

# Nowe dane na temat zakażeń lentiwirusami małych przeżuwaczy

MONIKA OLECH, JACEK KUŹMAK

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

Olech M., Kuźmak J.

## Infections with small ruminant lentiviruses: updated facts and questions

### Summary

Small ruminant lentiviruses (SRLV), that is, caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) of goats and maedi-visna virus (MVV) of sheep, are two closely related retroviruses that cause chronic inflammatory disease. SRLV infections are distributed throughout most countries of the world, particularly in Europe, and are characterized by an insidious onset and slow progression. Infection is usually diagnosed by serological testing. The fact that caprine and ovine lentivirus sequences are interspersed within both species supports the existence of cross-species transmission. This paper brings together current information regarding possible impact of genetic diversity and cross-species infection on the effectiveness of serological tests and identifies future use of vaccination.

**Keywords:** small ruminant, lentiviruses, caprine arthritis-encephalitis virus, maedi-visna virus, cross-species transmission

Choroba maedi visna owiec i zapalenie stawów i mózgu kóz to jednostki chorobowe wywoływane przez wirusy – maedi visna virus (MVV) i caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) należące do rodzaju *Lentivirus* z rodziny *Retroviridae*. Z wyjątkiem Australii i Nowej Zelandii zakażenia tymi wirusami notowane są we wszystkich krajach, w których prowadzona jest hodowla owiec i kóz. Objawy kliniczne towarzyszące zakażeniu MVV i CAEV związane są z postępującymi zmianami zapalnymi, wywołwanymi infiltracją tkanek przez monocyty/makrofagi oraz limfocyty, głównie w płucach, stawach, gruczole mlekowej i ośrodkowym układzie nerwowym. Podczas gdy u owiec dominują głównie objawy ze strony układu oddechowego (ovine progressive pneumonia) i nerwowego, to u zakażonych kóz, szczególnie młodych osobników, występują przede wszystkim zapalenia wielostawowe. Obecnie jednak, w skali światowej, większość osobników zakażonych MVV i CAEV stanowią bezobjawowi nosiciele wirusa (4).

W Polsce nie prowadzi się regularnych przeglądów serologicznych stad, a objawy kliniczne zakażeń lentiwirusami notowane są u niewielkiego odsetka zwierząt. Wyniki badań serologicznych przeprowadzonych w latach 2007-2009 wykazały występowanie odczynów serologicznych średnio u około 18% zwierząt spośród 9072 zbadanych, pochodzących z 1028 stad. Najwyższy odsetek seroreagentów zanotowano w woje-

wództwie małopolskim (39,0%), dolnośląskim (27,7%) oraz kujawsko-pomorskim (25,6%), najmniejszy w łódzkim (5,7%), lubelskim (4,9%) i mazowieckim (3,3%) (24). Występowanie tych zakażeń związane jest ze znacznymi stratami ekonomicznymi w postaci zwiększonej śmiertelności, strat w produkcji mleka, rodzeniu słabych jagniąt, utraty masy ciała oraz strat pośrednich na skutek wtórnych zakażeń np. *Pasteurella haemolytica* i *Corynebacterium*. Ponieważ jak do tej pory nieznana jest profilaktyka swoista, a zakażone zwierzęta są nosicielami wirusa przez całe życie, jako sposób walki poleca się stosowanie programów uzdrawiania stad, polegających na badaniu serologicznym zwierząt i eliminowaniu seroreagentów. Dlatego tak duże znaczenie przywiązuje się do stosowania czułych i swoistych testów.

Jednak, jak wykazano na przestrzeni ostatnich lat, efektywność stosowanych testów, głównie typu ELISA, ograniczona jest faktem powszechnego występowania zakażeń wywołanych przez warianty genetyczne wirusów indukujących syntezę przeciwciał o zmienionym powinowactwie do białek antygenowych izolatu islandzkiego K1514 MVV, który najczęściej wykorzystywany jest jako antygen diagnostyczny. Warianty te powstają jako wynik zmienności genetycznej wirusów RNA, co jest zjawiskiem często spotykanym wśród lentiwirusów. Dotyczy to przede wszystkim genów env i gag, kodujących główne determinanty antygenowe

białek otoczki i kapsydu, wśród których częste mutacje prowadzą do powstania zmutowanych form tzw. *quasispecies*, czyli pseudogatunków. Rezultatem tego jest powstanie nowych wariantów antygenowych wirusa na drodze tzw. dryftu antygenowego, które indukują syntezę przeciwciał o zmienionym powinowactwie, co eliminuje możliwość ich wykrycia testami wykorzystującymi określone antygeny. Dlatego generalną zasadą w konstrukcji testów serologicznych okazał się dobór białek antygenowych mających charakter wysoce konserwatywnych domen. Poszukiwanie takich fragmentów białek w szeregu izolatów MVV i CAEV, dokonane przez Grego i wsp. (10) przy użyciu zachodzących na siebie syntetycznych peptydów, wykazało istnienie 17-aminokwasowej sekwencji, na którą składało się 8 aminokwasów (LNEEAERW), tworzących epitop występujący u różnych szczepów lentiwirusów oraz 9-aminokwasowy fragment (VRQNPPGPN), będący epitopem grupowo swoistym. W sekwencji tej największe znaczenie przypisuje się motywowi NPP, ponieważ jego brak uniemożliwia wiązanie się ze swoistym przeciwciałem. Analiza sekwencji szeregu izolatów wykazała, że motyw ten był zmieniony u wielu z nich. Próba użycia syntetycznych peptydów jako antygeny, odpowiadających zmienionym sekwencjom, wykazała obecność przeciwciał w 25% próbek, uprzednio ujemnych (8). Ponieważ dane warianty występują na określonym obszarze, wyniki te potwierdzają potrzebę konstrukcji tzw. region-tailored assays, co powinno być poprzedzone analizą takich wariantów genetycznych.

Badania w ostatnich latach wykazały jednak, że problem zmienności genetycznej lentiwirusów owiec i kóz i wpływ tego zjawiska na efektywność testów diagnostycznych jest dodatkowo wikłany faktem częstego pokonywania bariery międzygatunkowej tzw. cross-species infections przez MVV i CAEV. Analiza licznych przypadków takich zakażeń jasno pokazała, że dalszy podział na „gatunkowo-swoiste” wirusy CAEV i MVV jest nie do przyjęcia i w konsekwencji zaproponowano nowy podział uwzględniający jedną grupę tzw. lentiwirusów małych przeżuwaczy (Small ruminant lentiviruses – SRLV) (18). Przyjmuje się, że zmienność genetyczna będąca konsekwencją zakażeń międzygatunkowych jest wypadkową presji układu immunologicznego i zdolności adaptacyjnych genu wirusa do komórek nowego gospodarza (3). Wykazano to na przykładzie analizy genu pol kodującego integrazę. Enzym ten, biorący udział w integracji prowirusa z chromosomem komórki gospodarza, wykazywał większe podobieństwo do szczepu MVVK1514. Można więc przypuszczać, że obserwowana zmienność jest wynikiem zdolności adaptacyjnych genu wirusa do komórek nowego gospodarza (7). Zjawisko to opisano także w odniesieniu do SRLV izolowanych od kóz w Polsce, wykazując istnienie izolatu PL21,

którego sekwencja genu gag aż w 82% była podobna do izolatu MVV K1514 (16). Ostatnie badania przeprowadzone w tym kierunku wykazały, że izolaty pochodzące z większości badanych owiec były bardziej podobne do CAEV niż do MVV (24). Co więcej, łatwość pokonywania bariery międzygatunkowej przez lentiwirusy budzi obawy możliwego rozprzestrzeniania się zakażeń na nowe gatunki, jak to wykazano ostatnio w odniesieniu do dzikich kóz, muflonów i ibek-sów (11).

Ważną rolę w rozpatrywaniu zakażeń międzygatunkowych odgrywa kwestia receptora dla lentiwirusów, którego natura jest nieznaną. Proponowanym kandydatem były cząsteczki MHC klasy II, bliżej nieznaną białko Ram-1 o masie 50 kDa oraz białko należące do grupy chemokin. Przypuszczano także, że cząsteczki CD4 i CXCR4 służą jako posiłkowe komponenty receptora komórkowego ułatwiające fuzję otoczki wirusa z błoną komórkową. Ostatnie badania wykazały udział receptora mannozy w procesie zakażenia SRLVs. Najprawdopodobniej jednak receptorem jest cząsteczka powszechnie występująca na różnych komórkach. Niewykluczone jest także, że wirus korzysta z kilku różnych receptorów (1, 2). Pogląd taki poparty jest badaniami wskazującymi na fakt, że islandzki (K1514) oraz brytyjski (EV-1) izolat wykorzystują receptory występujące u licznych gatunków zwierząt (13).

Według ostatnio zaproponowanego podziału, uwzględniającego analizę fragmentów genu pol i prowirusowego DNA, wśród SRLVs wyróżnia się grupy genetyczne A, B, C, D i E oraz podtypy, takie jak: A1-A9 i B1 i B2. Wykazano, że grupę A tworzą wirusy podobne do MVV K1514, grupę B wirusy podobne do CAEV-Co, a grupę C wirusy spokrewnione z izolatami norweskim AF322109. Grupę D stanowią izolaty ze Szwecji i Hiszpanii, a grupę E izolaty od kóz z Włoch. Zidentyfikowano dwa szczepy *Rocaverano* oraz *Seui* należące, odpowiednio, do podgrupy E1 i E2, które charakteryzują się brakiem fragmentu genu pol, kodującego dUTPase, genu vpr oraz fragmentu długości 70 par zasad w obrębie regionu U3 LTR (14).

Jak wykazano, SRLV są w stanie pokonywać barierę międzygatunkową. Kwestia, która poddawana jest intensywnym badaniom, dotyczy zidentyfikowania grup/podgrup genetycznych, które w preferencyjny sposób są przenoszone na gatunkowo-swoistego gospodarza. Jak dotąd wykazano, że podtypy A1 i A2 izolowano wyłącznie od owiec. Podtypy A5, A7, B1 oraz izolaty należące do grupy D i E wykryto wyłącznie u kóz, natomiast podtypy A3, A4, A6, A9 B2 oraz izolaty należące do grupy C izolowano zarówno od owiec, jak i kóz (9, 17). Valas i wsp. (28) oraz Olech i wsp. (20) wykazali krążenie więcej niż jednego typu genetycznego w obrębie jednego stada. Potwierdzają to także badania Grego i wsp. (9), w których wykryto występowanie genotypów B1/E, A8/B1/E oraz A1/A8/B1/B2 u zwierząt z trzech różnych stad. Analizując

pochodzenie tych wariantów, rozpatrywać można koinfekcję, będącą rezultatem transmisji określonych wariantów do poszczególnych osobników lub rekombinację pomiędzy nimi. Na tę drugą możliwość wskazują badania Pisoniego i wsp. (22) potwierdzające występowanie koinfekcji wirusami z grupy A/B oraz rekombinację pomiędzy nimi.

Analizując występowanie i przynależność izolatów SRLV do poszczególnych grup genetycznych, warto wspomnieć o technikach badawczych. Najczęstszą metodą badania zmienności genetycznej SRLV jest sekwencjonowanie. Jednak, jako metoda przesiewowa stosowana na większą skalę ze względu na niższe koszty i łatwość wykonania, szersze zastosowanie znalazła tu analiza heterodupleksów (Heteroduplex mobility assay – HMA). Pozwala ona, w oparciu o standardowe szczepy reprezentujące poszczególne grupy/podgrupy, na szybką analizę stopnia komplementarności fragmentów DNA i przynależności poszczególnych izolatów SRLV. Badania przeprowadzone przez Germain i wsp. potwierdziły skuteczność metody gag/env HMA, która może służyć jako metoda skryningu molekularnego (5, 6).

Nowa klasyfikacja SRLV jest zasadna w aspekcie międzygatunkowej transmisji tych patogenów. Podział taki rodzi pytanie o wybór najbardziej właściwych białek antygenowych do konstrukcji testów pozwalających skutecznie rozpoznawać zakażenia wariantami SRLVs, typowych dla poszczególnych grup lub podtypów genetycznych. Silna immunogenność glikoproteiny powierzchniowej (SU), a zwłaszcza szybka serokonwersja indukowana przez to białko, czyni je idealnym kandydatem dla celów diagnostycznych. Domena SU5, tworzona przez 70 aminokwasów z końca C' glikoproteiny powierzchniowej, tworzy fragment linearnego epitopu rozpoznawanego przez limfocyty B, który indukuje swoiste przeciwciała wykrywane już od 2 tygodni po zakażeniu u wszystkich doświadczalnie zakażonych zwierząt (18). Wykazano, że istnieje związek pomiędzy stopniem reaktywności surowic zwierząt naturalnie zakażonych a określonymi zmianami w sekwencji nukleotydowej fragmentu genu env, kodującego domenę SU5. Dlatego użycie tego białka jako antygeny stwarza możliwość serotypowania wirusów kóz i owiec, podobnie jak w zakażeniach HIV-1, z użyciem białka odpowiadającego fragmentowi zmiennemu V3 (18, 23). Jakkolwiek izolaty tworzące daną grupę bez względu na pochodzenie, od owiec lub kóz, mogą wykazywać pewne różnice w sekwencji, to genetyczny dystans pomiędzy tymi grupami sięga około 30%. Jest to bardzo obiecujący element biorąc pod uwagę możliwość zastosowania takich domen, jak SU5 czy białko kapsydu (CA) jako antygenów w teście ELISA.

Jakkolwiek w zwalczaniu zakażeń SRLV dominuje szerokie stosowanie metod serologicznych i eliminowanie seroreagentów, to warto wspomnieć o próbach profilaktyki swoistej. W postępowaniu tym stosowano

oczyszczone białko otoczki gp135 szczepu CAEV63, podawane domięśniowo kozom w postaci kompleksu immunostymulującego (ISCOM), co wywołało serokonwersję już 13. dnia po iniekcji, a przeciwciała neutralizowały inny szczep CAEV-Co (15). Wyniki takie zasugerowały istnienie domen w obrębie białka otoczki, indukujących przeciwciała neutralizujące. W efekcie, badania przeprowadzone przez Hafilidadóttir i wsp. (12) pozwoliły zidentyfikować istnienie 28-aminokwasowego fragmentu w obrębie regionu zmiennego V4 białka gp135, określanego jako PND (principal neutralization domain) i kluczową rolę dwóch cystein, które poprzez tworzenie mostków dwusiarczkowych formują przestrzenną strukturę, analogicznie jak ma to miejsce w przypadku fragmentu V3 HIV-1.

Jednak paradoksalnie, wykazano brak korelacji pomiędzy obecnością przeciwciał neutralizujących a ochronnym działaniem szczepionki. Co więcej, obecność takich przeciwciał potęgowała występowanie zmian zapalnych, typowych dla zakażeń SRLV u zwierząt immunizowanych i poddanych próbie challenge (27). Przyjmuje się, że jest to konsekwencja formowania kompleksów antygen–przeciwciało lub wiązania się przeciwciał z zakażonymi komórkami i aktywowania zależnej od przeciwciał cytotoksyczności komórkowej (ADCC). Pod uwagę należy brać również odpowiedź komórek T, głównie limfocytów CD4<sup>+</sup>, które wytwarzają swoisty dla lentiwirusów interferon spowalniający replikację wirusa oraz wykazujący właściwości chemotaktyczne w stosunku do innych komórek. Stymulacja limfocytów T prowadzi także do produkcji prozapalnych cytokin, zwiększenia infiltracji limfocytów i monocytów w miejscu zakażenia, prowadząc do reakcji zapalnych uszkadzających tkanki (21). Ciekawe i obiecujące są natomiast wyniki immunizacji przy zastosowaniu szczepionek DNA. W technologii tej wykorzystano plazmidowe DNA zawierające geny env lub gag, kodujące białka prekursorowe gp150 i p55 SRLV, podane *in vivo* w formie aerozolu na błonę śluzową górnych dróg oddechowych bądź wszczepione do tkanki skórnej, w formie drobin złota opłaszczonych DNA (tzw. technika PMED) (19, 25). Inokulum takie dodatkowo wzbogacono rekombinowanym wirusem krowianki, zawierającym geny env i gag oraz dodatkowo gen kodujący interferon gamma, zastosowany tu jako molekularny adiuwant. W schemacie immunizacji założono wywołanie efektu „priming” przez podanie DNA oraz efektu „booster” poprzez podanie wirusa krowianki oraz challenge wirusem MVV. Uzyskane wyniki wykazały istotne obniżenie poziomu prowirusowego DNA MVV w krwi obwodowej oraz znaczną redukcję zmian zapalnych w grupie zwierząt immunizowanych jedynie DNA genu gag. Efekt taki zanotowano w obydwu doświadczeniach, bez względu na sposób wprowadzenia immunogenu, co potwierdza znaczenie tej drogi immunizacji w ograniczeniu rozprzestrzeniania infekcji z krwi do innych tkanek.

Obiecujące wydają się również wyniki badań Reiny i wsp. (26), którzy wykorzystując niskopatogenny szczep *Roccaverano*, należący do grupy genetycznej E wykazali, że indukuje on silną odpowiedź limfocytów T cytotoksycznych, która jest efektywna również w ograniczeniu zakażeń wywołanych wirusami należącymi do innych grup genetycznych.

W podsumowaniu należy podkreślić potrzebę doskonalenia metod diagnostyki serologicznej zakażeń SRLV, co wydaje się racjonalne, biorąc pod uwagę skomplikowaną naturę tych zakażeń, jak i potencjał patogenny i rozprzestrzenienie tych wirusów. Nie bez znaczenia jest również atrakcyjność naukowa tego zagadnienia, związana przede wszystkim z faktem, że SRLV są doskonałym modelem biologicznym dla badań nad innymi lentiwirusami, szczególnie HIV.

### Piśmiennictwo

- Bruett L., Clements J. E.: Functional murine leukemia virus vectors pseudotyped with the visna virus envelope show expanded visna virus cell tropism. *J. Virol.* 2001, 75, 11464-11473.
- Crespo H., Reina R., Glaira I., Ramirez H., de Andres X., Jauregui P., Lujan L., Martinez-Pomares L., Amorena B., de Andres D. F.: Identification of the ovine mannose receptor and its possible role in Visna-Maedi virus infection. *Vet. Res.* 2011, 42, 1-10.
- Chebloune Y., Karr D., Sheffer D., m Leung K., Narayan O.: Variations in lentiviral gene expression in monocyte-derived macrophages from naturally infected sheep. *J. Gen. Virol.* 1996, 77, 2337-2051.
- Christodoulouopoulos G.: Maedi-visna: clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. *Small Rum. Res.* 2006, 62, 47-53.
- Germain K., Croise B., Valas S.: Field evaluation of a gag/env heteroduplex mobility assay for genetic subtyping of small-ruminant lentiviruses. *J. Gen. Virol.* 2008, 89, 2020-2028.
- Germain K., Valas S.: Distribution and heterogeneity of small ruminant lentivirus envelope subtypes in naturally infected French sheep. *Virus Res.* 2006, 120, 156-162.
- Glaria I., Reina R., Crespo H., de Andrés X., Ramirez H., Biescas E., Pérez M. M., Badiola J., Luján L., Amorena B., de Andrés D.: Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep. *Vet. Microbiol.* 2009, 138, 156-162.
- Grego E., Bertolotti L., Carrozza M. L., Profiti M., Mazzei M., Tolari F., Rosati S.: Genetic and antigenic characterization of the matrix protein of two genetically distinct ovine lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 2005, 106, 179-185.
- Grego E., Bertolotti L., Quasso A., Profiti M., Lacerenza D., Muz D., Rosati S.: Genetic characterization of small ruminant lentivirus in Italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population. *J. Gen. Virol.* 2007, 88, 3423-3427.
- Grego E., Profiti M., Giammarioli M., Giannino L., Rutilli D., Woodall C., Rosati S.: Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002, 9, 828-832.
- Guiguen F., Mselli-Lakhal L., Durand J., Du J., Favier C., Fornazero C., Grezel D., Balleydier S., Hausmann E., Chebloune Y.: Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis-encephalitis virus. *Am. J. Vet. Res.* 2000, 61, 456-461.
- Hafliðadóttir B. S., Matthíasdóttir S., Agnarsdóttir G., Torsteinsdóttir S., Pétursson G., Andrésson O. S., Andréðdóttir V.: Mutational analysis of a principal neutralization domain of visna/maedi virus envelope glycoprotein. *J. Gen. Virol.* 2008, 89, 716-721.
- Hötzel I., Cheevers W. P.: Host range of small-ruminant lentivirus cytopathic variants determined with a selectable caprine arthritis-encephalitis virus pseudotype system. *J. Virol.* 2001, 75, 7384-7391.
- Juganaru M., Reina R., Bertolotti L., Stella M. C., Profiti M., Armentano M., Bollo E., Amorena B., Rosati S.: In vitro properties of small ruminant lentivirus genotype E. *Virology.* 2011, 410, 88-95.
- Kemp R., Knowles D., Perry L., McGuire T., Besser T., Cheevers W.: Cross-reactive neutralizing antibodies induced by immunization with caprine arthritis-encephalitis virus surface glycoprotein. *Vaccine* 2000, 18, 1282-1287.
- Kuzmak J., Rola M., Gally K., Chebloune Y.: Molecular characterization of lentiviruses from goats from Poland based on gag gene sequence analysis. *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.* 2007, 30, 211-223.
- Lacerenza D., Giammarioli M., Grego E., Marini C., Profiti M., Rutilli D., Rosati S.: Antibody response in sheep experimentally infected with different small ruminant lentivirus genotypes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, 112, 264-271.
- Mordasini F., Vogt H. R., Zahno M. L., Maeschli A., Nenci C., Zanoni R., Peterhans E., Bertoni G.: Analysis of the antibody response to an immunodominant epitope of the envelope glycoprotein of a lentivirus and its diagnostic potential. *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44, 981-991.
- Niesalla H., de Andrés X., Barbezange C., Fraissier C., Reina R., Arnarson H., Biescas E., Mazzei M., McNeilly T. N., Liu C., Watkins C., Perez M., Carrozza M. L., Bandecchi P., Solano C., Crespo H., Glaria I., Huard C., Shaw D. J., de Blas I., de Andrés D., Tolari F., Rosati S., Suzan-Monti M., Andréðdóttir V., Torsteinsdóttir S., Petursson G., Badiola J., Lujan L., Pepin M., Amorena B., Blacklaws B., Harkiss G. D.: Systemic DNA immunization against ovine lentivirus using particle-mediated epidermal delivery and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes. *Vaccine* 2009, 27, 260-269.
- Olech M., Croise B., Kuzmak J., Valas S.: Evidence for interspecies transmission of small ruminant lentiviruses in sheep and goats from Poland. *Bull. Vet. Inst.* 2009, 53, 165-168.
- Pepin M., Vitu Ch., Russo P., Mornex J. F., Peterhans E.: Maedi-visna virus infection in sheep. *Vet. Res.* 1998, 29, 341-367.
- Pisoni G., Bertoni G., Puricelli M., Maccalli M., Moroni P.: Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. *J. Virol.* 2007, 81, 4948-4955.
- Plantier J., Damond M., Lasky J., Sankale C., Apetrei M., Peeters L., Buzelay S., Kanaki P., Delaporte F., Simon F., Barin F.: V3 serotyping of HIV-1 infection: correlation with genotyping and limitations. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 1999, 20, 432-441.
- Projekt Badawczo-Rozwojowy (2007-2009) R1202302 – Optymalizacja metod oceny sytuacji epidemiologicznej i ryzyka szerszenia się chorób zwierząt użytkowych ważnych dla bezpieczeństwa publicznego oraz opłacalności i konkurencji produkcji zwierzęcej.
- Reina R., Barbezange C., Niesallac H., de Andrés X., Arnarson H., Biescase E., Mazzei M., Fraissier C., McNeilly T. N., Liuc C., Perez M., Carrozza M. L., Bandecchi P., Solano C., Crespo H., Glaria I., Huard C., Shaw D. J., de Blas I., de Andrés D., Tolari F., Rosati S., Suzan-Monti M., Andréðdóttir V., Torsteinsdóttir S., Petursson G., Lujane L., Pepini M., Amorena B., Blacklaws B., Harkiss G. D.: Mucosal immunization against ovine lentivirus using PEI-DNA complexes and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes. *Vaccine* 2008, 26, 4494-4505.
- Reina R., Juganaru M., Profiti M., Cascio P., Cerruti F., Bertolotti L., Meneghi D., Amorena B., Rosati S.: Immunological parameters in goats experimentally infected with SRLV genotype E, strain Roccaverano. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011, 139, 237-244.
- Russo P., Vitu C., Fontaine J., Vignoni M.: Caprine arthritis-encephalitis: trial of an adjuvant vaccine preparation. I. Clinical and virological study. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1993, 16, 131-136.
- Valas S., Benoit C., Baudry C., Perrin G., Mamoun R.: Variability and immunogenicity of caprine arthritis-encephalitis virus surface glycoprotein. *J. Virol.* 2000, 74, 6178-6185.

Adres autora: mgr Monika Olech, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;  
e-mail: monika.olech@piwet.pulawy.pl