

Teschowirusowe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego świń – aktualny stan wiedzy

IWONA MARKOWSKA-DANIEL, MAŁGORZATA POMORSKA-MÓL, ANDRZEJ KOWALCZYK

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

Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Kowalczyk A.

Teschovirus encephalomyelitis – current state of knowledge

Summary

Teschovirus encephalomyelitis of pigs is an enzootic disease caused by neurotropic Porcine teschovirus serotype 1 (PTV-1). This disease occurs exclusively in pigs. Teschovirus encephalomyelitis was first described in Czechoslovakia in 1929. During the 1950s the diseases occurred in many European countries as well as in Canada, USA, Australia and Asia. Recently there have been no epidemics of teschovirus encephalomyelitis, however there has been serological evidence that apathogenic or low-pathogenic virus variants circulate in pig populations. Eleven serotypes of PTV have been described. An infection with a virulent strain of serotype 1 is associated with a classical course of the diseases with high morbidity and mortality of pigs at each age. A milder form of the disease can be caused by other PTV serotypes, including PTV from 2 to 6, 9 and 10. Beside neurological disorders, teschoviral infections are associated with reproductive failures, diarrheas, pneumonias and cutaneous lesions in pigs.

Keywords: Teschovirus, encephalomyelitis, pigs, diagnosis, eradication

Teschowirusowe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego świń (*Teschovirus encephalomyelitis*), zwane dawniej chorobą cieszyńską, talfańską lub enterowirusowym zapaleniem mózgu i rdzenia, jest enzootycznym schorzeniem powodowanym przez neurotropowy wirus *Porcine teschovirus* serotyp 1 (PTV-1) (5, 14).

Systematyka

Do niedawna PTV był zaliczany do rodziny *Picornaviridae*, rodzaju *Enterovirus*, gatunku *Porcine Enterovirus* (PEV). Analiza genomu wirusa wykazała jednak, że różni się on zdecydowanie od pozostałych wirusów tego rodzaju, co spowodowało, że został on reklasyfikowany do nowo utworzonego rodzaju *Teschovirus*, jako gatunek *Porcine teschovirus* (13).

Budowa wirusa

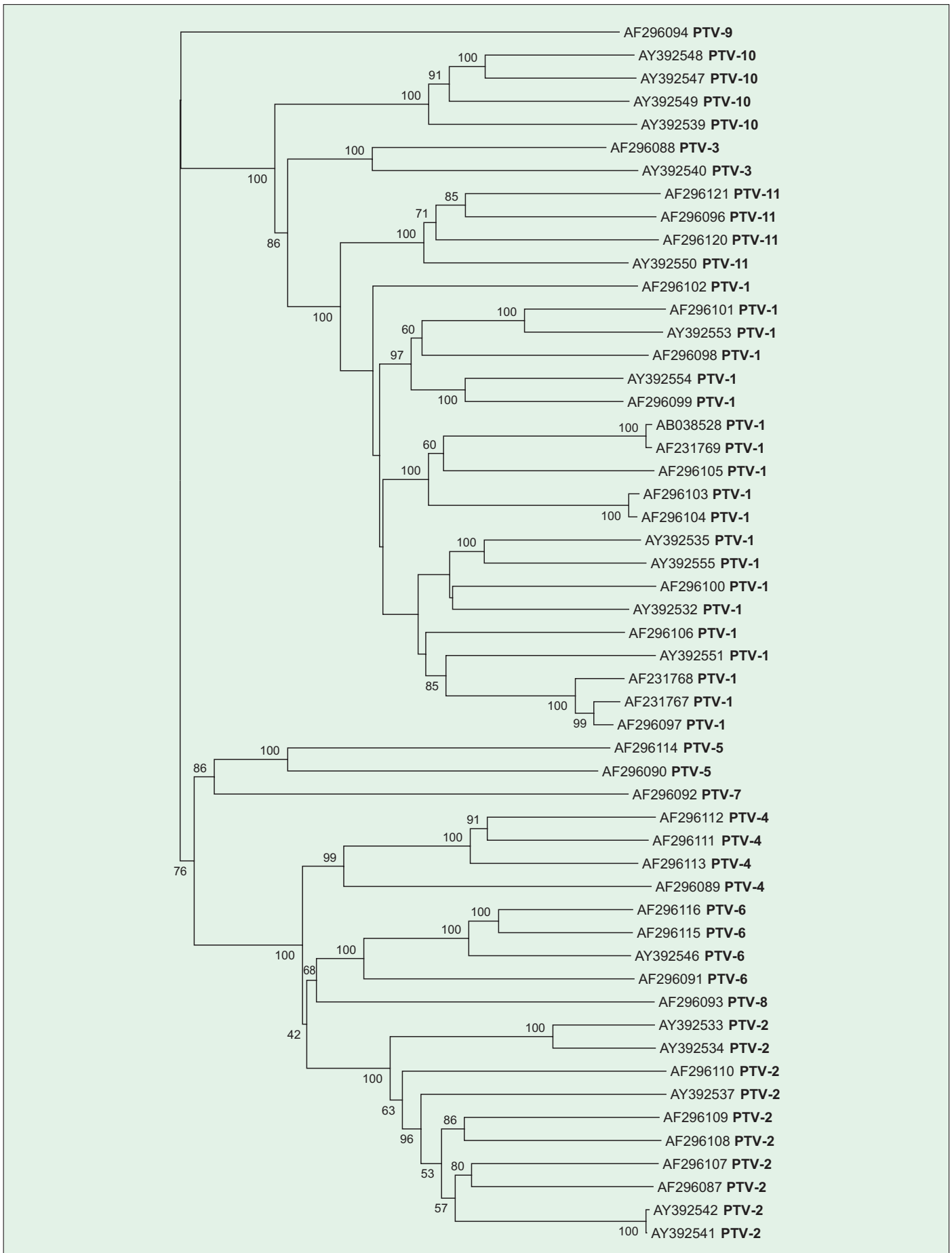
Podobnie jak u pozostałych wirusów z rodziny *Picornaviridae*, cząstkę PTV stanowi nieosłonięty kapsyd o strukturze sferycznej, wielkości 25-30 nm. Kapsyd zbudowany jest z 60 kopii czterech białek strukturalnych ułożonych w dwudziestościan. Materiałem genetycznym wirusa jest jednoniciowy kwas RNA połączony z białkiem podstawowym kapsydu (6).

Początkowo szczepy reprezentujące odmienne serotypy PEV, na podstawie wywoływanego efektu cytopatycznego, replikacji w różnych hodowlach ko-

mórkowych oraz wyników testów serologicznych, zostały podzielone na trzy grupy (1, 4, 5). Grupę I stanowiły szczepy serotypów od 1 do 7 i od 10 do 13, grupę II reprezentujące serotyp 8, a grupę III zaliczane do serotypów 9 i 10 (4, 17, 18). Następnie szczepy o serotypach 1-7 i 11-13 zostały przeklasyfikowane do gatunku *Porcine teschovirus* (reprezentują one serotypy PTV od 1 do 10). Aktualnie został opisany także 11 serotyp PTV (1, 7). Z kolei szczepy należące do serotypów 8-10 PEV, które nie powodowały objawów neurologicznych u zakażonych nimi zwierząt, pozostawiono w rodzaju *Enterovirus*, aczkolwiek pojawiają się sugestie, że serotyp PEV-8 powinien być przeniesiony do nowego rodzaju w obrębie *Picornaviridae* (2, 5, 7, 17). Na ryc. 1. przedstawiono drzewo filogenetyczne, skonstruowane metodą NJ na podstawie zdeponowanych w Banku Genów serwisu NCBI sekwencji fragmentu genu kodującego białko L PTV. Obrazuje ono zróżnicowanie pokrewieństwa szczepów PTV izolowanych na świecie.

Występowanie

Porcine teschovirus jest patogenem występującym ubikwitalnie w populacjach świń oraz dzików na świecie (3, 14). Większość neurotropowych szczepów PTV należy do serotypów 1-3. W obrębie serotypu pierwszego spotyka się nie tylko szczepy o dużej zjadliwości



Ryc. 1. Drzewo filogenetyczne skonstruowane metodą NJ na podstawie zdeponowanych w Banku Genów serwisu NCBI sekwencji fragmentu genu kodującego proteinę L PTV

ci, ale także wiele izolatów neurotropowych o słabej zjadliwości. Zakażenie zjadliwymi szczepami serotypu 1 skutkuje wiremiami oraz wystąpieniem klasycznego przebiegu teschowirusowego zapalenia mózgu i rdzenia, charakteryzującego się wysoką zachorowalnością oraz śmiertelnością zwierząt w każdym wieku. Tak przebiegającą chorobę stwierdza się wyłącznie u świń. Pierwsze doniesienia o jej wystąpieniu pochodzą z 1929 roku z obszaru byłej Czechosłowacji, a ściślej z miejscowości Cieszyn (stąd dawna nazwa choroby) (1, 3). Do 1950 roku choroba występowała w większości krajów europejskich oraz w Kanadzie, Stanach Zjednoczonych, Australii i Azji. Obecnie jest ona rzadko spotykana i wydaje się, że jest ograniczona do pewnych obszarów geograficznych (Madagaskar, Europa Wschodnia). W pozostałych rejonach występują sporadyczne przypadki infekcji o łagodnym przebiegu lub zakażenia bezobjawowe, które pozostają nierozpoznane (4, 15). Po raz pierwszy łagodny przebieg choroby wywołany przez PTV-1 opisano w 1957 r. w Wielkiej Brytanii i nazwano chorobą talfańską, oraz w Europie Środkowej, gdzie określano go jako *poliomyelitis suum* lub łagodne enzoootyczne porażenie świń (3). Łagodniejsze formy zapalenia mózgu i rdzenia mogą być powodowane także przez szczepy innych serotypów PTV (od 2 do 6, 9 i 10) oraz inne patogeny (7).

Chociaż rozpoznano różne podtypy antygenowe wirusa, nie wykryto markerów wirulencji, determinujących ich zjadliwość. Obok zaburzeń neurologicznych, zakażenia teschowirusami są związane z występowaniem zaburzeń w rozrodcie, biegunek, zapaleń płuc oraz zmian dermatologicznych (4, 9, 10, 13).

Jak wspomniano powyżej, aktualnie nie obserwuje się już występowania epidemii związanych z PTV, jednakże badania serologiczne potwierdzają obecność w populacji świń apatogennych wariantów wirusa lub szczepów o niskiej zjadliwości (14). W badaniach prowadzonych na terenie Litwy w 2003 r., które objęły swym zasięgiem 8 regionów kraju i blisko 1700 świń, obecność przeciwciał dla PTV-1 stwierdzono w surowicy świń pochodzących ze wszystkich 28 ferm objętych badaniem. Jedynie w 2,3% przypadków wyniki testu neutralizacji wirusa były ujemne. Jednocześnie nie wyizolowano PTV-1 w żadnym z 29 przypadków nagłej śmierci świń (w wieku 2-4 miesięcy) pochodzących z tych samych ferm. Pozytywne wyniki badań serologicznych oraz negatywne epidemiologicznych, klinicznych i wirusologicznych mogą wskazywać na krążenie w omawianym środowisku apatogennych szczepów PTV-1 (14).

W Europie Zachodniej ostatni przypadek infekcji PTV-1 odnotowano w 1980 roku, w Austrii. W ciągu ostatnich 12 lat do OIE zgłoszono wystąpienie choroby na Białorusi (1996, 1999 i 2005), Ukrainie (1996-2005), Łotwie (1997, 2000-2002), w Mołdawii (2002-2004), Rumunii (2002), Rosji (2004), na Madagaskarze (1996-2000, 2002, 2004-2005), w Ugandzie (2001) i Japonii (2002). Należy jednak zaznaczyć, że – z wy-

jątkiem przypadku japońskiego – nie ma pewności, czy diagnoza była postawiona jedynie na podstawie badań klinicznych, czy była także potwierdzona badaniami laboratoryjnymi.

W 2008 r. opublikowano pracę opisującą przypadek wystąpienia teschowirusowego zapalenia mózgu i rdzenia u prosiąt w Japonii, u których wyizolowano jednocześnie PCV2 i stwierdzono PMWS. Może to wskazywać na możliwość rozwoju pełnoobjawowego zakażenia PTV u zwierząt z upośledzoną odpornością np. po zakażeniu patogenami o działaniu immunosupresyjnym (15).

Patogeneza i przebieg choroby

Pomimo że choroba znana jest od wielu lat, jej patogeneza nie jest do końca wyjaśniona. Dla przykładu: nie jest znany mechanizm ani droga, jaką wirus przedostaje się do centralnego układu nerwowego (CUN) (15). Transmisja wirusa odbywa się drogą pośrednią lub przez bezpośredni kontakt z zakażonymi świniami. Wrotami wejścia dla teschowirusa są: jama nosowa oraz jama ustna (6). Na zakażenie wrażliwe są wszystkie grupy wiekowe świń.

Po połknięciu wirus ulega replikacji w obrębie przewodu pokarmowego oraz w otaczającej tkance limfaticznej, nie powodując zmian w nabłonku jelit. Wraz z kałem jest rozsiewany z miejsca replikacji przez kilka tygodni. U niektórych świń, zwłaszcza zakażonych szczepem zjadliwym, może dojść do wiremii i rozszerzenia się infekcji na CUN (1).

Objawy kliniczne

W przebiegu zakażenia zjadliwym szczepem PTV objawy kliniczne pojawiają się najczęściej po około 2 tygodniach od kontaktu z wirusem (okres inkubacji waha się od 1 do 4 tygodni) (1). Początkowo stwierdza się niespecyficzne objawy prodromalne, takie jak: wysoka gorączka (do 41,5°C), utrata apetytu, apatia. Jednym z pierwszych objawów nerwowych jest ataksja. W miarę postępu choroby pojawiają się objawy związane z dysfunkcją układu nerwowego, tj. oczopląs, opistotonus, nerwowość, zaburzenia koordynacji ruchów, sztywność i drżenie mięśni, konwulsje oraz śpiączka (16). Wskutek porażenia ośrodka termoregulacji może dojść do spadku ciepłoty wewnętrznej ciała poniżej normy fizjologicznej (nawet do 26°C) (12). Może także wystąpić zgrzytanie zębami, cmokanie, wokalizacja związana z bólem, głos chorych zwierząt może być zmieniony, czasami pojawia się afonia. W ciężkim przebiegu choroby dosyć często obserwowany jest paraliż. Początkowo występuje on w postaci paraplegii kończyn tylnych, następnie postępuje dogłównowo, obejmując stopniowo wszystkie kończyny. Przebieg choroby jest zwykle ostry i kończy się śmiercią wskutek porażenia mięśni oddechowych i uduszenia, najczęściej w ciągu 3-4 dni po infekcji (1). W zakażeniach o łagodniejszym przebiegu zasadniczo występują ataksja i niedowłady, które rzadko

przechodzą w paraliż. Na zakażenie szczepami mniej zjadliwymi wrażliwe są jedynie młode świnię (prosięta ssące lub w okresie odsadzania). U prosiąt ssących mogą pojawić się sporadyczne objawy ze strony układu nerwowego po wprowadzeniu do stada nowego, nieobecnego dotychczas serotypu. Po przechorowaniu infekcji najczęściej powracają one do zdrowia.

Zmiany anatomopatologiczne

W zasadzie brak jest charakterystycznych zmian anatomopatologicznych, aczkolwiek na uwagę zasługuje fakt występowania u padłych lub dobitych świń zmian makroskopowych w obrębie CUN. Badaniem sekcyjnym stwierdza się obrzęk i przekrwienie mózgu oraz opon mózgowych, porażenie pęcherza moczowego (wypełnienie znaczną ilością moczu) i atonię jelit (nagromadzenie mas kałowych) (1).

Badanie histopatologiczne

Do badań histopatologicznych pobiera się próbki mózgu, mózdzku, międzymózgowia, rdzenia przedłużonego oraz odcinka szyjnego i lędźwiowego rdzenia kręgowego. Odpowiednio przygotowane skrawki barwi się używając konwencjonalnych metod. Wirus, replikując w CUN, powoduje zmiany charakterystyczne dla nieropnego zapalenia mózgu i rdzenia, z okołonaczyniowym naciekiem komórek jednojądrzastych, zwłaszcza w obrębie rdzenia kręgowego (1, 16). Zmiany tego typu obserwowane są także w istocie szarej międzymózgowia, mózdzku, rdzenia przedłużonego oraz w brzusznych rogach rdzenia kręgowego. U bardzo młodych zwierząt mogą one obejmować także grzbietowe rogi rdzenia kręgowego. Zmiany degeneracyjne w obrębie neuronów (chromatoliza, martwica, neuronofagia, zwyrodnienia aksonów) występują w późniejszym stadium choroby (1).

Diagnostyka

Rozpoznanie choroby opiera się na stwierdzeniu typowych objawów klinicznych i sekcyjnych połączonych ze zmianami histopatologicznymi w obrębie mózgu i rdzenia kręgowego. Jednak na podstawie samego obrazu klinicznego i zmian anatomo- oraz histopatologicznych nie można odróżnić teschowirusowego zapalenia mózgu i rdzenia świń od innych chorób o podobnym przebiegu. Dlatego do potwierdzenia diagnozy niezbędna jest izolacja wirusa lub jego materiału genetycznego (3). Wirusa PT izoluje się z próbek mózgu i rdzenia kręgowego zwierząt poddanych eutanazji we wczesnym stadium choroby. Po homogenizacji pobranego materiału inokuluje się nim odpowiednią hodowlę komórkową. Do izolacji PTV można zastosować zarówno hodowlę pierwotną nerki świni, jak i linie komórkowe np. PK-15. W tym miejscu warto zaznaczyć, że wirus replikuje jedynie w tkankach świńskiego pochodzenia. Jeżeli w badanym materiale jest obecny PTV w hodowli komórkowej pojawia się efekt cytopatyczny w postaci małych okrągłych

ognisk. Po kilku pasażach wirus zazwyczaj rośnie lepiej i powoduje wystąpienie typowego efektu cytopatycznego. Około 90% komórek ulega wówczas zniszczeniu, najczęściej po 18-96 godzinach od zakażenia hodowli (17). W związku z tym, że PTV jest patogenem opornym na działanie chloroformu, aby zapobiec kontaminacji komórek innymi wirusami, można dodać 5% tej substancji do płynu hodowlanego.

Izolacja wirusa jest procesem długotrwałym, a poza tym jego wykrycie nie daje informacji o właściwościach patogenu, np. serotypie, ilości, lokalizacji w tkance lub komórce czy związku pomiędzy obecnością wirusa a patogenezą obserwowanych zmian (16). Z tego powodu prowadzone są badania w kierunku opracowania szybszych i bardziej wiarygodnych technik, pozwalających nie tylko na wykrycie wirusa w badanym materiale, ale i jego identyfikację (5, 8). Tożsamość wirusa można potwierdzić przy użyciu przeciwciał monoklonalnych lub surowicy referencyjnej. Do tego celu najlepiej nadaje się test neutralizacji wirusa, immunofluorescencji pośredniej (IFA), odczyn wiązania dopełniacza, a także PCR (1, 11). Opublikowano już szereg prac, w których z powodzeniem zastosowano różne warianty techniki PCR do wykrywania PTV w materiale badanym, często z równoczesnym określeniem przynależności serotypowej (5, 8, 11, 13).

Preparaty utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie można wykorzystać do badań immunohistochemicznych. W odróżnieniu od izolacji wirusa, badanie immunohistochemiczne skrawków tkanek pozwala nie tylko na wykrycie wirusa, ale także ukazuje lokalizację antygeny w komórkach i tkankach. Technika ta może być użyteczną i szybką metodą w badaniach nad tropizmem oraz patogenezą zakażeń PTV (16). W doświadczeniu przeprowadzonym przez Sereika i wsp. (14) badaniem immunohistochemicznym materiału pochodzącego od zwierząt naturalnie zakażonych PTV-1 potwierdzono obecność wirusa w obrębie CUN, a ściślej w cytoplazmie neuronów i komórkach glejowych zlokalizowanych w rogach brzusznych rdzenia kręgowego oraz w pniu mózgu, ponadto w cytoplazmie komórek zwojowych w zwoju rdzeniowym (16). Nie wykryto antygeny w obrębie półkul mózgowych. Badaniu poddano także tkanki spoza układu nerwowego, PTV-1 wykryto w komórkach nabłonka oskrzelowego, w hepatocytach, w komórkach nabłonkowych migdałków oraz w splocie nerwów błony mięśniowej jelita cienkiego i grubego (16). W pozostałych tkankach i narządach (nerka, śledziona, serce, tchawica, ślinianki, język, przełyk, żołądek, pęcherz moczowy, pęcherzyk żółciowy, układ rozrodczy, trzustka, nadnercza, tarczyca, grasicca, oczy, skóra, mięśnie szkieletowe) wirusa nie wykryto (16).

Do identyfikacji wirusa stosuje się także metody mające na celu określenie serotypu szczepu. Serotypowanie PTV jest istotne z kilku powodów, do których niewątpliwie należą: odróżnienie wirulentnych szczepów PTV-1 od szczepów reprezentujących inne

serotypy, możliwość analizy związku pomiędzy serotypem a objawami klinicznymi, identyfikacji nowych serotypów czy wariantów i w związku z tym zapobieżenia ewentualnym wybuchom choroby, aczkolwiek o patogenności zarazka można się przekonać jedynie badaniami *in vivo* poprzez doświadczalne zakażenie prosiąt (5).

W rozpoznawaniu choroby przydatne są także badania serologiczne. Zwierzęta z bezobjawowym przebiegiem zakażenia oraz te, które przeżyły chorobę, produkują specyficzne przeciwciała. Z uwagi na fakt, że przeciwciała w stosunku do PTV-1 mogą występować w surowicy nawet 60% zdrowej populacji świń w Europie Centralnej, jednorazowe wykazanie ich obecności, nawet u świń z objawami neurologicznymi, nie daje podstaw do stwierdzenia, że czynnikiem etiologicznym choroby jest PTV-1. Przyjęto założenie, że dopiero 4-krotny wzrost miana przeciwciał w połączeniu z typowymi objawami klinicznymi może wskazywać, że czynnikiem powodującym chorobę u danego zwierzęcia był PTV-1 (1).

Do wykrywania przeciwciał swoistych dla PTV stosuje się test neutralizacji wirusa lub odczyn ELISA. Do diagnostyki serologicznej powinny być używane następujące szczepy standardowe: Talfan (PTV-1), T80 (PTV-2), Ob2 (PTV-3), PS36 (PTV-4), F26 (PTV-5), PS37 (PTV-6), F43 (PTV-7), UKG/173/74 (PTV-8), Ger-2899/84 (PTV-9), Ger-460/88 (PTV-10), Dresden (PTV-11). Za referencyjny został uznany szczep wyizolowany na terenie byłej Czechosłowacji podczas panującej tam epidemii choroby, powodujący ciężką postać teschowirusowego zapalenia mózgu i rdzenia.

W rozpoznaniu różnicowym choroby należy uwzględnić inne wirusowe zapalenia mózgu, zwłaszcza afrykański pomór świń o ostrym przebiegu, chorobę Aujeszky'ego, wściekliznę, chorobę obrzękową i zatrucie solą kuchenną. Z zaburzeniami ze strony układu nerwowego mogą przebiegać także inne intoksykacje, w tym neuropatie pokarmowe.

Zwalczanie

Brak jest metod leczenia teschowirusowego zapalenia mózgu i rdzenia świń. W przeszłości eradykację wirusa z obszaru Europy Centralnej osiągnięto poprzez prowadzenie szczepień pierścieniowych oraz eutanazję zwierząt i odpowiednie restrykcje w imporcie. Obecnie brak jest szczepionek przeciwko omawianej chorobie. Na fermach, w których choroba o łagodnym przebiegu występuje endemicznie, przed wprowadzeniem nowych loszek do rozrodu zaleca się ich miesięczną aklimatyzację, aby umożliwić przyszłym prosiątom uzyskanie odporności biernej.

Choroba ta znajduje się na liście B OIE. Jej zwalczanie reguluje szereg aktów prawnych. W Polsce jest to przede wszystkim Ustawa z dnia 11 marca 2004 r. O ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U. nr 69 poz. 625, załącznik 3, zawierający wykaz chorób zakaźnych zwierząt

podlegających obowiązkowi rejestracji oraz załącznik 4, który zawiera wykaz chorób zakaźnych zwierząt podlegających zakazowi szczepień, z późniejszymi zmianami). W ustawodawstwie unijnym Dyrektywą Rady z 27 czerwca 2002 r. (2002/60/WE) oraz Decyzją Komisji z 30 lipca 2008 r., zmieniającą Dyrektywę Rady 82/894/EWG, skreślono chorobę cieszyńską z wykazu chorób podlegających obowiązkowi zgłaszania właściwym organom państw członkowskich.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Teschovirus encephalomyelitis, [w:] OIE Terrestrial Manual 2008, 1146-1152.
2. Chun-Hsien Tseng, Hsiang-Jung Tsai.: Sequence analysis of a duck picornavirus isolate indicates that it together with porcine enterovirus type 8 and simian picornavirus type 2 should be assigned to a new picornavirus genus. *Virus Research* 2007, 129, 104-114.
3. Dauber M.: Identification of group I porcine enteroviruses by monoclonal antibodies in cell culture. *Vet. Microbiol.* 1999, 67, 1-12.
4. Kaku Y., Sarai A., Yosuke M.: Genetic reclassification of porcine enteroviruses. *J. Gen. Virol.* 2001, 82, 417-424.
5. Kaku Y., Murakami Y., Sarai A., Wang Y., Ohashi S., Sakamoto K.: Antigenic properties of porcine teschovirus 1 (PTV-1) Talfan strain and molecular strategy for serotyping of PTVs. *Arch. Virol.* 2007, 152, 929-940.
6. Knowles N. J.: Porcine Enteric Picornaviruses, [w:] *Diseases of Swine*. Wyd. 9, Blackwell Publishing 2006, 337-345.
7. Krumbholz A., Dauber M., Henke A., Birch-Hirschfeld E., Knowles N. J., Stelzner A., Zell R.: Sequencing of porcine enterovirus groups II and III reveals unique features of both virus groups. *J. Virol.* 2002, 76, 5813-5821.
8. Krumbholz A., Wurm R., Scheck O., Birch-Hirschfeld E., Egerer R., Hence A., Wutzler P., Zell R.: Detection of porcine teschovirus and enterovirus by LightCycler real-time PCR. *J. Virol. Methods* 2003, 113, 51-63.
9. Meyer R. C., Woods G. T., Simon J.: Pneumonitis in an enterovirus infection in swine. *J. Comp. Pathol.* 1966, 76, 397-405.
10. Nagai M., Hayashi M., Takai H., Kuroda Y., Hori N., Minami F., Nagato M., Komae H.: Detection of the genome of the Porcine Teschovirus and the Porcine Enterovirus from the central nervous systems of piglets with neural disorders. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc* 2005, 58, 607-610.
11. Palmquist J. M., Shirin M., Taku A., Kapur V., Goyal S. M.: Detection of porcine teschovirus and enterovirus type II by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2002, 14, 476-480.
12. Pejsak Z.: Ochrona zdrowia świń. PWR, Poznań 2007, s. 176-180.
13. Rosa A. La, Muscillo M., Grazia A. Di, Fontana S., Iaconelli M., Tollis M.: Validation of RT-PCR assay for molecular characterization of porcine Teschoviruses and Enteroviruses. *J. Vet. Med. B* 2006, 53, 257-265.
14. Sereika V., Lelesuis R., Zienius D.: Seroprevalence of antibodies against Porcine Teschovirus 1 in Lithuania. *Acta Vet. Brno* 2007, 76, 231-236.
15. Takahashi M., Seimiya Y., Seki Y., Yamada M.: A piglet with concurrent poli-encephalomyelitis due to porcine teschovirus and postweaning multi-systemic wasting syndrome. *J. Vet. Med. Sci* 2008, 70, 497-500.
16. Yamada M., Kozakura R., Kaku Y., Nakamura K., Yamamoto Y., Yoshii M., Miyazaki A., Tsunemitsu H., Narita M.: Immunohistochemical distribution of viral antigens in pigs naturally infected with porcine teschovirus. *J. Vet. Med. Sci.* 2008, 70, 305-308.
17. Zell R., Dauber M., Krumbholz A., Henke A., Birch-Hirschfeld E., Stelzner A., Prager D., Wurm R.: Porcine teschoviruses comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects. *J. Virol.* 2001, 75, 1620-1631.
18. Zell R., Dauber M., Prager D., Wurm R.: Detection of porcine enterovirus by nRT-PCR: differentiation of CPE groups I-III with specific primer set. *J. Virol. Methods* 2000, 88, 205-218.

Adres autora: prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: iwonamd@piwet.pulawy.pl