Koronawirusy świń. Część II. Koronawirusy przewodu pokarmowego

Małgorzata Pomorska-Mól, Hanna Turlewicz-Podbielska

z Katedry Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Swine coronaviruses. Part II. Porcine enteric coronaviruses

Pomorska-Mól M., Turlewicz-Podbielska H., Department of Preclinical Sciences and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Poznań University of Life Sciences

The second part of the review on swine coronaviruses, aims at the porcine enteric coronaviruses epidemiology, pathogenesis and prevention. They most often cause clinical infections and have a negative economic impact on swine industry. These make porcine coronaviruses of great practical significance. Currently, four porcine coronaviruses are responsible for gastrointestinal tract infections: transmissible gastroenteritis coronavirus (TEGV), porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), swine acute diarrhea syndrome coronavirus (SADS-CoV) and porcine deltacoronavirus (PDCoV). TGEV has caused severe diarrheal disease in pigs worldwide in the past, and its importance is now less significant. PEDV and PDCoV cause clinically indistinguishable acute gastroenteritis in all age groups of pigs. TGEV has been circulating in the pig populations for decades. PEDV, PDCoV and SADS-CoV are emerging/reemerging coronaviruses and they may present serious epidemiological problems in the pork industry. All three emerging porcine gastrointestinal coronaviruses were first identified in China. Rapid diagnosis and compliance with the principles of strict biosecurity protocols are essential in combating and preventing these infections in pigs.

Keywords: Coronaviruses, pig, emerging, re-emerging agents.

W drugiej części cyklu poświęconego koronawirusom patogennym dla świń omówione zostaną koronawirusy układu pokarmowego. W przypadku świń to właśnie koronawirusy z tej grupy mają największe znaczenie praktyczne, ponieważ to one aktualnie wywołują najwięcej infekcji o przebiegu klinicznym i mogą istotnie wpływającym na rentowność produkcji świń. Aktualnie wiadomo, że cztery z sześciu koronawirusów zidentyfikowanych u świń odpowiadają za infekcje związane z układem pokarmowym. Są to należące do rodzaju *Alfacoronavirus* wirus zakaźnego zapalenia żołądka i jelit (TGEV), wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV) i wirus zespołu ostrej biegunki świń (SADS-CoV) oraz jeden należący do rodzaju *Deltacoronavirus* (PDCoV; 1, 2).

Koronawirusy przewodu pokarmowego patogenne dla świń

Wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV), deltakoronawirus świń (PDCoV) i koronawirus zespołu ostrej biegunki świń (SADS-CoV) to nowe lub ponownie pojawiające się (emerging/reemerging) koronawirusy, które mogą stanowić realny problem w produkcji świń. Powodują one ostre zapalenie żołądka i jelit u nowo narodzonych prosiąt. Wśród przyczyn największej podatności noworodków na zakażenie CoV wymienia się: mniej kwaśne pH w żołądku w porównaniu ze starszymi świniami; mniej sprawne procesy związane z odnawianiem enterocytów wyścielających kosmki jelitowe; mniejszą sprawność układu immunologicznego oraz większą podatność na zaburzenia równowagi wodno-elektrolitowej (3). Wyniki badań sugerują, że PEDV i SADS-CoV pochodzą prawdopodobnie od koronawirusów nietoperzy, a PDCoV od koronawirusów stwierdzanych u wróbli, co potwierdza międzygatunkową transmisję CoV.

Wśród koronawirusów świń TGEV, PRCV i PHEV krążą w populacji tych zwierząt od dziesięcioleci, podczas gdy PEDV, PDCoV i SADS- CoV są uważane za nowo pojawiające się koronawirusy (4, 5, 6, 7).

Wirus epidemicznej biegunki świń

Klasyczny PEDV został po raz pierwszy wykryty w Europie na początku lat 70. ubiegłego wieku, a później rozprzestrzenił się w większości krajów Azji (8, 9, 10). W ciągu kolejnych 20 lat PEDV był opisywany w wielu krajach europejskich (w Belgii, Anglii, Francji, Holandii, Niemczech, na Węgrzech, we Włoszech, w Czechach; 8). Obecnie PEDV nie powoduje znaczących ognisk w Europie, ale jest źródłem dużego niepokoju w Azji, gdzie zakażenia są bardziej ostre i dotkliwe niż te obserwowane w Europie. Jednakże w latach 2014–2016 odnotowano kilka pojawiających się przypadków w Niemczech, Belgii, na Ukrainie, we Francji, Włoszech i w Austrii (5, 11, 12, 13, 14, 15). W 2010 r. pojawił się ponownie w Azji jako wysoce zjadliwy PEDV i spowodował epidemię przebiegającą z ogromną śmiertelnością ssących prosiąt. Jest odpowiedzialny za znaczne straty ekonomiczne wśród producentów wieprzowiny w wielu krajach azjatyckich (w Chinach, Korei Południowej, Tajlandii i Wietnamie; 8). PEDV powoduje masowe ogniska charakteryzujące się 80–100% zachorowalnością wśród zakażonych stad świń oraz 50–90% śmiertelnością wśród prosiąt ssących (16, 17, 18). Ostatnie badania prewalencji PEDV w Chinach wskazują, że średnia prewalencja (badaniami objęto 39 gospodarstw w ośmiu prowincjach, głównie wokół Hunan), wynosiła 38,04% (19), jednak badanie przeprowadzono z wykorzystaniem próbek głównie od świń chorych, co może nie oddawać trafnie rzeczywistej prewalencji PEDV w populacji świń. W innych badaniach wykazano, że u świń z biegunką prewalencja PEDV była prawie trzykrotnie wyższa niż u świń bez objawów klinicznych – 48,76% (59/121) vs. 17,46% (11/63).

Aktualne dane wskazują, że w celu potwierdzenia/wykluczenia obecności wirusa bardziej odpowiedni wydaje się być monitoring bierny, stąd znacznie więcej wyników pozytywnych uzyskuje się u zwierząt z biegunką niż u osobników klinicznie zdrowych. Analiza filogenetyczna i sekwencyjna wykazała, że 14 reprezentatywnych szczepów PEDV z 14 ferm świń należało do grupy G2 (podgrupy G2-a i G2-b) i wykazywało wysoki stopień zmienności genetycznej. Dane te wskazują, że PEDV pozostaje poważnym zagrożeniem dla przemysłu trzody chlewnej oraz że różne warianty PEDV krążą w Chinach (19). PEDV stał się bardzo ważnym patogenem świń w Chinach, zajmując trzecie miejsce po wirusie afrykańskiego pomoru świń i wirusie zespołu rozrodczo-oddechowego świń (PRRSV; 20).

W Ameryce Północnej PEDV pojawił się w kwietniu 2013 r. (w USA; 21) i od tego momentu szybko rozprzestrzenił się na terenie USA, powodując wysoki odsetek padnięć wśród prosiąt i ogromne straty ekonomiczne (22). PEDV wykryty w USA miał 96,6–99,5% identyczności ze wszystkimi znanymi szczepami PEDV i najwyższą identyczność (>99,0%) z niektórymi ze szczepów chińskich wyizolowanych w latach 2011–2012. Prawie jednoczesne wystąpienie ognisk choroby w USA oraz znaczna homologia pomiędzy szczepami PEDV pochodzącymi z niespokrewnionych ferm sugerują wspólne źródło wirusa (21). W Kanadzie PEDV został po raz pierwszy wykryty w styczniu 2014 r., a ogniska choroby odnotowano w różnych prowincjach (23). W Meksyku pierwsze ogniska PEDV zostały zidentyfikowane na początku lipca 2013 r. (24). Ojkic i wsp. (25) zgłosili pierwszy przypadek PEDV na farmie Ontario w Kanadzie – próbki treści okrężnicy świń z ostrą biegunką były dodatnie w kierunku PEDV, a sekwencjonowanie produktów PCR wykazało, że PEDV z Ontario był w 99% identyczny z ostatnimi izolatami PEDV z USA i Chin (25). Ponadto, meksykański szczep PEDV o nazwie PEDV/MEX/VER/01/2014 miał 99,8% identyczności z amerykańskim szczepem OH851 (26). Podobieństwo szczepów stwierdzonych w Kanadzie i Meksyku do szczepów amerykańskich oraz czas wprowadzenia PEDV do tych krajów sugerują, że ogniska w Kanadzie i Meksyku mogą być związane z pojawieniem się PEDV w USA. W latach 2013–2014 PEDV spowodował epidemię w USA, prowadząc do ogromnych strat w sektorze produkcji wieprzowiny.

Pochodzenie PEDV nie jest jasno wyjaśnione. Nie ma niepodważalnych dowodów potwierdzających, że został on wprowadzony do populacji świń przez nietoperze w latach 70. Jednakże, sekwencja genomowa prototypowego belgijskiego szczepu CV777 określona przez Kocherhans i wsp. (27) wykazała, że był on bliżej spokrewniony z koronawirusem nietoperzy Scotophilus (BtCoV) 512/2005 niż z innymi znanymi alfakoronawirusami, takimi jak TGEV i ludzki CoV. Sugeruje to, że PEDV i BtCoV/512/2005 miały wspólnego przodka oraz, że mogło dojść do międzygatunkowej transmisji CoV między nietoperzami i świniami (28, 29). Ponadto PEDV zakaża linie komórkowe pochodzące od świń, ludzi, małp, kaczek i nietoperzy, co dodatkowo wspiera teorię, że kiedyś przekroczył barierę międzygatunkową między nietoperzami i świniami (30, 31). PEDV został również wykryty u dzików w Korei i USA (32, 33). Badania wskazują, że pierwotnie wirus mógł zostać przeniesiony ze świń domowych na dzikie, a nie odwrotnie. Ponieważ obecnie nie ma żadnych środków kontroli, aby zapobiec krążeniu PEDV u dzikich świń, mogą one ustanowić rezerwuar PEDV prowadzącym do przyszłych ognisk PED u świń domowych (32, 33).

Koronawirus zespołu ostrej biegunki świń

Kolejny wysoce patogenny CoV, SADS-CoV pojawił się w Chinach, powodując infekcje o wysokiej śmiertelności, szczególnie wśród młodych świń (34, 35, 36). Jednakże badania retrospektywne wykazały, że SADS-CoV był obecny w Chinach co najmniej od sierpnia 2016 r. (37). SADS-CoV jest nowym członkiem rodzaju *Alphacoronavirus* i został po raz pierwszy wykryty i zidentyfikowany jako czynnik etiologiczny ostrej epidemii u świń w południowych Chinach w 2017 r., powodując śmierć około 24 500 prosiąt i ogromne straty ekonomiczne (35). Pojawił się on ponownie w styczniu 2019 r. w stadach świń w Guangdong (38). Jak dotychczas nie potwierdzono obecności tego wirusa poza terytorium Chin.

Genom SADS-CoV ma około 27 kb, zawiera dziewięć otwartych ramek odczytu (36) i wykazuje duże podobieństwo (95% identyczności) do CoV wykrytego w 2007 r. u nietoperzy (HKU2-CoV). Jednak identyczność sekwencji genu S wynosząca tylko 86% sugeruje, że HKU2-CoV może nie być bezpośrednim protoplastą SADS-CoV, a raczej mogą one mieć wspólnego przodka. CoV związane z SADS (o identyczności sekwencji 96%-98% z SADS-CoV) zidentyfikowano u 9,8% nietoperzy, głównie *Rhinolophus* spp. które znane są jako potencjalne rezerwuary CoV związanych z SARS (36). Wskazuje się, że także gryzonie są wrażliwe na zakażenie SADS-CoV co potwierdza potencjalną transmisyjność międzygatunkową SADS-CoV (39). Obecnie nie ma licencjonowanych szczepionek przeciwko SADS-CoV.

Deltakoronawirus świń

Deltakoronawirus świń (PDCoV) jest nowo pojawiającym się CoV, który wywołuje biegunkę u prosiąt (40). Został zaklasyfikowany do rodzaju *Deltacoronavirus* (41, 42). PDCoV posiada genom o wielkości około 25,4 kb, który koduje cztery białka strukturalne oraz trzy białka dodatkowe (20, 43, 44, 45, 46). Chociaż ogólna charakterystyka białek CoV i ich rola w replikacji wirusa zostały zidentyfikowane, ich funkcje i role w komórkach gospodarza nie są jasne (43, 47). W odniesieniu do PDCoV wyniki analiz molekularnych wskazują, że do transmisji międzygatunkowej musiało dojść całkiem niedawno, w wyniku interakcji pomiędzy ptakami i ssakami (48), a przodków wirusa należy szukać wśród ptaków (przepiórka, wróble) (49). Ponadto wykazano, że PDCoV skutecznie zakaża szerokie spektrum komórek gospodarza, w tym komórki świń, ludzi i kurcząt (49). Ostatnie badania wykazały, że PDCoV może zakażać i niszczyć komórki innych gatunków, a także kurcząt i piskląt (50). Wykazano zdolność PDCoV do hemaglutynacji (HA; 40).

PDCoV nie wykazywał aktywności HA wobec erytrocytów świni, kurczaka, myszy, świnki morskiej lub człowieka; mógł jednak aglutynować erytrocyty królika, gdy wirus poddano wstępnej obróbce trypsyną lub neuraminidazą. Dodatkowo, wyniki oznaczenia HA wykazały znaczącą dodatnią korelację z mianem wirusa zakaźnego. Powyższe wyniki sugerują, że ocena aktywności HA PDCoV może być użyteczną metodą diagnostyczną do badania i nadzoru nad zakażeniami PDCoV (40).

PDCoV (jako HKU15) został zidentyfikowany w 2009 r. (zgłoszony w 2012 r.) podczas badani monitoringowych CoV u ptaków i ssaków w Chinach, jednak jego rola w patologii świń nie była znana do 2014 r. (41, 50). W styczniu 2014 r. PDCoV objawił się jako kolejny czynnik etiologiczny biegunek u świń w USA (41, 51). Analiza sekwencji szczepów z USA wykazała około 99% identyczność nukleotydów ze szczepami PDCoV wykrytymi w 2009 r. w Chinach (Hong Kong; 42). Ostatnie badania pozwoliły zidentyfikować cztery odrębne linie filogenetyczne PDCoV (Tajlandia, Chiny, USA i linia wczesnochińska), które różnią się pod względem wzorców krążenia geograficznego (52). Częstsza rekombinacja oraz większa różnorodność genetyczna wirusa została zidentyfikowana w liniach chińskich, gdzie świnie są hodowane w różnych systemach hodowli i środowiskach ekologicznych, w porównaniu z liniami USA (52).

Od czasu wprowadzenia do USA w 2014 r. PDCoV rozprzestrzenił się w większości stanów, chociaż przy niższej częstości występowania niż PEDV. Wśród świń z objawami biegunki w USA i Chinach prewalencja PDCoV wynosi aż 30% (USA) i 7% (Chiny; 51). Do końca 2017 r. PDCoV wykryto w 21 stanach i >540 stadach (USDA, 2017). PDCoV został też wykryty w Tajlandii i Korei (53, 54).

Aktualne badania przeprowadzone w Chinach, wykazały, że prewalencja zakażeń PDCoV u świń z biegunką była wysoka (do 23,49%), a współzakażenia z PEDV były powszechne (60,40%; 61/101; 55). Najwyższą prewalencję PDCoV odnotowano u prosiąt ssących (36,43%, 94/258). Pobieranie próbek tylko od świń z objawami klinicznymi pozwala wnioskować o odsetku świń zakażonych PDCoV tylko wśród zwierząt z biegunką, jednak nie odzwierciedla rzeczywistej prewalencji PDCoV u świń w tym regionie. W celu oceny rzeczywistego rozprzestrzeniania się tego patogenu konieczne jest przeprowadzenie randomizowanych badań skoncentrowanych na występowaniu wirusa i/lub seroprewalencji w danej populacji zwierząt. Analiza filogenetyczna oparta na kompletnym genomie, sekwencjach genów S i N z tego badania wykazała, że szczepy PDCoV z Henan były blisko spokrewnione z innymi szczepami chińskimi (55). Co więcej, analiza filogenetyczna wykazała, że przodek sekwencjonowanych szczepów może być inny. Ostatnie wyniki ujawniły, że sekwencja PDCoV EP-4E88 charakteryzowała się bardzo niskim podobieństwem (<22,2%) z innymi CoV świń (PEDV, TGEV, PRCV, SADS-CoV, PHEV), wykazując, że jest to fragment, który może być wykorzystany w diagnostyce różnicowej PDCoV i innych CoV świń (56).

Wszystkie trzy nowo pojawiające się koronawirusy przewodu pokarmowego świń po raz pierwszy zidentyfikowano w Chinach. Rekombinowane szczepy TGEV i PEDV stwierdzono we Włoszech, Niemczech i na Słowacji. Zrekombinowane koronawirusy przewodu pokarmowego (SeCoV) izolowane na terenie Włoch i Niemiec mają podobny wzór rekombinacji i 99, 5% identyczności. Dotychczas brak jest jednak szczegółowych danych na temat znaczenia, zjadliwości i rozprzestrzeniania SeCoV. Obecności takich rekombinantów nie zgłaszano w żadnym innym kraju.

Wirus zakaźnego zapalenia żołądka i jelit świń

TGEV jest czynnikiem etiologicznym zakaźnego zapalenia żołądka i jelit (TGE), ostrej choroby świń. W przeszłości wirus ten wywoływał ostre biegunki u świń na całym świecie. Genom TGEV ma rozmiar około 28, 6 kb. ORF1a/b koduje białka niestrukturalne 1–10 (NSP1–10) i NSP11–16. Te niestrukturalne białka pełnią różne funkcje w cyklu życiowym wirusa, ale ich główna rola polega na replikacji i transkrypcji genomu wirusowego. Ponadto wiele z tych białek ma różne inne funkcje w interakcji z procesami komórkowymi, takie jak udział w regulacji translacji gospodarza (57). Glikoproteina S przyłącza się do receptora komórkowego gospodarza – aminopeptydazy N (pAPN) lub kwasu sialowego. Ponadto posiada aktywność hemaglutynacyjną, indukuje fuzję komórkową oraz stymuluje powstawanie przeciwciał neutralizujących (57). TGEV jest blisko spokrewniony z CoV kotów i psów. Stąd też może on replikować się subklinicznie u psów, kotów i lisów (58), natomiast ptaki mogą pełnić rolę wektorów mechanicznych (59).

Choroba o charakterystycznych cechach dla TGE została po raz pierwszy opisana w 1935 r. Jednak TGEV, jako czynnik etiologiczny TGE u świń, został zidentyfikowany ponad 10 lat później (60, 61). TGEV prawdopodobnie krążył wcześniej w populacji świń bez znaczącego wpływu na produkcję i zdrowie, a stał się ważnym czynnikiem patogennym świń wraz z intensyfikacją produkcji (61). W ciągu kolejnych 20 lat od pierwszej identyfikacji, TGEV był izolowany na całym świecie. Pomimo że brak jest najnowszych badań epidemiologicznych w aspekcie zakażeń TGEV w wielu krajach, wydaje się, że jest on prawie nieobecny w Europie (62). Sporadyczne ogniska choroby były zgłoszane z Chin (57). Spadek zachorowalności i śmiertelności prosiąt ssących z powodu TGE w Europie tłumaczy się długotrwałym, naturalnym uodpornieniem populacji świń w związku z pojawieniem się PRCV. Jednakże, krzyżowa reaktywność przeciwciał TGEV i PRCV znacznie utrudnia obiektywną ocenę sytuacji epidemiologicznej w zakresie TGEV (62, 63).

Patogeneza zakażeń koronawirusami przewodu pokarmowego u świń

TGEV, PEDV, PDCoV i SADS-CoV powodują klinicznie nierozróżnialne ostre zapalenie żołądka i jelit u wszystkich grup wiekowych świń. Do ostatecznego rozpoznania wymagane jest potwierdzenie

laboratoryjne. Jednak wszystkie wirusy są antygenowo odrębne i nie występuje między nimi ochrona krzyżowa (9, 48, 64).

W przeszłości ostre objawy ze strony przewodu pokarmowego powodował bardzo często deltakoronawirus TGE (65). TGEV namnaża się w komórkach nabłonka jelit cienkich, prowadząc do destrukcji kosmków jelitowych, co stanowi przyczynę zaburzeń we wchłanianiu (3, 65). Wirus szerzył się błyskawicznie i zakażał wszystkie grupy wiekowe świń, powodując prawie 100% padnięcia wśród prosiąt do drugiego tygodnia życia. W stadach świń choroba zanikała po około 7–10 dniach od pierwszych zachorowań (65). Co ciekawe, obecnie TGE praktycznie w Europie nie występuje. Jest to związane z faktem pojawienia się w połowie lat 80. ubiegłego wieku mutanta TGEV koronowirusa płucnego świń (PRCV). W związku z tym, że wirus aktualnie stanowi niewielkie zagrożenie i jest niezmiernie rzadko jest stwierdzany w populacji świń, nie będzie przedmiotem szczegółowej dyskusji w ramach niniejszego opracowania.

PEDV jest uważany za bardziej patogenny niż PDCoV (64). W pierwszym roku epidemii w USA zachorowalność z powodu PEDV i PDCoV u świń wynosiła odpowiednio około 100% i 30% (20, 51). Śmiertelność u nowo narodzonych prosiąt wynosiła do 100% i 40% odpowiednio dla zakażeń PEDV i PDCoV (64, 66). Śmiertelność SADS-CoV obserwowana w Chinach u prosiąt młodszych niż pięć dni była bardzo wysoka (90–100%), natomiast u prosiąt starszych niż osiem dni spadała do 5% (36, 67).

Pierwotnymi komórkami docelowymi SADS-CoV są komórki nabłonka jelitowego (20, 36, 67, 68). Kilka badań wykazało niezwykłą atrofię kosmków i poważne zmiany patologiczne w jelitach prosiąt zakażanych SADS-CoV (20, 36, 67, 68). Dane dotyczące patogenezy i odpowiedzi immunologicznej w odniesieniu do SADS-CoV są skąpe lub niespójne, chociaż wciąż publikowane są nowe artykuły i badania skupiające się na tym obszarze. Ostatnie badania wykazały, że infekcja SADS-CoV nie indukuje produkcji IFN-β w komórkach nabłonka jelita cienkiego świń (69). Inne badania wykazały, że infekcja SADS-CoV powoduje charakterystyczne morfologiczne i biochemiczne zmiany, takie jak fragmentacja DNA, kondensacja chromatyny, eksternalizacja fosfatydyloseryny, aktywacja kaspaz i rozszczepienie PARP *in vitro* i *in vivo.* Zależne od kaspaz szlaki apoptotyczne FasL i mitochondrialne odgrywają główną rolę w indukowanej przez SADS-CoV apoptozie, która ułatwia replikację wirusa. Ponadto autorzy podkreślili, że SADS-CoV jest pierwszym wirusem, który indukuje bezpośrednią apoptozę *in vitro* i *in vivo* (70).

Wszystkie CoV przewodu pokarmowego świń mają prawdopodobnie podobne drogi i sposoby przenoszenia. Zakażenia tymi wirusami rozprzestrzeniają się głównie *per os* (źródłem zakażenia jest kał zakażonych świń). Przedmioty zanieczyszczone wirusem, w tym pojazdy lub zanieczyszczona pasza, jak również środowisko itp. odgrywają istotną rolę w rozprzestrzenianiu zakażeń CoV przewodu pokarmowego świń (66). W wielu badaniach nad PEDV wykazano, że zanieczyszczone przyczepy i pasza mogą służyć jako wektor mechaniczny PEDV (71, 72, 73). Transmisja aerogenna, prawdopodobnie poprzez spożycie aerozoli zawierających cząstki wirusowe, została potwierdzona zarówno dla PEDV, jak i PDCoV (66).

Patogeneza PEDV i PDCoV była badana z wykorzystaniem świń w różnym wieku. Wiadomo, że choroba ma cięższy przebieg u młodszych świń niż u starszych. Jest to związane z odpornością zależną od wieku i wynika w dużej mierze z niedojrzałości układu immunologicznego u prosiąt oraz niższego tempa regeneracji enterocytów u młodszych świń (74, 75, 76, 77). Deficyty w pełnej funkcjonalności komórek odpornościowych u nowonarodzonych prosiąt mogą przyczyniać się do cięższego przebiegu PEDV u prosiąt w porównaniu z osobnikami rosnącymi, co miało miejsce również w przypadku zakażenia TGEV (78).

Podczas ostrej fazy zakażenia CoV przewodu pokarmowego obserwuje się intensywne wydalanie wirusa z kałem. PEDV może być wydalany w kale zakażonych świń jeszcze kilka tygodni po ustąpieniu objawów klinicznych, co stwarza trudności w zarządzaniu chorobą na fermie (66). Świnie zakażone PDCoV wydalają duże ilości wirusa od 1 do 10 dni po zakażeniu (dpz). Nie zaobserwowano zmian histopatologicznych w kątnicy i okrężnicy w zakażeniach PEDV i PDCoV, chociaż antygeny PEDV i PDCoV zostały wykryte w komórkach nabłonkowych tych odcinków jelit (64, 79). Zakażenie PDCoV może wywoływać przejściową wiremię (80). W fazie ostrej infekcji wirus był wykrywany w dużej ilości w jelicie cienkim, zwłaszcza jelicie czczym i krętym. Niskie ilości PDCoV RNA stwierdzono w tkankach pozajelitowych (45, 80).

Li i wsp. (81) wykazali, że zakażenie PDCoV znacząco zmieniało skład mikroflory w okrężnicy i kale prosiąt (81). Powyższe odkrycia zapewniają nowe spojrzenie na patologię i fizjologię PDCoV.

Poprzednie badania wykazały, że przeciwciała neutralizujące PEDV pojawiają się w surowicy około 10 dpz, szczyt osiągają około 18 dpz, a ich poziom utrzymuje się na wysokim poziomie do 42 dpz (82). Długotrwałe utrzymywanie się przeciwciał, w porównaniu do obecności wirusa w organizmie, wskazuje, że analiza serokonwersji lub obecności przeciwciał anty-PEDV może być przydatna w diagnostyce i monitorowaniu PED. Dlatego też rozwój testów serologicznych ma kluczowe znaczenie dla wykrywania zwierząt zakażonych PEDV, potwierdzania wcześniejszej ekspozycji na wirusa oraz monitorowania odporności stada loch. Niemniej jednak potencjalny test musi być wystarczająco czuły i specyficzny, aby nie dawać fałszywych wyników związanych z reakcjami krzyżowymi, np. z innymi koronawirusami. Wyniki uzyskane przez Gimenez-Lirola i wsp. (83) wskazują, że białko S PEDV może odgrywać kluczową rolę jako antygen potencjalnie wykorzystywany w takim teście. Wykazali oni, iż przeciwciała przeciwko białku S PEDV nie reagują krzyżowo z antygenami innych jelitowych CoV świń, w tym TGEV i PDCoV. Z tego powodu białko S może być uważane za czuły i specyficzny marker zakażenia PEDV (83). Wykazano silną korelację pomiędzy ochroną przed

zakażeniem PEDV a poziomem komórek wydzielających przeciwciała IgA i IgG w tkance limfatycznej związanej z jelitami (GALT) i we krwi, jak również pomiędzy ochroną, a mianami IgG i IgA w surowicy (84, 85). W warunkach terenowych u loch narażonych na PEDV komórki wydzielające przeciwciała anty-PEDV IgA i IgG zostały wykryte w jelicie miesiąc po ekspozycji na PEDV. Przeciwciała utrzymywały się na wykrywalnym poziomie przez następne sześć miesięcy (86). Zakażenie loch PEDV prowadzi do rozwoju pamięci immunologicznej i wysokich mian przeciwciał neutralizujących wirus w osoczu do 6–7 miesięcy po zakażeniu. Aktualne wyniki dotyczące korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał i ochroną przeciwzakaźną sugerują, że lochy powinny być chronione przed ponowną infekcją w tym okresie i że mogą one również zapewnić matczyną odporność nowo narodzonym prosiętom. Wykazano, że mioty loch z wcześniejszą ekspozycją na wirus znacznie rzadziej wykazywały objawy kliniczne (biegunki) w porównaniu z miotami od loch bez wcześniejszej ekspozycji. Wyniki wskazują, że lochy wcześniej narażone na łagodny szczep PEDV rozwinęły odporność laktogenną, która indukowała ochronę krzyżową przeciwko zjadliwym szczepom PEDV, zapewniając prosiętom bierną ochronę immunologiczną przez co najmniej siedem miesięcy. Odpowiedź immunologiczna przeciwko PEDV została również zbadana przez Krishna i wsp. (87). Autorzy wykazali, że zakażenie PEDV indukowało zarówno humoralną, jak i komórkową odpowiedź immunologiczną. Charakterystyka laktogennej oporności krzyżowej i zrozumienie odpowiedzi immunologicznej przeciwko PEDV są szczególnie ważne, zwłaszcza że PEDV jest endemiczny na całym świecie i ostatnio pojawił się ponownie w Europie.

Stwierdzono różnice w nasileniu i czasie trwania odpowiedzi humoralnej między zwierzętami zakażonymi PEDV i PDCoV (88). Wszystkie świnie zakażone PEDV wytworzyły przeciwciała neutralizujące do 28 dpz i pozostały seropozytywne do 42 dpz, podczas gdy w 14 DPI przeciwciała anty-PDCoV powstały jedynie u 50% świń zakażonych PDCoV. Przeciwciała anty-PDCoV były wykrywane w surowicy w znacznie niższych mianach a w 21 DPI ich miana spadły do niewykrywalnego poziomu (88).

Uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku zakażeń CoV przewodu pokarmowego u świń rozwija się odporność przeciwzakaźna, która przez pewien czas chroni zwierzęta przed reinfekcją. Określenie czasu, przez jaki zwierzęta będą chronione, wymaga jednak dalszych badań. Dalszej analizy wymaga rola nie tylko odporności humoralnej, ale również komórkowej w ochronie przed reinfekcją koronawirusami świń. Dotychczas wykazano, że odpowiedź komórkowa może odgrywać ważną rolę w indukowaniu odporności ochronnej przeciwko PEDV. Wykazano, że świnie zakażone atenuowanym i wysoce patogennym szczepem PEDV PC22A wytwarzają podobny poziom przeciwciał, ale tylko świnie zakażone wirulentnym PEDV były chronione przed zakażeniem homologicznym wirulentnym wirusem, co wskazuje na ochronną rolę elementów innych niż przeciwciała (89). Dane dotyczące komórkowej odpowiedzi immunologicznej są jednak ograniczone i koncentrują się głównie na odpowiedzi zapalnej (cytokiny; 74). Po zakażeniu TGEV specyficzne przeciwciała mogą być wykryte w surowicy od 6 lub 7 DPI i utrzymują się co najmniej przez kilka miesięcy (90, 91, 92, 93, 94). PRCV może wywołać ochronną odporność na TGEV u nowonarodzonych świń. Co więcej, odporność ochronna zbiega się z pojawieniem się przeciwciał neutralizujących wirusa (94).

Chociaż przeciwciała przeciwko PRCV i TGEV wykazują reakcje krzyżowe, istnieją różnice w swoistości niektórych przeciwciał nieneutralizujących, ponieważ PRCV nie posiada pewnych epitopów obecnych u TGEV (90, 91, 92, 93).

Wykazano, że receptory toll-podobne (TLR) odgrywają również ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej i przebiegu zakażeń PEDV (95). U prosiąt ssących zakażonych PEDV zaobserwowano istotnie niższą liczbę komórek NK, o minimalnej aktywności bójczej. Ponadto we krwi i jelitach stwierdzono niższy odsetek komórek NK produkujących IFN-γ w porównaniu z prosiętami odsadzonymi (74). Niepełna ochrona krzyżowa istnieje pomiędzy różnymi genetycznymi klastrami wariantów PEDV (96). Ponadto, nie występuje humoralna odporność krzyżowa pomiędzy PEDV i PDCoV (48). Wystąpienie ognisk SADS-CoV na fermie świń, na której wcześniej obserwowano zakażenie PEDV, również sugeruje brak ochrony krzyżowej pomiędzy PEDV a SADS-CoV (36).

Zmiany patologiczne u młodych świń są podobne w przebiegu zakażenia wszystkimi wymienionymi CoV. Replikacja wirusa zachodzi bardzo szybko, głównie w komórkach nabłonka jelita cienkiego, powodując destrukcję i zanik kosmków. Biegunka obserwowana podczas zakażenia jest prawdopodobnie konsekwencją zaburzeń wchłaniania spowodowanych masywną destrukcją enterocytów. Ponadto, świnie zakażone PEDV, u których obserwowano wymioty, wykazywały znacznie niższy poziom komórek wydzielających serotoninę w dwunastnicy, jelicie czczym środkowym, jelicie krętym i okrężnicy w porównaniu do świń z kontroli negatywnej, co sugeruje, że wydzielanie serotoniny może mieć wpływ na wymioty podczas zakażenia PEDV (97). Opisano również patogenezę zakażeń SADS-CoV (35, 36, 67). Uzyskane wyniki są jednak niespójne. Pan i wsp. (35) wykazali, że SADS-CoV powoduje jedynie łagodne i umiarkowane zmiany w jelitach u trzydniowych prosiąt. Badania przeprowadzone przez Zhou i wsp. (36) wskazują, że SADS-CoV został wykryty tylko w niewielkim odsetku komórek nabłonka jelita czczego, co nie wyjaśnia w pełni 50% (3/6) śmiertelności obserwowanej u trzydniowych prosiąt. W badaniach przeprowadzonych przez Xu i wsp. (67) wykazano, że SADS-CoV atakuje głównie jelito, powodując odpowiednio 100% (12/12) i 50% (2/4) śmiertelność u prosiąt w wieku pięciu dni i świń kontaktowych zakażonych w wieku siedmiu dni. W przebiegu zakażenia wirusowe RNA wykryto również w sercu, wątrobie, śledzionie, nerkach, żołądku i płucach, ale nie stwierdzono go we krwi prosiąt zabitych w siódmym dniu po inokulacji, podczas gdy

świnie te nadal miały ciężką biegunkę (67). Wydaje się, że te skrajnie różne wyniki badań oraz potencjalnie poważny przebieg choroby wywołanej przez SADS-CoV u świń uzasadniają potrzebę przeprowadzenia bardziej szczegółowych badań w tym zakresie.

Kontrola i zapobieganie

Szybka diagnostyka ma zasadnicze znaczenie w zwalczaniu zakażeń CoV, aby zapobiec ich rozprzestrzenianiu się. Obecnie opracowuje się szereg technik, które mogą być stosowane w diagnostyce laboratoryjnej w odniesieniu do wielu CoV. Wysoki poziom bezpieczeństwa biologicznego (ścisłe przestrzeganie zasad bioasekuracji) oraz w niektórych przypadkach szczepionki są pierwszym wyborem w zapobieganiu zakażeniom tymi patogenami (98). Ze względu na brak odporności krzyżowej pomiędzy większością CoV świń (z wyjątkiem TGE i PRCV) zastosowanie swoistej immunoprofilaktyki będzie wymagało opracowania odrębnych szczepionek specyficznych dla każdego wirusa.

Ze względu na fakt, że przebieg zakażeń CoV jest najcięższy u nowonarodzonych prosiąt (do siódmego dnia życia), ochrona tej grupy powinna koncentrować się na zapewnieniu odpowiedniej odporności biernej, szczególnie w odniesieniu do przeciwciał neutralizujących, które mogą być dostarczone prosiętom poprzez siarę i mleko uodpornionych matek (szczepionki, kontakt z materiałem zakaźnym). Wykazano, że miana przeciwciał IgA lub neutralizujących w mleku i siarze są lepszymi markerami odporności laktogennej niż miana przeciwciał w surowicy (99). Żywe, inaktywowane i podjednostkowe szczepionki PED zostały opracowane w Chinach, Japonii, Korei i USA dla loch (98, 100), ale ich skuteczność nie jest wystarczająca do kontrolowania ognisk PEDV, ponieważ choroba pojawiła się również w zaszczepionych stadach. W przypadku PDCoV czy SADS-CoV nie ma obecnie informacji na temat swoistej immunoprofilaktyki. Niektórzy autorzy w celu zmniejszenia śmiertelności u prosiąt ssących, w ramach uzyskania odporności u ciężarnych loch (a w konsekwencji odporności biernej u prosiąt), zalecają feedback z wykorzystaniem rozdrobnionych jelit od zakażonych świń (101). Metody te rodzą jednak problem związany z długotrwałym utrzymywaniem się koronawirusów w gospodarstwach czy też z przenoszeniem innych patogenów w obrębie stada.

Podsumowanie

Ze względu na ich ogromną różnorodność, zdolność do zmiany gospodarza i ciągłe pojawianie się nowych CoV wiedza o tej rodzinie wirusów wymaga ciągłego uaktualniania. Badania nad CoV prowadzące do fundamentalnego zrozumienia ich biologii są niezwykle ważne, ponieważ, jak pokazały ostatnie doświadczenia z SARS-CoV-2, mogą pojawić się wirusy o wysokim potencjale pandemicznym, również w odniesieniu do ludzi, i doprowadzić do poważnych konsekwencji w skali globalnej.

Piśmiennictwo

1. Chan J.F., To K.K., Tse H., Jin D.Y., Yuen K.Y.: Interspecies transmission and emergence of novel viruses: lessons from bats and birds. *Trends Microbiol*. 2013, **21**, 544–555.
2. Vlasova A.N., Saif L.J.: Biological aspects of the interspecies transmission of selected coronaviruses. W: Singh S.K. (edit.): Viral Infections and Global Change, Wiley, 2013, 393–418.
3. Fenner F.: Chapter 24. Coronaviridae. W: Maclachlan NJ, Dubovi EJ (edit.) Fenner's Veterinary Virology, 5th edition, Academic Press, 2017, 435–461.
4. Akimkin V., Beer M., Blome S., Hanke D., Höper D., Jenckel M., Pohlmann A.: New Chimeric Porcine Coronavirus in Swine Feces, Germany, 2012. *Emerg. Infect. Dis*. 2016, **22**, 1314–1315.
5. Boniotti M.B., Papetti A., Lavazza A., Alborali G., Sozzi E., Chiapponi C., Faccini S., Bonilauri P., Cordioli P., Marthaler D.: Porcine Epidemic Diarrhea Virus and Discovery of a Recombinant Swine Enteric Coronavirus, Italy. *Emerg. Infect. Dis*. 2016, **22**, 83–87.
6. Mandelik R., Sarvas M., Jackova A., Salamunova S., Novotny J., Vilcek S.: First outbreak with chimeric swine enteric coronavirus (SeCoV) on pig farms in Slovakia - lessons to learn. *Acta. Vet. Hung*. 2018, **66**, 488–492.
7. De Nova P.J.G., Cortey M., Díaz I., Puente H., Rubio P., Martín M., Carvajal A.: A retrospective study of porcine epidemic diarrhoea virus (PEDV) reveals the presence of swine enteric coronavirus (SeCoV) since 1993 and the recent introduction of a recombinant PEDV-SeCoV in Spain. *Transbound. Emerg. Dis*. 2020, **67**, 2911–2922.
8. Song D., Park B.: Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes*. 2012, **44**, 167–175.
9. Pensaert M.B., de Bouck P.: A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Arch. Virol*. 1978, **58**, 243–247.
10. Wood E.N.: An apparently new syndrome of porcine epidemic diarrhoea. *Vet. Rec*. 1977, **100**, 243–244.
11. Dastjerdi A., Carr J., Ellis R.J., Steinbach F., Williamson S.: Porcine Epidemic Diarrhea Virus among Farmed Pigs, Ukraine. *Emerg. Infect. Dis*. 2015, **21**, 2235–2237.
12. Grasland B., Bigault L., Bernard C., Quenault H., Toulouse O., Fablet C., Rose N., Touzain F., Blanchard Y.: Complete genome sequence of a porcine epidemic diarrhea s gene indel strain isolated in France in december 2014. *Genome Announc*. 2015, 3:e00535–15.
13. Hanke D., Jenckel M., Petrov A., Ritzmann M., Stadler J., Akimkin V., Blome S., Pohlmann A., Schirrmeier H., Beer M., Höper D.: Comparison of porcine epidemic diarrhea viruses from Germany and the United States, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2015, **21**, 493–496.
14. Theuns S., Conceição-Neto N., Christiaens I., Zeller M., Desmarets L.M., Roukaerts I.D., Acar D.D., Heylen E., Matthijnssens J., Nauwynck H.J.: Complete genome sequence of a porcine epidemic diarrhea virus from a novel outbreak in Belgium, January 2015. *Genome Announc*. 2015, 3:pii:e00506–15.
15. Steinrigl A., Fernández S.R., Stoiber F., Pikalo J., Sattler T., Schmoll F.: First detection, clinical presentation and phylogenetic characterization of Porcine epidemic diarrhea virus in Austria. *BMC Vet. Res.* 2015, **11**, 310.
16. Fan H., Zhang J., Ye Y., Tong T., Xie K., Liao M.: Complete genome sequence of a novel porcine epidemic diarrhea virus in south China. *J. Virol*. 2012, **86**, 10248–10249.
17. Luo Y., Zhang J., Deng X., Ye Y., Liao M., Fan H.: Complete genome sequence of a highly prevalent isolate of porcine epidemic diarrhea virus in South China. *J. Virol*. 2012, **86**, 9551.
18. Vlasova A.N., Marthaler D., Wang Q., Culhane M.R., Rossow K., Rovira A., Collins J., Saif L.J.: Distinct Characteristics and Complex Evolution of PEDV Strains, North America, May 2013–February 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014, **20**, 1620–1628.
19. Tan L., Li Y., He J., Hu Y., Cai X., Liu W., Liu T., Wang J., Li Z., Yuan X., Zhan Y., Yang L., Deng Z., Wang N., Yang Y., Wang A.: Epidemic and genetic characterization of porcine epidemic diarrhea virus strains circulating in the regions around Hunan, China, during 2017–2018. *Arch. Virol*. 2020, **165**, 877–889.
20. Wang Q., Vlasova A.N., Kenney S.P., Saif L.J.: Emerging and re-emerging coronaviruses in pigs. *Curr. Opin. Virol*. 2019, **34**, 39–49.
21. Stevenson G.W., Hoang H., Schwartz K.J., Burrough E.R., Sun D., Madson D., Cooper V.L., Pillatzki A., Gauger P., Schmitt B.J., Koster L.G., Killian M.L., Yoon K.J.: Emergence of Porcine Epidemic Diarrhea Virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *J. Vet. Diagn. Invest*. 2013, **25**, 649–654.
22. Cima G.: Viral disease affects US pigs: porcine epidemic diarrhea found in at least 11 states. *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 2013, **243**, 30–31.
23. Kochhar H.S.: Canada: Porcine epidemic diarrhea in Canada: an emerging disease case study. *Can. Vet. J*. 2014, **5**, 1048–1049
24. Lara-Romero R., Gómez-Núñez L., Cerriteño-Sánchez J.L., Márquez-Valdelamar L., Mendoza-Elvira S., Ramírez-Mendoza H., Rivera-Benítez J.: Molecular characterization of the spike gene of the

porcine epidemic diarrhea virus in Mexico, 2013–2016. *Virus Genes*. 2018, **54**, 215–224.
25. Ojkic D., Hazlett M., Fairles J., Marom A., Slavic D., Maxie G., Alexandersen S., Pasick J., Alsop J., Burlatschenko S.: The first case of porcine epidemic diarrhea in Canada. *Can. Vet. J.* 2015, **56**, 149–152
26. Wang L., Byrum B., Zhang Y.: New Variant of Porcine Epidemic Diarrhea Virus, United States, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014, **20**, 917–919.
27. Kocherhans R., Bridgen A., Ackermann M., Tobler K.: Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence. *Virus Genes*. 2001, **23**, 137–144.
28. Huang Y.W., Dickerman A.W., Pineyro P., Li L., Fang L., Kiehne R., Opriessnig T., Meng X.J.: Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *mBio*. 2013, 4:e00737–00713.
29. Tang X.C., Zhang J.X., Zhang S.Y., Wang P., Fan X.H., Li L.F., Li G., Dong B.Q., Liu W., Cheung C.L., Xu K.M., Song W.J., Vijaykrishna D., Poon L.L., Peiris J.S., Smith G.J., Chen H., Guan Y.: Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. *J. Virol*. 2006, **80**, 7481–7490.
30. Liu C., Tang J., Ma Y., Liang X., Yang Y., Peng G., Qi Q., Jiang S., Li J., Du L.: Receptor usage and cell entry of porcine epidemic diarrhea coronavirus. *J. Virol*. 2015, **89**, 6121–6125.
31. Teeravechyan S., Frantz P.N., Wongthida P., Chailangkarn T., Jaru-Ampornpan P., Koonpaew S., Jongkaewwattana A.: Deciphering the biology of porcine epidemic diarrhea virus in the era of reverse genetics. *Virus Res*. 2016, **226**, 152–17.
32. Bevins S.N., Lutman M., Pedersen K., Barrett N., Gidlewski T., Deliberto T.J., Franklin A.B.: Spillover of swine coronaviruses, United States. *Emerg. Infect. Dis*. 2018, **24**, 1390–1392.
33. Lee D.U., Kwon T., Je S.H., Yoo S.J., Seo S.W., Sunwoo S.Y., Lyoo Y.S.: Wild boars harboring porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) may play an important role as a PEDV reservoir. *Vet. Microbiol*. 2016, **192**, 90–94.
34. Gong L., Li J., Zhou Q., Xu Z., Chen L., Zhang Y., Xue C., Wen Z., Cao Y.: A New Bat-HKU2-like Coronavirus in Swine, China, 2017. *Emerg. Infect. Dis*. 2017, **23**, 1607–1609.
35. Pan Y., Tian X., Qin P., Wang B., Zhao P., Yang Y.L., Wang L., Wang D., Song Y., Zhang X., Huang Y.W.: Discovery of a novel swine enteric alphacoronavirus (seacov) in southern China. *Vet. Microbiol*. 2017, **211**, 15–21.
36. Zhou P., Fan H., Lan T., Yang X.L., Shi W.F., Zhang W., Zhu Y., Zhang Y.W., Xie Q.M., Mani S., Zheng X.S., Li B., Li J.M., Guo H., Pei G.Q., An X.P., Chen J.W., Zhou L., Mai K.J., Wu Z.X., Li D., Anderson D.E., Zhang L.B., Li S.Y., Mi Z.Q., He T.T., Cong F., Guo P.J., Huang R., Luo Y., Liu X.L., Chen J., Huang Y., Sun Q., Zhang X.L.L., Wang Y.Y., Xing S.Z., Chen Y.S., Sun Y., Li J., Daszak P., Wang L.F., Shi Z.L., Tong Y.G., Ma J.Y.: Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. **Nature**. 2018, **556**, 255–258.
37. Zhou L., Sun Y., Lan T., Wu R., Chen J., Wu Z., Xie Q., Zhang X., Ma J.: Retrospective detection and phylogenetic analysis of swine acute diarrhoea syndrome coronavirus in pigs in southern China. *Transbound. Emerg. Dis*. 2019, **66**, 687–695.
38. Zhou L., Li Q.N., Su J.N., Chen G.H., Wu Z.X., Luo Y., Wu R.T., Sun Y., Lan T., Ma J.Y.: The re-emerging of SADS-CoV infection in pig herds in Southern China. *Transbound. Emerg. Dis*. 2019, **66**, 2180–2183.
39. Yang Y.L., Qin P., Wang B., Liu Y., Xu G.H., Peng L., Zhou J., Zhu S.J., Huang Y.W.: Broad cross-species infection of cultured cells by bat HKU2-related swine acute diarrhea syndrome coronavirus and identification of its replication in murine dendritic cells in vivo highlight its potential for diverse interspecies transmission. *J. Virol*. 2019, **93**, e01448–19.
40. Zhang Y., Han L., Xia L., Yuan Y., Hu H.: Assessment of hemagglutination activity of porcine deltacoronavirus. *J. Vet. Sci*. 2020, **21**, e12.
41. Wang L., Byrum B., Zhang Y.: Detection and genetic characterization of deltacoronavirus in pigs, Ohio, USA, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014, **20**, 1227–1230.
42. Wang L., Byrum B., Zhang Y.: Porcine coronavirus HKU15 detected in 9 US states, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014, **20**, 1594–1595.
43. Fang P., Fang L., Hong Y., Liu X., Dong N., Ma P., Bi J., Wang D., Xiao S.: Discovery of a novel accessory protein NS7a encoded by porcine deltacoronavirus. *J. Gen. Virol*. 2017, **98**, 173–178.
44. Li G., Chen Q., Harmon K.M., Yoon K.J., Schwartz K.J., Hoogland M.J., Gauger P.C., Main R.G., Zhang J.: Full-length genome sequence of porcine deltacoronavirus strain USA/IA/2014/8734. *Genome Announc*. 2014, **2**, e00278–14.
45. Ma Y., Zhang Y., Liang X., Lou F., Oglesbee M., Krakowka S., Li J.: Origin, evolution, and virulence of porcine deltacoronaviruses in the United States. *MBio*. 2015, **6**, e00064.
46. Wang YW, Yue H, Fang W, Huang YW (2015) Complete Genome Sequence of Porcine Deltacoronavirus Strain CH/Sichuan/S27/2012 from Mainland China. Genome announc 3:e00945–15.
47. Jung K., Saif L.J.: Porcine epidemic diarrhea virus infection: Etiology, epidemiology, pathogenesis and immunoprophylaxis. *Vet. J.* 2015, **204**, 134–143.
48. Ma Y., Zhang Y., Liang X., Oglesbee M., Krakowka S., Niehaus A., Wang G., Jia A, . Song H., Li J.: Two-way antigenic cross-reactivity between porcine epidemic diarrhea virus and porcine deltacoronavirus. *Vet. Microbiol*. 2016, **186**, 90–96.
49. Li W., Hulswit R.J.G., Kenney S.P., Widjaja I., Jung K., Alhamo M.A., van Dieren, B., van Kuppeveld F.J.M., Saif L.J., Bosch B.J.: Broad receptor engagement of an emerging global coronavirus may potentiate its diverse cross-species transmissibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2018, **115**, E5135–E5143.
50. Boley P.A., Alhamo M.A., Lossie G., Yadav K.K., Vasquez-Lee M., Saif L.J., Kenney S.P.: Porcine Deltacoronavirus Infection and Transmission in Poultry, United States. *Emerg. Infect. Dis*. 2020, **26**, 255–265.
51. Marthaler D., Raymond L., Jiang Y., Collins J., Rossow K., Rovira A.: Rapid detection, complete genome sequencing, and phylogenetic analysis of porcine deltacoronavirus. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, **20**, 1347–1350.
52. He W.T., Ji X., He W., Dellicour S., Wang S., Li L., Zhang L., Gilbert M., Zhu H., Xing G., Veit M., Huang Z., Han G.Z., Huang Y., Suchard M.A., Baele G., Lemey P., Su S.: Genomic epidemiology, evolution, and transmission dynamics of porcine deltacoronavirus. *Mol. Biol. Evol*. 2020, msaa117.
53. Janetanakit T., Lumyai M., Bunpapong N., Boonyapisitsopa S., Chaiyawong S., Nonthabenjawan N., Kesdaengsakonwut S., Amonsin A.: Porcine deltacoronavirus, Thailand, 2015. *Emerg. Infect. Dis*. 2016, **22**, 757–759.
54. Lee S., Lee C.: Complete Genome Characterization of Korean Porcine Deltacoronavirus Strain KOR/KNU14–04/2014. *Genome Announc*. 2014, **2**, e01191–14.
55. Zhang H., Liang Q., Li B., Cui X., Wei X., DING Q., Wang Y., Hu H.: Prevalence, phylogenetic and evolutionary analysis of porcine deltacoronavirus in Henan province, China. *Prev. Vet. Med*. 2019, **166**, 8–15.
56. Fu J., Chen R., Hu J., Qu H., Zhao Y., Cao S., Wen X., Wen Y., Wu R., Zhao Q., Ma X., Huang X.: Identification of a Novel Linear B-Cell Epitope on the Nucleocapsid Protein of Porcine Deltacoronavirus. *Int. J. Mol. Sci*. 2020, **21**, 648.
57. Chen F., Knutson T.P., Rossow S., Saif L.J., Marthaler D.G.: Decline of transmissible gastroenteritis virus and its complex evolutionary relationship with porcine respiratory coronavirus in the United States. *Sci. Rep.* 2019, **9**, 3953.
58. Bohl E.H.: Transmissible Gastroenteritis Virus (Classical enteric variant) W: Pensaert M.B. (edit.): Virus Infections of Vertebrates 2nd edn. Vol. 2. Elsevier, Amsterdam, 1989, 139–153.
59. Pilchard E.I.: Experimental transmission of transmissible gastroenteritis virus by starlings. *Am. J. Vet. Res*. 1965, **26**, 1177–1179.
60. Doyle L.P., Hutchings L.M.: A transmissible gastroenteritis in pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 1946, **108**, 257.
61. Enjuanes L., van der Zeijst B.A.M.: Molecular Basis of Transmissible Gastroenteritis Virus Epidemiology. The Coronaviridae, 1995, 337–376. Doi: 10.1007/978–1–4899–1531–3_16
62. Valkó A., Bálint Á., Bozsa Á., Cságola A.: Prevalence of antibodies against transmissible gastroenteritis virus (TGEV) in Hungary. *Vet. Anim. Sci.* 2019, **7**, 100042.
63. Pejsak Z.: Koronawirusowe zapalenie żołądka i jelit świń. W: Ochrona Zdrowia Świń, Państwowe Wyd. Rolnicze. 2007, 223–224.
64. Jung K., Hu H., Saif L.J.: Porcine deltacoronavirus infection: Etiology, cell culture for virus isolation and propagation, molecular epidemiology and pathogenesis. *Virus Res*. 2016, **226**, 50–59.
65. Saif L.J., Pensaert M.B., Sestak K., Yeo S., Jung K.: Coronaviruses.W: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. (edit.): Diseases of Swine 10th edition, Ames, IA. John Wiley & Sons Ltd. 2012, 501–524.
66. Niederwerder M.C., Hesse, R.A.: Swine enteric coronavirus disease: A review of 4 years with porcine epidemic diarrhoea virus and porcine deltacoronavirus in the United States and Canada. *Transbound. Emerg. Dis*. 2018, 65, 660–675.
67. Xu Z., Zhang Y., Gong L., Huang L., Lin Y., Qin J., Du Y., Zhou Q., Xue C., Cao Y.: Isolation and characterization of a highly pathogenic strain of Porcine enteric alphacoronavirus causing watery diarrhoea and high mortality in newborn piglets. *Transbound. Emerg. Dis*. 2019, 66, 119–130.
68. Koonpaew S., Teeravechyan S., Frantz P.N., Chailangkarn T., Jongkaewwattana A.: PEDV and PDCoV Pathogenesis: The Interplay Between Host Innate Immune Responses and Porcine Enteric Coronaviruses. *Front. Vet. Sci*. 2019, **6**, 34.
69. Zhou Z., Sun Y., Yan X., Tang X., Li Q., Tan Y., Lan T., Ma J.: Swine acute diarrhea syndrome coronavirus (SADS-CoV) antagonizes interferon- production via blocking IPS-1 and RIG-I. *Virus Res*. 2020, **278**, 197843.
70. Zhang J., Han Y., Shi H., Chen J., Zhang X., Wang X., Zhou L., Liu J., Zhang J., Ji Z., Jing Z., Ma J., Shi D., Feng L.: Swine acute diarrhea syndrome coronavirus-induced apoptosis is caspase- and cyclophilin D-dependent. *Emerg. Microbes. Infect*. 2020, **9**, 439–456.

71. Bowman A.S., Krogwold R.A., Price T., Davis M., Moeller S.J.: Investigating the introduction of porcine epidemic diarrhea virus into an Ohio swine operation. *BMC Vet. Res*. 2015, **11**, 38.
72. Pasick J., Berhane Y., Ojkic D., Maxie G., Embury-Hyatt C., Swekla K., Handel K., Fairles J., Alexandersen S.: Investigation into the role of potentially contaminated feed as a source of the first-detected outbreaks of porcine epidemic diarrhea in Canada. *Transbound. Emerg. Dis.* 2014, **61**, 397–410.
73. Pillatzki A., Gauger P., Madson D., Burrough E., Zhang J., Chen Q., Magstadt D., Arruda P., Stevenson G., Yoon K.J.: Experimental inoculation of neonatal piglets with feed naturally contaminated with porcine epidemic diarrhea virus (PEDV). *J. Swine Health Prod.* 2015, **23**, 317–320
74. Annamalai T., Saif L.J., Lu Z., Jung K.: Age-dependent variation in innate immune responses to porcine epidemic diarrhea virus infection in suckling versus weaned pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2015, **168**, 193–202.
75. Hammerberg C., Schurig G.G., Ochs D.L.: Immunodeficiency in young pigs. *Am. J. Vet. Res. 1989*, **50**, 868–874.
76. Jung K., Annamalai T., Lu Z., Saif L.J.: Comparative pathogenesis of US porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain PC21A in conventional 9-day-old nursing piglets vs. 26-day-old weaned pigs. *Vet. Microbiol*. 2015, **178**, 31–40.
77. Moon H.W., Kemeny L.J., Lambert G., Stark S.L., Booth G.D.: Age-dependent resistance to transmissible gastroenteritis of swine. III. Effects of epithelial cell kinetics on coronavirus production and on atrophy of intestinal villi. *Vet. Pathol*. 1975, **12**, 434–445.
78. Derbyshire J.B., Jessett D.M., Newman G.: An experimental epidemiological study of porcine transmissible gastroenteritis. *J. Comp. Pathol*. 1969, **79**, 445–452.
79. Lin C.M., Saif L.J., Marthaler D., Wang Q.: Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains. *Virus Res.* 2016, **226**, 20–39.
80. Chen Q., Gauger P., Stafne M., Thomas J., Arruda P., Burrough E., Madson D., Brodie J., Magstadt D., Derscheid R., Welch M., Zhang J.: Pathogenicity and pathogenesis of a United States porcine deltacoronavirus cell culture isolate in 5-day-old neonatal piglets. *Virology*. 2015, **482**, 51–59.
81. Li H.Y., Li B.X., Liang Q.Q., Jin X.H., Tang L., Ding Q.W., Wang Z.X., Wei Z.Y.: Porcine deltacoronavirus infection alters bacterial communities in the colon and feces of neonatal piglets. *Microbiologyopen*. 2020, **7**, e1036.
82. Diel D.G., Lawson S., Okda F., Singrey A., Clement T., Fernandes M.H.V., Christopher-Hennings J., Nelson E.A.: Porcine epidemic diarrhea virus: an overview of current virological and serological diagnostic methods. *Virus Res*. 2016, **226**, 60–70.
83. Gimenez-Lirola L.G., Zhang J., Carrillo-Avila J.A., Chen Q., Magtoto R., Poonsuk K., Baum D.H., Pineyro P., Zimmerman J.: Reactivity of porcine epidemic diarrhea virus structural proteins to antibodies against porcine enteric coronaviruses: diagnostic implications. *J. Clin. Microbiol*. 2017, **55**, 1426–1436.
84. De Arriba M.L., Carvajal A., Pozo J., Rubio P.: Mucosal and systemic isotype-specific antibody responses and protection in conventional pigs exposed to virulent or attenuated porcine epidemic diarrhoea virus. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2002, **85**, 85–97.
85. De Arriba M.L., Carvajal A., Pozo J., Rubio P.: Isotype-specific antibody-secreting cells in systemic and mucosal associated lymphoid tissues and antibody responses in serum of conventional pigs inoculated with PEDV. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2002, **84**, 1–16.
86. Ouyang K., Shyu D.L., Dhakal S., Hiremath J., Binjawadagi B., Lakshmanappa Y.S., Guo R., Ransburgh R., Bondra K.M., Gauger P., Zhang J., Specht T., Gilbertie A., Minton W., Fang Y., Renukaradhya G.J.: Evaluation of humoral immune status in porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) infected sows under field conditions. *Vet Res.* 2015, **46**, 140.
87. Krishna V.D., Kim Y., Yang M., Vannucci F., Molitor T., Torremorell M., Cheeran M.C.J.: Immune responses to porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in swine and protection against subsequent infection. *PLOS ONE*. 2020, **15**, 4.
88. Mayo K.A.: Emerging swine enteric coronaviruses: Comparison of pathogenicity and antibody response. Graduate Theses and Dissertations. 2017, 16732. https://lib.dr.iastate.edu/etd/16732
89. Lin C.M., Ghimire S., Hou Y., Langel S.N., Vlasova A.N., Saif, L.J., Wang Q.: Pathogenicity and immunogenicity of attenuated porcine epidemic diarrhea virus PC22A strain in conventional weaned pigs. *BMC Vet. Res*. 2019, **15**, 26.
90. Callebaut T.P., Pensaert M.B., Hooyberghs J.: A competitive inhibition ELISA for the differentiation of serum antibodies from pigs infected with transmissible gastroenteritis virus (TGEV) or with the TGEV-related porcine respiratory coronavirus. Vet. Microbiol, 1989, **20**, 9–19.
91. Enjuanes L., Sola I., Almazán F., Ortego J., Izeta A., González J.M., Alonso S., Sánchez-Morgado J.M., Escors D., Calvo E., Riquelme C., Sánchez C.M.: Coronavirus derived expression systems. *J. Biotech*. 2001, **88**, 183–204.
92. Garwes D.J., Stewart F., Cartwright S.F., Brown I.: Differentiation of porcine coronavirus from transmissible gastroenteritis virus. *Vet. Rec*. 1988, **122**, 86–87.
93. Saif L.J., Sestak K.: Transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus. W: Straw B.E. (edit.): Diseases of Swine, 9th Edition, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. 2006, 489–516
94. Wesley R.D., Woods R.D.: Induction of protective immunity against transmissible gastroenteritis virus after exposure of neonatal pigs to porcine respiratory coronavirus. *Am. J. Vet. Res*. 1996, **57**, 157–162
95. Cao L., Ge X., Gao Y., Ren Y., Ren X., Li G.: Porcine epidemic diarrhea virus infection induces NF-kappaB activation through the TLR2, TLR3 and TLR9 pathways in porcine intestinal epithelial cells. *J. Gen. Virol.* 2015, **96**, 1757–1767.
96. Lin CM, Annamalai T., Liu X., Gao X., Lu Z., El-Tholoth M., Hu H., Saif L.J., Wang Q.: Experimental infection of a US spike-insertion deletion porcine epidemic diarrhea virus in conventional nursing piglets and cross-protection to the original US PEDV infection. *Vet. Res.* 2015, **46**, 134.
97. Jung K., Miyazaki A., Saif L.J.: Immunohistochemical detection of the vomiting-inducing monoamine neurotransmitter serotonin and enterochromaffin cells in the intestines of conventional or gnotobiotic (Gn) pigs infected with porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) and serum cytokine responses of Gn pigs to acute PEDV infection. *Res. Vet. Sci.* 2018, **119**, 99–108.
98. Crawford K., Lager K.M., Kulshreshtha V., Miller L.C., Faaberg K.S.: Status of vaccines for porcine epidemic diarrhea virus in the United States and Canada. *Virus Res.* 2016, **226**, 108–116.
99. Bjustrom-Kraft J., Woodard K., Gimenez-Lirola L., Setness B., Ji J., Lasley P., Nelson E., Zhang J.Q., Baum D., Gauger P., Main R., Zimmerman J.: Serum and mammary secretion antibody responses in porcine epidemic diarrhea-immune gilts following porcine epidemic diarrhea vaccination. *J. Swine Health Prod*. 2018, **26**, 34–40.
100. Song D., Moon H., Kang B.: Porcine epidemic diarrhea: a review of current epidemiology and available vaccines. *Clin. Exp. Vac. Res.* 2015, 4, 166–176.
101. Chattha K.S., Roth J.A., Saif L.J.: Strategies for design and application of enteric viral vaccines. *Annu. Rev. Anim. Biosci*. 2015, 3, 375–395.

Prof. dr hab. Małgorzata Pomorska-Mól,
e-mail: mpomorska@up.poznan.pl