercyjnej. Po zaszczepieniu indukują silną odpowiedź immunologiczną już po jednokrotnej immunizacji zwierząt, a ich skuteczność w zapobieganiu powstaniu klinicznych objawów choroby została udowodniona (4). Wadą MLV jest ich wpływ na zmniejszenie produkcji mleka u owiec w okresie laktacji (20) oraz ronienia i działanie teratogenne u ciężarnych samic (8, 10). Kolejne ryzyko użycia MLV wynika z możliwości rozprzestrzeniania się atenuowanego wirusa przez wektory oraz ewentualna możliwość jego rewersji do postaci zjadliwej, a także prawdopodobieństwo nabycia przez wirus szczepionkowy nowych cech w organizmie szczepionego zwierzęcia lub wektora w wyniku rekombinacji genów wirusa szczepionkowego z „dzikimi” (terenowymi) szczepami wirusa BT aktualnie występującymi w środowisku (5). Wykazano również wpływ szczepionek na pogorszenie się jakości nasienia tryków (mniejsza objętość ejakulatu, koncentracja plemników oraz ich ruchliwość i przeżywalność) (2).

Szczepionki atenuowane wyprodukowane w Onderstepoort Biological Products w RPA wykorzystywane są do obowiązkowych szczepień profilaktycznych niektórych gatunków zwierząt od 2000 r. w Hiszpanii, Francji, Włoszech i Portugalii (tab. 2). Aktualnie dostępne są w handlu szczepionki ate-

nuowane monowalentne, wyprodukowane w oparciu o serotypy wyizolowane w różnych regionach świata. Szczepionki wyprodukowane w RPA są dopuszczone do stosowania na obszarze UE po kontroli jałowości oraz nieszkodliwości i skuteczności przeprowadzonej na zwierzętach. Nieszkodliwość szczepionek atenuowanych zależy do ich składu, serotypu wirusa BT oraz liczby serotypów zawartych w szczepionce. Szczepionka monowalentna serotyp 2 użyta do immunizacji ponad 4 mln owiec i kóz na Korsyce (2001 do 2004) i we Włoszech (od 2002 r.) była nieszkodliwa, ale jej zastosowanie do uodpornienia 320 000 owiec na Majorce spowodowało wystąpienie objawów chorobowych u około 0,13% szczepionego pogłowia owiec (9). Wykazano także nieszkodliwość szczepionki monowalentnej serotyp 4, którą zastosowano w 2004 r. u owiec na Korsyce oraz szczepionki biwalentnej serotyp 2 i 4 użytej w 2003 r. na Majorce. W odróżnieniu, szczepionka biwalentna serotyp 2 i 9 użyta u owiec i kóz we Włoszech w 2002 r. spowodowała wzrost ciepłoty ciała oraz obrzęk głowy u około 0,1% zwierząt przez okres 7-14 dni po szczepieniu (http://gis2.izs.it:777/bluetongue/doc_tec/danni_vacc/vaccini.pdf). Jednakże ta sama szczepionka okazała się nieszkodliwa dla bydła, podobnie jak szczepionka triwalentna, skonstruowana z serotypów 2, 4 i 9, użyta w 2005 r. u ponad 1 mln owiec, kóz i bydła. Inna szczepionka triwalentna zawierająca serotypy 2, 4 i 16 zastosowana na Sardynii w 2004 r. wywołała chorobę o typowym przebiegu, a przyczyną była nieprawidłowo przeprowadzona atenuacja wirusa BT serotyp 16 (11). Doświadczalne zakażenie bydła dawką $2 \times 10^{5,8}$ TCID₅₀/ml wirusa homologicznego po 7 miesiącach od uodpornienia szczepionką atenuowaną serotyp 2 zapobiega powstaniu wiremii u co najmniej 90,5% szczepionych zwierząt (18). Badania serologiczne owiec i bydła immunizowanych różnymi szczepionkami atenuowanymi wykazały występowanie przeciwciał swoistych u ponad 80% zwierząt (17, 19).

Szczepionki inaktywowane

Pierwszą wyprodukowaną i użytą w Europie szczepionką inaktywowaną była szczepionka zawierająca serotyp 2 wirusa BT. Później opracowano i zastosowano z dobrym rezultatem na Korsyce, w Hiszpanii, Portugalii i we Włoszech szczepionkę monowalentną serotyp 4 i biwalentną, zawierającą serotypy 2 i 4 wirusa BT. Najnowszą, wprowadzoną na rynek europejski jest szczepionka przeciwko BTV serotyp 8 (tab. 2). Szczepionki te, jeśli są właściwie wyprodukowane, są w pełni bezpieczne oraz wysoce skuteczne (3). Ponadto, przy ich użyciu istnieje możliwość różnicowania zwierząt szczepionych od zakażonych wirusem BT. Wadą tych szczepionek jest wysoki koszt produkcji, ze względu na konieczność użycia dużej ilości antygeny oraz potrzeba rewakcytacji z powodu stosunkowo krótkiego czasu trwania skutecznej odporności po jednokrotnej immunizacji. Badanie nieszkod-

liwości tych szczepionek wykazało ich dobrą tolerancję u owiec oraz brak efektów ubocznych, takich jak: podwyższenie ciepłoty ciała, utrata masy ciała oraz dysfunkcje reprodukcyjne. Niektóre szczepionki powodowały odczyn poszczepienny miejscowy o różnym nasileniu i częstotliwości. Objawy te ustępowały zwykle po 3 dniach, ale w niektórych przypadkach obserwowane były nawet przez 2 tygodnie. Ponadto, u około 0,02% owiec uodpornianych szczepionką zawierającą serotyp 2 obserwowano szok anafilaktyczny występujący u zwierząt uprzednio immunizowanych szczepionką atenuowaną serotyp 4. Szczepionki te były również dobrze tolerowane przez bydło; nie obserwowano efektów ubocznych ani reakcji miejscowych nawet po iniekcji 5 dawek szczepionki (9). Występowanie i narastanie wiremii po doświadczalnym zakażeniu zwierząt wcześniej immunizowanych szczepionkami inaktywowanymi jest najbardziej obiektywnym kryterium oceny ich skuteczności. Wiremię wykazuje się metodami real-time PCR lub izolacji wirusa w hodowli wrażliwych komórek (6). Szczepionki inaktywowane wywołują odpowiedź immunologiczną już po jednokrotnej immunizacji, a po ponownym szczepieniu obserwuje się dynamiczny wzrost miana przeciwciał. U bydła po jednokrotnej immunizacji szczepionkami serotyp 4 lub 2 i 4 występuje słaba odpowiedź humoralna, której nie wykrywa się po 21 dniach od szczepienia. Jednakże powtórna immunizacja przyczynia się do stymulacji wytwarzania przeciwciał swoistych neutralizujących o wysokim i długo utrzymującym się mianie (9). U owiec wykazano, że już jednokrotne szczepienie szczepionką serotyp 2 chroniło je zarówno przed pojawieniem się objawów klinicznych, jak i wiremią, przez co najmniej 6 miesięcy (3). Szczepionka zawierająca serotyp 4 wirusa BT podana bydłu dwukrotnie, z 24 godzinną przerwą, chroniła przed wystąpieniem wiremii po doświadczalnym zakażeniu homologicznym wirusem BT. U bydła immunizowanego szczepionką biwalentną serotyp 2 i 4 nie obserwowano wiremii w okresie do jednego miesiąca po powtórnej immunizacji. Jednokrotna immunizacja szczepionką serotyp 4 chroniła przed wystąpieniem wiremii zwierzęta zakażone po 2 tygodniach od szczepienia, a powtórne szczepienie chroniło przed wiremią zwierzęta zakażone aż do 7 miesięcy po szczepieniu (9).

Szczepionki rekombinowane

Do chwili obecnej opracowano kilka szczepionek rekombinowanych, które charakteryzowały się wysoką immunogennością oraz pełną nieszkodliwością. Rekombinowany wirus krowianki, w którym zachodziła ekspresja genów kodujących białka kapsydu VP2 i VP5 australijskiego izolatu wirusa BT serotyp 1, indukował syntezę przeciwciał odpornościowych u szczepionych owiec oraz zapewniał odporność na zakażenie homologicznym wirusem BT (7). Także rekombinowany wirus ospy owiec i kóz (capripox), w którym

zachodziła ekspresja białka VP7 wirusa BT, częściowo chronił owce po zakażeniu wirusem BT (23), natomiast białka VP2/VP5 wirusa BT powstałe w wyniku ekspresji w rekombinowanym wirusie ospy ptasiej (canarypox) zapewniały pełną odporność szczepionych owiec (1). Wszystkie wymienione szczepionki rekombinowane są nadal w trakcie badań laboratoryjnych i termin ich zastosowania w terenie na szeroką skalę pozostaje ciągle nieokreślony.

Szczepienia przeciwko BTV serotyp 8 w Europie – stan obecny i perspektywy

Analizując dynamikę zachorowań na BT w Europie północno-zachodniej w okresie od 2006 do 2008 r., hodowcy oraz służby weterynaryjne krajów europejskich zainteresowani są wprowadzeniem swoistych szczepień profilaktycznych wszystkich zwierząt podatnych na zakażenie (<http://www.warmwell.com>). Z inicjatywy Generalnego Dyrektoriatu Zdrowia i Ochrony Konsumentów przy Komisji Europejskiej, w grudniu 2007 r., w Brukseli odbyło się spotkanie Grupy Badawczej odpowiedzialnej za harmonizację strategii szczepień przeciwko BT w Europie (http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/bluetongue_conference_en.htm). Uczestnicy – przedstawiciele krajów członkowskich uzgodnili, że masowe szczepienia wszystkich podatnych zwierząt przeciwko BT są aktualnie najskuteczniejszą metodą walki z chorobą, a harmonizacja szczepień w Europie wpłynie na poprawę handlu wewnątrzspółnotowego zwierzętami. Dla krajów wolnych od BT lub w niewielkim stopniu dotkniętych chorobą, podstawowym celem szczepień będzie zapobieganie dalszemu szerzeniu się choroby na terytorium państw członków EU, poprzez wprowadzenie szczepień ochronnych na obszarze 200 km wokół strefy zapowietrzonych. W przypadku państw, w których sytuacja w zakresie BT jest szczególnie niekorzystna, szczepienia zostaną wprowadzone głównie dla ograniczenia strat spowodowanych wystąpieniem choroby w formie klinicznej. Zgodnie z ustaleniami, władze weterynaryjne krajów członkowskich UE zobowiązane zostały do przedłożenia Komisji Europejskiej planu szczepień na 2008 r. oraz zapotrzebowania na szczepionkę. Całkowite zapotrzebowanie na szczepionkę przeciwko BT oszacowano na 220 ml dawek, z tego dla serotypu 8 na około 150 mln dawek. Komisja Europejska deklaruje refundację 100% kosztów zakupu szczepionki oraz 50% kosztów administracyjnych. Polska zgłosiła potrzebę zakupu 12 mln dawek szczepionki dla bydła i 700 000 dawek dla owiec, uwzględniając dwukrotne szczepienie w ciągu roku całego поголовья tych zwierząt.

Przedstawiciele firm produkujących szczepionkę przeciwko BT (Intervet, Pfizer, Fort Dodge, Syva, I.Z.S. Teramo, Calier, CZV Veterinaria, Merial, Ceva Sante Animal) na spotkaniu w Brukseli w dniu 21 listopada 2007 r. zapewnili, że za 6-8 miesięcy dostarczą na rynek europejski żadaną ilość szczepionki. W stycz-

niu 2008 r. Intervet International B.V. jako pierwszy opracował szczepionkę inaktywowaną Bovilis BTV8 dla bydła i owiec i zadeklarował dostarczenie pierwszych partii na rynek w maju 2008 r. Zgodnie z zaleceniem producenta, szczepionka w dawce 1 ml powinna być podana bydłu 2-krotnie, z trzytygodniową przerwą, a małym przeżuwaczom – jednokrotnie. Sugeruje się także rewakcyzację na około 2 tygodnie przed okresem ryzyka, tzn. przed rozpoczęciem aktywności wektora w środowisku. Wielka Brytania otrzymała pierwszą partię 1 mln dawek szczepionki w dniu 30 kwietnia 2008 r. (www.defra.gov.uk/bluetongue). W odpowiedzi na oświadczenie władz włoskich odnośnie do zakazu importu nie szczepionych zwierząt, również Ministerstwo Rolnictwa Francji w dniu 14 maja 2008 r. zezwoliło na rozpoczęcie szczepienia bydła przeciwko BT. Na podstawie zapotrzebowania na szczepionkę przeciwko BT przedstawionego Komisji Europejskiej przez pozostałe kraje członkowskie, można wnioskować, że również one zamierzają zastosować szczepienia, zgodnie z opracowanym dla potrzeb każdego kraju planem szczepień przeciwko BT (<http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures>). Władze weterynaryjne Polski nie planują masowych szczepień profilaktycznych całego поголовья zwierząt w 2008 r., a zamówiona szczepionka będzie użyta tylko do szczepień interwencyjnych, w przypadku stwierdzenia choroby na terytorium naszego kraju. Dalsze działania w tym zakresie uzależnione będą od rozwoju sytuacji epizootycznej w Polsce.

Na podstawie aktualnych danych epizootycznych BT w Europie, tempa szerzenia się choroby, występowania wektorów oraz wyników laboratoryjnych badań serologicznych i wirusologicznych wykonanych w PIWet-PIB, zagrożenie Polski chorobą niebieskiego języka można ocenić jako wysokie. W związku z tym konieczne jest pilne skoordynowanie działań zarówno inspekcji weterynaryjnej, jak i hodowców oraz laboratoriów diagnostycznych, każdy w zakresie swoich kompetencji, do podjęcia odpowiednich działań zapobiegawczych oraz utrzymania pełnej gotowości. Polityka zwalczania BT polegająca na połączeniu metod administracyjnych i swoistej profilaktyki w postaci szczepień ochronnych całego поголовья zwierząt, uzupełniona o zastosowanie insektycydów – środków chemicznych ograniczających populację *Culicoides* w środowisku, stanowi obecnie najskuteczniejszą metodę walki z chorobą.

Piśmiennictwo

1. Boone J. D., Balasurriya U. B., Karaca K., Audonnet J. C., Yao J., He L., Nordgren R., Monaco F., Savini G., Gardner I. A., Maclachlan N. J.: Recombinant canarypox virus vaccine co-expressing genes encoding the VP2 and VP5 outer capsid proteins of bluetongue virus induces high level protection in sheep. *Vaccine* 2007, 25, 672-678.
2. Breard E., Pozzi N., Sailleau C., Durand B., Catinot V., Sellem E., Dumont P., Guerin B., Zientara S.: Transient adverse effect of the attenuated bluetongue virus vaccine on the quality of the ram semen. *Vet. Rec.* 2007, 160, 431-435.
3. Di Emidio B., Nicolussi P., Patta C., Ronchi G. F., Monaco F., Savini G., Ciarelli A., Caporale V.: Efficacy and safety studies on an inactivated vaccine against bluetongue virus serotype 2. *Vet. Ital.* 2004, 40, 640-644.

4. *Dungu B., Gerdes T., Smith T.*: The use of vaccination in the control of bluetongue in southern Africa. *Vet. Ital.* 2004, 40, 616-622.
5. *Erasmus B.*: Bluetongue in sheep and goats. *Aust. Vet. J.* 1975, 51, 165-170.
6. *Jimenez-Clavero M. A., Agüero M., Miguel E. S., Mayoral T., Lopez M. C., Ruano M. J., Romero E., Monaco F., Polci A., Savini G., Gomez-Tejedor C.*: High throughput detection of bluetongue virus by a new real-time fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction: Application on clinical samples from current Mediterranean outbreaks. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2006, 18, 7-17.
7. *Lobato Z. I., Coupar B. E., Gray C. P., Lunt R., Andrew M. E.*: Antibody responses and protective immunity to recombinant vaccinia virus – expressed bluetongue virus antigens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1997, 59, 293-309.
8. *MacLachlan N. J., Osburn B. I., Scott J. L., Ghalib H. W.*: Orbivirus infection of the bovine fetus. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1985, 178, 79-84.
9. MAPA. Report of efficacy test performed in Spain with different commercially available vaccine against BTV4 in cattle and sheep. MAPA report, 2006.
10. *Monaco F., Bonfini B., Zaghini M., Antonucci D., Pini A., Savini G.*: Vaccination of cattle using monovalent modified-live vaccine against bluetongue virus serotype 2: innocuity, immunogenicity, and effect on pregnancy. *Vet. Ital.* 2004, 40, 671-675.
11. *Monaco F., Camma C., Serini S., Savini G.*: Differentiation between field and vaccine strain of bluetongue virus serotype 16. *Vet. Microbiol.* 2006, 116, 45-52.
12. *Niedbalski W.*: Application of real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for the detection of bluetongue virus. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2008, 52, 189-193.
13. *Niedbalski W., Kęsy A.*: Seroprevalence of antibodies against bluetongue virus in the animals imported to Poland from the EU countries. *Polish J. Vet. Sci.* 2008, 11, 205-208.
14. *Niedbalski W., Kęsy A.*: Występowanie przeciwciał przeciwko wirusowi choroby niebieskiego języka w surowicy zwierząt sprowadzonych do Polski. *Medycyna Wet.* 2008, 64, 76-79.
15. *Roy P.*: Genetically engineered structure-based vaccine for bluetongue disease. *Vet. Ital.* 2004, 40, 594-600.
16. *Roy P., French T., Erasmus B. J.*: Protective efficacy of virus-like particles for bluetongue disease. *Vaccine* 1992, 10, 28-32.
17. *Savini G., Monaco F., Calistri P., Panichi G., Ruiu A., Leone A., Caporale V.*: Neutralising antibody response in cattle after vaccination with monovalent modified-live vaccine against bluetongue virus serotype 2. *Vet. Ital.* 2004, 40, 668-670.
18. *Savini G., Monaco F., Citarella R., Calzetta G., Panichi G., Ruiu A., Caporale V.*: Monovalent modified-live vaccine against bluetongue virus serotype 2: immunity studies in cows. *Vet. Ital.* 2004, 40, 664-667.
19. *Savini G., Monaco F., Conte A., Migliaccio P., Casaccia C., Salucci S., Di Ventura M.*: Virological and serological response of sheep following field vaccination with bivalent modified-live vaccine against bluetongue virus serotypes 2 and 9. *Vet. Ital.* 2004, 40, 631-634.
20. *Savini G., Monaco F., Facchinei A., Pinoni C., Salucci S., Cofini F., Di Ventura M.*: Field vaccination of sheep with bivalent modified-live vaccine against bluetongue virus serotypes 2 and 9: effect on milk production. *Vet. Ital.* 2004, 40, 627-630.
21. *Savini G., MacLachlan N. J., Sanchez-Vizcaino J.-M., Zientara S.*: Vaccines against bluetongue in Europe. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2008, 31, 101-120.
22. *Trębas M., Smreczak M., Orłowska A., Żmudziński J. F.*: Epizootiologia choroby niebieskiego języka. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 1273-1276.
23. *Wade-Evans A. M., Romero C. H., Mellor P., Takamatsu H., Anderson J., Thevasagayam J., Fleming M. J., Mertens P. P., Black D. N.*: Expression of the major core structural protein (VP7) of bluetongue virus, by a recombinant capripox virus, provides partial protection of sheep against a virulent heterotypic bluetongue virus challenge. *Virology* 1996, 220, 227-231.
24. *Wijaszką T., Truszczyński M.*: Występowanie na świecie w latach 2006-2007 ważnych epizootii, według OIE. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 1270-1272.

Adres autora: doc. dr hab. Wiesław Niedbalski, ul. Zielona 48/4, 98-220 Zduńska Wola; e-mail: wieslaw@piwzp.invar.net.pl