

Alfakoronawirus i deltakoronawirus oraz wywoływane przez nie choroby biegunkowe świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 14.04.2015

Zaakceptowano 15.05.2015

Truszczyński M., Pejsak Z.

Alphacoronavirus and Deltacoronavirus and diarrheal diseases of pigs caused by these viruses

Summary

The characterization of Porcine Epidemic Diarrhea (PED) caused by Porcine Alphacoronavirus (PEDV), followed by a short description of Porcine Deltacoronavirus infection, is presented. The occurrence of PED is given, mentioning Europe in the period 1970-1990 including sporadic outbreaks later, Asia – starting since the 90-ties until now, and the Americas, particularly USA, since 2013. The characteristics of PEDV are given, followed by the text concerning infection and pathogenesis, clinical symptoms, anatomical changes, laboratory diagnosis, presence in matrices, prevention and control. In the description of the Porcine Deltacoronavirus (PDCoV), its first detection in Hong Kong in 2012 is mentioned, followed by its identification in the beginning of 2014 and later in the USA, Canada and China. Based on the currently available field observation from the USA the opinion is existing, that PDCoV infection would have a lower impact than PED. Diagnostic tests are in the final stage of validation. When more broadly applied they will contribute to better knowledge about the importance of PDCoV infection in the swine production.

Keywords: Alphacoronavirus, porcine epidemic diarrhea, Deltacoronavirus, porcine diarrhea of lower impact

Celem niniejszego artykułu przeglądowego jest przedstawienie danych piśmiennictwa, z uwzględnieniem najnowszych publikacji, na temat chorobotwórczości dwóch rodzajów wirusów: alfakoronawirusa (*Alphacoronavirus*), wywołującego epidemiczną biegunkę świń (Porcine Epidemic Diarrhea, PED), czyli PEDV, oraz niedawno wykrytego u świń w Hongkongu (34), USA, Kanadzie i Chinach deltakoronawirusa (Porcine Deltacoronavirus, PDCoV), który jest odrębnym czynnikiem etiologicznym biegunki świń o innym niż PED obrazie chorobowym (13).

Definicja i występowanie PED

Epidemiczna biegunka świń, zaraźliwa choroba wirusowa wyłącznie tego gatunku, powodująca szczególnie poważne straty wśród prosiąt osesków, do okresu odsadzenia od lochy, występuje we wszystkich grupach wiekowych trzody chlewnej. Zgodnie z definicją Komisji Europejskiej (5), PED jest chorobą biegunkową wywołaną przez koronawirusa z rodzaju *Alphacoronavirus*.

Jak wynika z danych przedstawionych przez Pensarerta i Yeo (21) oraz Oldhama (18) i zgodnie z naukową opinią wieloautorską opracowaną w 2014 r. na prośbę EFSA (5), PED pojawiła się w Europie we wczesnych

latach 70. XX w., po raz pierwszy w Anglii: u prosiąt, warchlaków i tuczników. U chorych lub padłych zwierząt wykluczono koronawirusa, wywołującego wirusowe zapalenie żołądka i jelit (Transmissible Gastroenteritis, TGE) oraz inne enteropatogenne wirusy i bakterie.

Poza Anglią PEDV i/lub swoiste przeciwciała, wykazywano w latach osiemdziesiątych lub dziewięćdziesiątych XX w. w Belgii, Niemczech, Francji, Holandii, Szwajcarii (5, 21, 24). W okresie tym, sukcesywnie, ogniska PED stawały się w Europie coraz rzadsze, ale wirus nie uległ eradykacji, czego dowodem były sporadyczne i ograniczone, co do zasięgu, wybuchy PED w niektórych krajach członkowskich Unii Europejskiej (EU) (5). Przypadki PED wykazano zwłaszcza we Włoszech w latach 2005-2006, w liczbie 63 ognisk w Dolinie Padu (5), a ostatnio, w listopadzie 2014 r. w Holandii w jednej tuczarni oraz w styczniu i lutym 2015 r. w chlewniach o pełnym cyklu produkcyjnym.

W latach 90. XX w. kontynent azjatycki stał się obszarem coraz częstszego pojawiania się PED, przede wszystkim w: Korei Południowej, Chinach, Japonii, na Filipinach i w Tajlandii (5, 21, 24). Występowanie choroby ze znaczną liczbą ognisk utrzymuje się w Azji do chwili obecnej.

W USA PED wystąpiła w kwietniu 2013 r., a potwierdzona została laboratoryjnie w maju 2013 r., zgodnie z danymi kongresu AASV (American Association of Swine Veterinarians), który odbył się w Orlando, USA, w marcu 2015 r. Jak wynika z tych danych, do marca 2015 r. potwierdzono PED we wszystkich 33 stanach USA, w których prowadzona jest produkcja trzody chlewnej, czyli na bardzo dużym obszarze kraju; świadczy to o dużej szybkości szerzenia się tej choroby. Izolowane szczepy wirusa wywołującego PED okazały się w swych właściwościach bardzo podobne do szczepów, które wywoływały PED w Chinach (5).

W 2014 r. PED stwierdzono w Kanadzie, Peru, Japonii i Meksyku oraz na Ukrainie i w Rosji (5).

Obecnie PED nie jest chorobą o urzędowym obowiązku zgłaszania w krajach członkowskich UE, nie znajduje się także na liście chorób zgłaszanych do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) (5).

PED, przeciwnie niż w odniesieniu do USA i Azji, w Europie nie stanowi obecnie znaczącego problemu zdrowotnego i przyczyny strat w produkcji świń, nie można jednak wykluczyć ciągłego zagrożenia tego kontynentu z uwagi na kontakty międzynarodowe, w tym obrót świniami lub ich produktami, z krajami, w których PED występuje.

Charakterystyka wirusa

Czynnikiem etiologicznym PED jest koronawirus (PEDV), zaliczony do rodzaju *Alphacoronavirus*, rodziny *Coronaviridae* (5). PEDV jest patogenem posiadającym otoczkę. Jego genom stanowi jednociowy RNA o dodatniej polarności, złożony z 28 000 nukleotydów (5, 23). Genom zawiera 7 znanych otwartych ramek odczytu (ORF), kodujących białka niestrukturalne i strukturalne: S (spike), E (envelope), M (membrane) i N (nucleocapsid). Białka S, E i M są istotne w pobudzaniu odporności przeciwwakacyjnej i w opracowywaniu szczepionek przeciw PEDV (25). Białko M indukuje wytwarzanie przeciwciał, które neutralizują wirus w obecności dopełniacza (28).

Opierając się na sekwencjonowaniu nukleotydów stwierdzono obecność wariantów PEDV, krążących w Europie, Amerykach i Azji, przy braku wystarczających informacji na temat związku odnośnych różnic genetycznych i zjadliwości oraz antygenowości danych szczepów (5).

Analiza sekwencyjna, wykonana ostatnio w USA, umożliwiła rozróżnienie dwóch szczepów PEDV: szczepu prototypowego U.S.-PEDV i jego wariantu, czyli U.S.-PEDV wariantu (3, 31, 33). Zhang i wsp. (35) potwierdzili, że szczepy prototypu U.S.-PEDV wywoływały u 5-dniowych prosiąt biegunkę o ostrym przebiegu, z wyraźnymi objawami klinicznymi, podczas gdy szczepy wariantu U.S.-PEDV były przyczyną biegunki o łagodnym przebiegu.

Chen i wsp. (4) wykazali, że surowice przeciw szczepowi prototypowemu U.S.-PEDV (Pro-antisera) dawały odczyny dodatnie z antygenami szczepu ho-

mologicznego i heterologicznego (czyli wariantu), a surowice przeciw antygenom wariantu U.S.-PEDV reagowały pozytywnie w układzie homologicznym i heterologicznym. Stwierdzono zatem w obu przypadkach odczyny krzyżowe przy wyższych mianach w układach homologicznych. PEDV namnaża się w komórkach linii Vero w obecności trypsyny, a efekt cytopatyczny charakteryzuje się wakuolizacją i tworzeniem syncytiów (9).

Zakażenie i patogenez

Głównym sposobem transmisji PEDV z osobnika zakażonego lub przedmiotu zanieczyszczonego wirusem na świnie wrażliwe jest zakażenie doustne. Najważniejszym źródłem PEDV jest kał chorujących na PED świń.

Wirus wprowadzają do stada świń wrażliwych osobniki zakażone, zanieczyszczone wirusem środki transportu, człowiek i przedmioty kontaktujące się ze środowiskiem, w którym przebywają świnie zakażone. Nosicielstwo i siewstwo wirusa utrzymuje się u świń 7-9 dni (6, 24), to jest do momentu pojawienia się swoistych przeciwciał neutralizujących. W szerzeniu PEDV brana jest też pod uwagę droga aerogenna (1). Dane te potwierdzają wyniki przedstawione na Kongresie AASV w Orlando w 2015 r. (2).

Zgodnie z wynikami Pospischila i wsp. (22) oraz Saifa i wsp. (24), początek rozwoju procesu zakażenia komórki ma miejsce w cytoplazmie enterocytów jelita cienkiego, w tym w komórkach nabłonka kosmków jelitowych w okresie pierwszych 12-18 godzin trwającej infekcji. Wynikiem jest degeneracja enterocytów. Badanie histopatologiczne wykazały, że kosmki jelitowe są zredukowane do $\frac{2}{3}$ pierwotnej wysokości (5, 8, 14, 28). PEDV wykazano też w enterocytach okrężnicy. Replikacji PEDV poza komórkami nabłonka jelit nie stwierdzono.

Zmiany chorobowe wywołane przez PEDV są podobne do zmian powodowanych przez TGEV, lecz mniej wyraźnie wykształcone.

Objawy kliniczne

Ustalony eksperymentalnie okres inkubacji choroby wynosi około 36 godzin (5), może być nawet krótszy, poniżej 24 godzin, licząc od urodzenia prosięcia. Śmiertelność noworodków i wczesnie odsadzonych prosiąt wynosi 30-100%, a warchlaków najczęściej oceniana jest na 1-3%. Opóźnienie we wzroście i osiągnięciu wagi rzeźnej dotyczy 10-12% prosiąt i warchlaków. Jeżeli do stada zwierząt wrażliwych, wolnych od infekcji, wprowadzone zostały siejące PEDV świnie, to objawy kliniczne u dotychczas niezakażonych osobników występują w ciągu 4-5 dni, czyli później niż podano poprzednio. Inkubacja PEDV jest też dłuższa niż w przypadku TGE (20, 24).

Zgodnie z danymi przedstawionymi przez Pensaerta i wsp. (21) oraz Saifa i wsp. (24), głównymi objawami PED, poza utratą apetytu, są: wodnista biegunka

i wymioty oraz odwodnienie organizmu zwierzęcia. W stadach o cyklu zamkniętym zachorowują świnie wszystkich grup wiekowych, ale przede wszystkim prosięta. U prosiąt ssących zachorowalność może dochodzić do 100%, natomiast u loch jest zróżnicowana w obrębie stada i między stadami. Prosięta w wieku do 1 tygodnia giną z powodu odwodnienia po 3-4 dniach trwania biegunki. Chorujące prosięta odsadzone od lochy na ogół zdrowieją po około 1 tygodniu od wystąpienia objawów chorobowych. Siewstwo wirusa z kałem może utrzymywać się mimo ustąpienia biegunki. Zakażenie loch nie zawsze prowadzi u nich do wystąpienia biegunki. Wtedy jedynymi objawami PED są: trwające kilka dni osowienie i utrata apetytu. U tuczników na ogół wszystkie zainfekowane zwierzęta demonstrują wystąpienie przemijającej biegunki, utratę apetytu i osowienie. Zejścia śmiertelne są u tuczników rzadkie, przy znacznym odsetku zachorowań i opóźnieniu osiągnięcia wagi rzeźnej.

W fermach prowadzących produkcję tuczników – prosięta i warchlaki – po pierwszej fali licznych zachorowań, w kolejnych cyklach produkcyjnych wykazują mniej intensywną biegunkę, włącznie do jej niewystępowania, mimo obecności wirusa w danym stadzie. Powyższe związane jest z przekazywaniem oseskom wysokiego stopnia siarowej i laktogennej odporności przeciw PED ze strony naturalnie lub sztucznie uodpornionych loch (21). W okresie po odsadzeniu i zaniku biernej odporności matczynej może pojawić się wywołana przez PEDV tzw. biegunka okresu poodsadzeniowego (15).

Niektóre fermy stanowią utrzymujące się przez kolejne cykle produkcyjne endemiczne ognisko, czyli źródło wirusa PED, co najczęściej związane jest z niestaraną dezynfekcją pomieszczeń i sprzętu po poprzedniej obsadzie (5).

Przebieg PED, w sensie klinicznym, w Azji (po 2010 r.) i USA wydaje się bardziej wyrazisty, ostry i uciążliwy niż w Europie (10). Stwierdzając to, należy mieć świadomość, że wpływ na przebieg zakażenia ma nie tylko genetycznie determinowana chorobotwórczość wirusa, ale też inne czynniki, jak: system produkcji, czas występowania choroby, zarządzanie fermą, gęstość populacji, wielkość stada, status odporności danej populacji i obecność równoczesna innych chorób (17).

Często występuje u prosiąt i warchlaków biegunka polietiologiczna, w której wywoływaniu, oprócz PEDV, uczestniczą inne wirusy lub bakterie. W USA wykazano, że w stadach dotkniętych PED w skali rocznej uzyskiwano od lochy 2,8 prosięcia mniej. O około 5-8% były niższe skuteczność inseminacji oraz wskaźnik wyrosień (21).

Zmiany anatomopatologiczne

Ograniczają się do jelita cienkiego, charakteryzując się zapaleniem tego odcinka przewodu pokarmowego (11). Jego treść jest wodnista i barwy żółtawej. Padłe

prosięta oseski, u których występowała biegunka, są silnie odwodnione.

Rozpoznanie

Badanie kliniczne i sekcyjne nie jest wystarczające do rozpoznania PED, w związku z czym diagnoza wymaga wykonania badań laboratoryjnych, identyfikujących wirus lub swoiste przeciwciała.

Testem szczególnie przydatnym do wykrycia materiału genetycznego PEDV jest test RT-PCR (12). Do badań mających na celu identyfikację wirusa należy pobrać około 10 ml płynnego kału lub zawartości jelit cienkich od prosięcia z biegunką o ostrym przebiegu w ciągu 24 godzin od pojawienia się objawów klinicznych i możliwie szybko dostarczyć w schłodzeniu do laboratorium. Do badań laboratoryjnych służą również wycinki jelita biodrowego i jelita czczego, które – pobrane jak najwcześniej po śmierci zwierzęcia i schłodzone – należy jak najszybciej dostarczyć do laboratorium.

Jak podaje Saif i wsp. (24), bezpośrednie wykazanie PEDV i/lub jego antygenów ma również miejsce przy zastosowaniu testu bezpośredniej immunofluorescencji (26) lub testów immunohistochemicznych rozcierów lub skrawków tkanek ściany jelita cienkiego prosiąt osesków, padłych 1 dzień po pojawieniu się biegunki (24). Izolacja szczepów terenowych PEDV z kału uzyskiwana jest w hodowlach komórek Vero lub innych linii komórkowych, a wykrycie w nich wirusa osiąga się przy użyciu wym. testu immunofluorescencji (26). Do wykazania swoistych przeciwciał stosowany jest test ELISA z antygenami wirusa namnożonego w komórkach Vero (24). Oprócz badań w kierunku PEDV zaleca się wykonanie w ramach diagnozy różnicowej badania w kierunku wirusa TGE i rotawirusów oraz omówionego poniżej deltakoronawirusa.

Występowanie i przeżywalność wirusa w różnych środowiskach

Kał uznany jest za główne źródło transmisji PEDV do świń (5). PEDV zachowuje w tym środowisku zdolność infekcyjną do temp. 62,7°C przez 10 minut jej działania lub, jeżeli jest inkubowany w temperaturze między 10 i 60°C przy wilgotności względnej 30-70%, do 7 dni. Uważa się, że bardzo mała ilość wirusa w kale wystarcza do przeniesienia infekcji na kolejne wrażliwe zwierzę. Dotychczas nie wykazano w gnojowicy infekcyjnego wirusa ani zakażenia za jej pośrednictwem wrażliwych świń. Wirus eksperymentalnie dodany do gnojowicy w temperaturze pokojowej ~ 25°C pozostaje zakaźny przez 14 dni, a przez 28 dni lub więcej przy temperaturze 4°C lub -20°C (5). Brak danych na temat wykazania infekcyjnego PEDV w nasieniu knura ani znaczenia nasienia w transmisji PEDV (1). Nie stwierdzono PEDV w płodach.

Pasick i wsp. (19) wykazali, że wysuszona krew i wysuszone osocze (plazma), czyli SDPP (spray-dried porcine blood and plasma), podawane jako dodatek do paszy, pochodzące od świń wcześniej chorujących

na PED, nie zawierały PEDV zdolnego do zakażenia i wywoływania PED u świń.

PEDV był, jak wspomniano, wykazywany w próbkach powietrza, pochodzących z ferm z naturalnie zakażonymi świniąmi oraz z izolatorów z eksperymentalnie zakażonymi prosiętami. Dostępne dane sugerują, że PEDV w warunkach naturalnych może być przekazywany drogą powietrzną na krótkie odległości (1).

Zapobieganie i zwalczanie

Bardzo istotnym elementem zapobiegania PED jest ściśle przestrzeganie, by do stada świń zdrowych, wolnych od PEDV, nie zostały wprowadzone osobniki zakażone lub pochodzące z ferm, w których endemicznie występuje PED. Zakaz wchodzenia na teren fermy dotyczy również ludzi z zewnątrz, których ubiór czy obuwie lub ręce mogą być zanieczyszczone kałem zawierającym PEDV. To samo odnosi się do zanieczyszczonych przedmiotów oraz środków transportu. Ważnym warunkiem bioasekuracji jest częsta dezynfekcja fermy i ograniczanie kontaktu z potencjalnymi zewnętrznymi źródłami PEDV.

Zalecanym środkiem dezynfekcji w przypadku PEDV jest między innymi Virkon S, w rozcieńczeniu 1 : 100 i szybko działający nadtlenek wodoru (22).

Po stwierdzeniu pierwszych zachorowań w stadzie celowe jest zakażenie wszystkich loch prośnych przy użyciu wodnistego kału lub rozcieru jelit cienkich od chorych na PED prosiąt. Zawarty w tych materiałach wirus, nie wywołując ronień, indukuje u loch wytwarzanie swoistych dla PEDV przeciwciał przekazywanych oseskom w siarze, a następnie w mleku, chroniąc je przed zachorowaniem. Niektórzy zalecają uodpornienie materiałem zawierającym PEDV prosiąt po odsadzeniu od loch oraz warchlaków i tuczników, co skraca występowanie PED w danym stadzie (16, 24).

Dane z kongresu AASV odbytego w marcu 2015 r. w Orlando potwierdziły (7), że przebieg PED u prosiąt urodzonych przez lochy odporne przeciw PEDV, w wyniku ich wcześniejszego celowego zakażenia lub przechorowania po zakażeniu naturalnym, był łagodniejszy niż u prosiąt pochodzących od loch wrażliwych. Cytowani autorzy wykazali, że odporność przeciwzakażna utrzymywała się u loch 7 miesięcy od ekspozycji na PEDV, wyrażając się u prosiąt zmniejszoną zachorowalnością i śmiertelnością oraz mniejszym siewstwem. Odporność ta odnosiła się nie tylko do szczepów zakażających lochy o dużej zjadliwości, ale również szczepów wywołujących PED o łagodnym przebiegu.

Deltakoronawirus i wywołana przez niego biegunka świń

Pierwsze informacje o wykryciu u świń deltakoronawirusa (PDCoV) pochodzą z Hongkongu z 2012 r. (34), jednak jego związek etiologiczny z wywoływaniem schorzenia biegunkowego w stadzie loch w stanie Iowa, USA został wykazany ostatecznie w lutym

2014 r. (13) przy wykluczeniu jako przyczyny choroby PEDV i TGEV. Analiza porównawcza przy użyciu techniki sekwencjonowania potwierdziła odrębność PDCoV (13). Od tej publikacji licząc, tzn. w ciągu kilku miesięcy, PDCoV jako przyczynę biegunki świń wykazano w 277 fermach, zlokalizowanych w 15 stanach USA, czyli na dość dużym obszarze tego kraju. W licznych fermach w przypadkach biegunki wykrywano równocześnie PDCoV i PEDV (32, 33). Jak podano na wstępie, PDCoV wykazano również w Kanadzie i Chinach (13).

Konieczne są kolejne prace badawcze w celu bardziej jednoznacznego określenia roli PDCoV w wywoływaniu biegunki świń (5). Będzie to niebawem możliwe, gdyż zgodnie z danymi EFSA (5), zostały opracowane testy diagnostyczne do wykrywania specyficznych przeciwciał, które znajdują się w końcowym procesie walidacji.

O pojawieniu się w USA PDCoV jako przyczyny biegunki świń poinformowano OIE w kwietniu 2014 r. Wydano też zarządzenie o obowiązku zgłaszania do Departamentu Rolnictwa USA każdego przypadku wykrycia PDCoV (5).

O odrębności i chorobotwórczości PDCoV dla świń świadczą dwa doniesienia prezentowane na kongresie AASV w marcu 2015 r. Autorzy pierwszej publikacji (29) potwierdzili, stosując ELISA, brak reakcji krzyżowych z żadnym z innych, wchodzących w grę koronawirusów, na materiale 355 próbek surowic, pobranych w 2014 r., pochodzących z 51 ferm z 18 stanów USA; przeciwciała IgG swoiste wykryto średnio w 8,7% próbek świń badanych. Otrzymane wyniki sugerują, że PDCoV występował w USA przez szereg lat wcześniej niż został wykryty laboratoryjnie w 2014 r. i że test ELISA może okazać się użyteczny w następnych badaniach epidemiologicznych tej infekcji.

Z przedstawionej na wymienionym kongresie drugiej pracy, dotyczącej PDCoV (30), wykonanej przy użyciu technik histopatologicznych i immunohistochemicznych wynika, że PDCoV wywołuje, oprócz biegunki, zmiany patologiczne w jelitach świń oraz jest przyczyną śmiertelności prosiąt noworodków, przy wykluczeniu udziału innych patogenów, jak na przykład PEDV.

Dane na temat izolacji i identyfikacji PDCoV pochodzą dotychczas wyłącznie z Hongkongu, USA, Kanady i Chin (5), co, być może, łączy się w pewnym stopniu z ograniczonymi na świecie badaniami w tym kierunku; może też wskazywać na jego mniejszy potencjał rozprzestrzeniania się niż ma to miejsce w przypadku PEDV.

Brak danych, które wskazywałyby, że PDCoV wywołuje chorobę świń o większym znaczeniu ekonomicznym. PDCoV, tak samo jak PEDV, nie jest chorobotwórczy dla człowieka. Brak informacji na temat przeżywalności PDCoV w różnego rodzaju środowiskach, jak: kał, gnojowica, odpady poubojowe świń. Przypuszcza się (5), że utrzymywanie się w tych

materiałach zakaźności PDCoV może być podobne jak w przypadku PEDV. W USA wykazano, że w chlewniach zakażonych wcześniej PDCoV, a później PEDV, przebieg choroby i straty z nią związane były mniejsze. Powyższe może wskazywać na pewnego stopnia odporność krzyżową, przeciwwskaźną, co jednak wymaga potwierdzenia.

Dotychczas, zgodnie z opinią EFSA (5), wywołana przez PDCoV biegunka świń nie jest uznana za nowo pojawiającą się chorobę (emerging disease). Krótki okres od wykazania wymienionego czynnika etiologicznego oraz niewystarczające dane na temat jego globalnego występowania, w związku z niewystarczającym monitoringiem w tym kierunku, uniemożliwiają już obecnie zajęcie ostatecznego stanowiska w tej sprawie, co zostało spełnione w przypadku PED (5), uznanej za nową chorobę świń.

Piśmiennictwo

- Alonso C., Goede D. P., Morrison R. B., Davies P. R., Rovira A., Marthaler D. G., Torremorell M.: Evidence of infectivity of airborne porcine epidemic diarrhea virus and detection of airborne viral RNA at long distances from infected herds. *Vet. Res.* 2014, 45, 1-5.
- Alonso C., Raynor P., Morrison R., Davies P. R., Torremorell M.: Airborne transmission of PED virus and effect of the electrostatic particle ionization technology on decreasing airborne swine viruses. *Proc. Congress American of Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2015*, s. 59-61.
- Chen Q., Li G., Stasko J., Thomas J. T., Stensland W. R., Pillatzki A. E., Gauger P. C., Schwartz K. J., Madson D., Yoon K.-J.: Isolation and characterization of porcine epidemic diarrhea viruses associated with the 2013 disease outbreak among swine in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2014, 52, 234-243.
- Chen Q., Thomas J., Giménez-Lirola L., Gauger P., Hardham J., Rapp-Gabrielson V., Madson D., Magstadt D., Welch M., Salzbrenner H., Zhang J.: In vitro evaluation of serological cross-reactivity and cross-neutralization between the US PEDV prototype and variant strains. *Proc. Congress American of Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2015*, s. 53-54.
- European Food Safety Authority (EFSA): EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW): Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging porcine deltacoronavirus. *EFSA J.* 2014, 12, 3877, 1-68.
- Geiger J. O., Connor J. F.: Porcine epidemic diarrhea, diagnosis, and elimination. [http://www.aasv.org/aasv%20website/Resources/Diseases/PED/13-05-29PED WhitePaper.pdf](http://www.aasv.org/aasv%20website/Resources/Diseases/PED/13-05-29PED%20WhitePaper.pdf). 2013, 1-4.
- Goede D. P., Morrison R. B.: Swine health monitoring project. Report 2014.16. http://www.cvm.umn.edu/sdec/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@sdec/documents/content/cvm_content_490361.pdf, 2014.
- Hoang H., Killian M., Madson D., Arruda P., Sun D., Schwartz K., Yoon K.: Full-length genome sequence of a plaque-cloned virulent porcine epidemic diarrhea virus isolate (USA/Iowa/18984/2013) from a Midwestern U.S. swine herd. *Genome Announcements* 2013, 1, e01049-01013.
- Hofmann M., Wyler R.: Propagation of the virus of porcine epidemic diarrhea in cell culture. *J. Clin. Microbiol.* 1988, 26, 2235-2239.
- Kawashima T.: Porcine epidemic diarrhea (PED) in Japan. Presentation at the International Conference on Swine Enteric Coronavirus Diseases, Chicago, USA 23-25 September 2014. Available online: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/swine/downloads/meeting/presentations/24%20-%204%20%20Kawashima.pdf.
- Kim O., Chae C.: Experimental infection of piglets with a Korean strain of porcine epidemic diarrhoea virus. *J. Comp. Pathol.* 2003, 129, 55-60.
- Kubota S., Sasaki O., Amimoto K., Okada N., Kitazima T., Yasuhara H.: Detection of porcine epidemic diarrhea virus using polymerase chain reaction and comparison of the nucleocapsid protein genes among strains of the virus. *J. Vet. Med. Sci.* 1999, 61, 827-830.
- 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 Announcements* 2014, 2, e00278-00214.
- Lin C., Chung W., Chang S., Wen C., Liu H., Chien C., Chiou M.: US-like strain of porcine epidemic diarrhoea virus outbreaks in Taiwan, 2013-2014. *J. Vet. Med. Sci.* 2014, 76, 1297-1299.
- Martelli P., Lavazza A., Nigrelli A. D., Meriardi G., Alborali L. G., Pensaert M. B.: Epidemic of diarrhoea caused by porcine epidemic diarrhoea virus in Italy. *Vet. Rec.* 2008, 162, 307-310.
- McOrist S.: PED (Porcine Epidemic Diarrhoea) on the rampage. (<http://www.pig333.com/print/7293>), 2013, 1-4.
- McOrist S.: PED – Epidemiology and risk factors for transmission in east Asia. Presentation at the International conference on Swine Enteric Coronavirus Diseases, Chicago, USA, 23-25 September 2014. Available online: 2014, http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/swine/downloads/meeting/presentations/24%20-%202%20-%20McOrist.pdf.
- Oldham J.: Letter to the editor. *Pig Farming* 1972, (Oct. suppl.), 72-73.
- Pasick J., Berhane Y., Ojkie 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 diarrhoea in Canada. *Transbound. Emerg. Dis.* 2014, 61, 397-410.
- Pejsak Z.: Ochrona zdrowia świń. Polskie Wydawnictwo Rolnicze, Poznań 2007.
- Pensaert M. B., Yeo S. G.: Porcine Epidemic Diarrhea, [w:] Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J.: *Diseases of Swine*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA 2006, s. 367-372.
- Pospischil A., Stuedli A., Kiupel M.: Update on porcine epidemic diarrhea. *J. Swine Health Prod.* 2002, 10, 81-85.
- Quinn P. J., Markey B. K., Leonard F. C., FitzPatrick E. S., Fanning S., Hartigan P. J.: *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*. 2nd Edition, Wiley-Blackwell 2011.
- Saif L. J., Pensaert M. B., Sestak K., Yeo S. G., Jung K.: Coronaviruses, [w:] Zimmerman J. J., Karriker L. A., Ramirez A., Schwartz K. J., Stevenson G. W.: *Diseases of Swine*. 10th Edition, Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA 2012, s. 501-524.
- Sato T., Takeyama N., Katsumata A., Tuchiya K., Kodama T., Kusanagi K.: Mutations in the spike gene of porcine epidemic diarrhoea virus associated with growth adaptation in vitro and attenuation of virulence in vivo. *Virus Genes* 2011, 43, 72-78.
- Shibata I., Tsuda T., Mori M., Ono M., Sueyoshi M., Uruno K.: Isolation of porcine epidemic diarrhoea virus in porcine cell cultures and experimental infection of pigs of different ages. *Vet. Microbiol.* 2000, 72, 173-182.
- Song D., Park B.: Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes* 2012, 44, 167-175.
- Stevenson G. W., Hoang H., Schwartz K. J., Burrough E. B., Sun D., Madson D., Cooper V. L., Pillatzki A., Gauger P., Schmitt B. J.: Emergence of porcine epidemic diarrhoea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *J. Vet. Diag. Invest.* 2013, 25, 649-654.
- Thachil A., Gerber P., Xiao C.-T., Huang Y.-W., Opprissnig T., Halbur P. G.: A porcine deltacoronavirus serological survey using an indirect PDCoV anti-IgG ELISA confirms that PDCoV infection in US pigs is low and has been present since 2010. *Proc. Congress American of Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2015*, s. 65.
- Vitosh-Sillman S., Kelling C., Brodersen B., Loy J., Doster A., Topflic C., Nelson E., Bai J., Schirtzinger E., Poulsen E., Meadors B., Hesse D.: Histopathological and immunohistochemical characterization of pigs experimentally infected with porcine deltacoronavirus. *Proc. Congress American of Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2015*, s. 67-69.
- Vlasova A. N., Marthaler D., Wang Q., Culhane M. R., Rossow K. D., 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.
- Wang L., Byrum B., Zhang Y.: Detection and Genetic Characterization of Deltacoronavirus in Pigs, Ohio, USA 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, 20, 1227-1230.
- Wang L., Byrum B., Zhang Y.: New variant of porcine epidemic diarrhoea virus, United States 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, 20, 917-919.
- Woo P. C. Y., Lau S. K. P., Lam C. S. F., Lau C. C. Y., Tsang A. K. L., Lau J. H. N., Bai R., Teng J. L. L., Tsang C. C. C., Wang M., Zheng B.-J., Chan K.-H., Yuen K.-Y.: Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus Deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *J. Virol.* 2012, 86, 3995-4008.
- Zhang J., Chen Q., Gauger P., Thomas J., Welch M., Madson D., Magstadt D., Burrough E., Arruda P., Derscheid R.: Comparison of the pathogenesis differences of the US PEDV prototype and variant strains in neonatal piglets. *Proc. Congress American of Association of Swine Veterinarians, Orlando, USA 2015*, s. 49-51.