

Koronawirusy i koronawirozy człowieka i zwierząt

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Wśród chorób wirusowych człowieka budzących strach i dezorganizację życia społeczeństw ze względu na dużą zakaźność, ciężki przebieg, wysoką śmiertelność i wywoływanie epidemii, a nawet pandemii, czołowe miejsce w XXI wieku, oprócz grypy spowodowanej przez bardzo zjadliwe i wysoce inwazyjne reasortanty wirusa grypy odzwierzęcej (N1N1; 1), zajmują koronawirozy: zespół ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej (SARS), bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej (MERS; 2), a ostatnio pandemia COVID-19 wywołana przez koronawirus SARS-CoV-2 (3, 4). U zwierząt natomiast wśród zagrażających chorób niepoślednią rolę odgrywa koronawiroza koni (equine coronavirus disease) wywołana przez koronawirus koni (E-CoV, equine coronavirus; 5). Nadal jest groźne dla hodowli świń znane od 1946 r. koronawirusowe zapalenie żołądka i jelit (TGE), a od 1962 r. choroba wymiotna i wyniszczająca (vomiting and wasting disease) oraz epidemiczna biegunka (PED), dla hodowli bydła biegunki nowonarodzonych cieląt, letnia dyzenteria bydła mlecznego i niezbyt dróg oddechowych bydła w różnym wieku (6), u kur zakaźne zapalenie oskrzeli (IB, infectious bronchitis; 7), zaś u zwierząt towarzyszących człowiekowi koronawiroza psów (8, 9), zakaźne zapalenie otrzewnej kotów (FIP, feline infectious peritonitis; 10) i koronawirusowe zapalenie jelit kotów (feline coronavirus enteritis; 11). U królików występuje koronawiroza przewodu pokarmowego, u fretek epizootyczne niezżytowe zapalenie jelit (ECE, epizootic catarrhal enteritis; 12).

Zmiany w genomie wirusa będące wynikiem mutacji i rekombinacji genetycznych, zmian epigenetycznych, dryftu oraz przesunięcia antygenowego są przyczyną przeskoku międzygatunkowego i adaptacji wirusa zwierzęcego do organizmu człowieka lub innych gatunków zwierząt. Pewien udział w tych procesach odgrywa zmiana powinowactwa wirusa do receptorów komórki gospodarza, delecja w łodyżce neuraminidazy lub mutacja w miejscu przyłączenia receptorów. Receptor komórek gospodarza jest najważniejszym determinantem patogenności i tropizmu wirusa oraz zakresu jego gospodarzy. Niektóre z tych mechanizmów odpowiadają za zawleczenie i adaptację koronawirusów do nowych gospodarzy i za ich chorobotwórczość. Koronawirusy człowieka są obecnie najszybciej zmieniającymi się wirusami dzięki wysokiemu wskaźnikowi substytucji genomowej: tranzykcji lub transwersji i rekombinacji (13).

Wyniki analizy filogenetycznej koronawirusów nietoperzy i koronawirusów człowieka i innych gatunków zwierząt wskazują na nietoperza jako protoplastę i główny rezerwuuar koronawirusów (14) oraz na możliwość przekroczenia przez nie bariery międzygatunkowej (15). Natomiast łaskun chiński (paguma

Humans and animals coronaviruses and coronaviruses

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Coronaviruses cause a large variety of diseases in humans, livestock, companion and also in wild animals. Three times in the 21st century, coronavirus outbreaks (SARS, MERS and COVID-19), have emerged from animal reservoirs to cause severe diseases in humans and global transmission concerns. There are hundreds of coronaviruses, most of which circulate among animals including pigs, cattle, ferrets, rabbits, camels, bats, cats and dogs. Transmissible gastroenteritis virus (TGE-CoV), and porcine epidemic diarrhea virus (PED-CoV), cause severe gastroenteritis in young piglets, leading to significant morbidity, mortality, and ultimately economic losses. Bovine CoV, Rat CoV, and infectious bronchitis virus (IBV), cause mild to severe infections in cattle, rats, and chickens, respectively. Feline coronavirus enteritis causes a mild or asymptomatic infection in domestic cats, but feline infectious peritonitis coronavirus (FIP-CoV), causes a lethal disease in the domestic cat, and other members of the *Felidae* family. Sometimes, animal coronaviruses evolve to infect a new host species and spread in that new host, animal or human, causing disease. This host jump or cross-species transmission may lead to serious consequences for a new host population. This review focuses on the etiology, epidemiology, disease mechanisms and pathogenesis as well as biosecurity and immunoprophylaxis against coronaviral infections.

Keywords: coronaviruses, human and animal coronaviruses.

chińska) w przypadku SARS, a wielbłąd jednogarny w przypadku MERS są najprawdopodobniej tylko gospodarzami pośrednimi, a nie głównymi rezerwuarami tych koronawirusów (16, 17). Przemawia za tym także izolowanie wirusów podobnych do SARS (SARS-like) od nietoperzy oraz ich zdolność do zakażenia hodowli komórek układu oddechowego człowieka (18). Istnieje więc możliwość bezpośredniego przekroczenia przez wirusy nietoperzy bariery międzygatunkowej nietoperz → człowiek, nietoperz → inne gatunki zwierząt oraz pośredniego przekroczenia granicy międzygatunkowej przez wirusy: nietoperz → inny gatunek zwierzęcia (np. łaskun) → człowiek, gryzoń → bydło → człowiek jak to ma miejsce w przypadku HCoV-OC43, nietoperz → lama → człowiek w przypadku HCoV-229E (15, 19).

Wirion

Koronawirusy (*Coronaviridae*, rząd *Nidovirales*) w zależności od struktury genomu dzielą się na cztery rodzaje: alpha-coronavirus (HCoV-229E, HCoV-NL62, TGE-CoV, PED-CoV, FIP-CoV, C-CoV), beta-coronavirus (MH-CoV, B0-CoV, SARS-CoV, MERS-CoV), delta-coronavirus (koronawirus ssących prosiąt) i gamma-koronawirus (IB-CoV, koronawirus

zakaźnego zapalenia oskrzeli kur). Genom koronawirusów tworzy pojedynczą nić kwasu RNA o polaryzacji dodatniej, wielkości 26–32 kb (20). Wirion, najczęściej o budowie sferycznej, średnicy 60–120 × 160–200 nm, posiada białkową otoczkę (peplos) z wypustkami kształtu maczugi o długości 12–24 nm, nadającymi wirionowi postać korony słonecznej. Otwarte ramki ORF1a i ORF1b kodują 16 białek niestrukturalnych, podczas gdy 1/3 genomowego RNA koduje podstawowy zestaw strukturalnych genów białkowych odpowiedzialnych za syntezę białka S (spike protein, ~150 kDa) zlokalizowanego na wypustkach: białko otoczki E (~8–12 kDa), glikoproteinę M (~25–30 kDa) związaną z błoną komórkową i zlokalizowaną wewnątrz wirionu nukleoproteinę N tworzącą nukleokapsyd. Natomiast 1/3 genomu na końcu 3' koduje zestaw strukturalnych i ośmiu niestrukturalnych białek nsp1–nsp8. Białko S odgrywa rolę w humoralnej odpowiedzi immunologicznej, indukuje tworzenie przeciwciał inaktywujących wirus, decyduje o patogenności i przynależności serotypowej. Koronawirusy ulegają łatwo inaktywacji pod wpływem detergentów, wysokiej temperatury, wysuszenia i promieni słonecznych.

Patogeneza koronawirusa

Najwięcej danych z zakresu patogenyzy dotyczy koronawirusów człowieka, zwłaszcza SARS i MERS, zdecydowanie mniej wirusów zwierzęcych, za wyjątkiem zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP), koronawirusowego zapalenia żołądka i jelit świń (TGE) i mysiego koronawirusa zapalenia wątroby (MHV, murine hepatitis virus). W przypadku koronawirusów zwrócono uwagę na charakter receptorów komórkowych i tropizm do określonego typu komórek, apoptozę, wrodzoną odporność nieswoistą jako pierwszą linię obrony w zakażeniach wirusowych, odpowiedź na stres siateczki śródplazmatycznej jako szlaku adaptacyjnej odpowiedzi na stres (endoplasmic reticulum stress response), modulację szlaku kinazy białkowej aktywowanej przez mitogen (MAPK) i modulowanie szlaku jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (NF- κ B) przez koronawirusy.

Koronawirusy cechuje tropizm do komórek nabłonka urzęsionego i nabłonka dolnych dróg oddechowych lub nabłonka nieurzęsionego, głównie jelit cienkich (17, 21). Koronawirusy człowieka wywołujące przeziębienia (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1) oraz SARS, MERS i SARS-CoV-2 cechuje tropizm do nabłonka urzęsionego i tkanki płucnej. Cztery wirusy odpowiedzialne za wywołanie 1/4 przypadków przeziębienia u ludzi, zapalenie płuc, zapalenie oskrzelików (22) oprócz atakowania układu oddechowego mogą także wywoływać choroby przewodu pokarmowego i układu nerwowego (23). Tropizmem do komórek nabłonka jelit cienkich cechują się: koronawirus psów (C-CoV), który też może zakażać komórki wątroby i śledziony, koronawirus zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP-CoV) zakażający także monocyty i makrofagi (24), koronawirus zapalenia jelit kotów (FE-CoV), wirus zakaźnego zapalenia jelit królików (Rb-CoV), wirus TGE i wirus epizootycznego zapalenia jelit fretek. Tropizm do komórek nabłonka

jamy nosowej, migdałków i płuc, rzadziej do nabłonka jelit cienkich, zwojów nerwowych mózgu i mózdzku cechuje koronawirus choroby wymiotnej i wyniszczającej. Koronawirus koni (E-CoV) cechuje tropizm do nabłonka jelitowego i układu oddechowego, wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (IB-CoV) charakteryzuje tropizm do układu oddechowego, a koronawirus bydła (Bo-CoV) do nabłonka przewodu pokarmowego i układu oddechowego (6).

Interakcja pomiędzy białkiem S i jego receptorem na komórce gospodarza zapoczątkowuje zakażenie, odpowiada za tropizm wirusa oraz za zakres gospodarzy, których wirus zakaża. Miejscem wiązania receptora w regionie białka S1 koronawirusa jest N-zakończenie dla (MHN) lub C-zakończenie białka S1, jak to ma miejsce w przypadku SARS (25). Dla HCoV-229E TGECoV (26) PED-CoV (27), C-CoV (28) jest APN (aminopeptydaza N), dla HCoV-NL63 i SARS-CoV – receptor enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2), dla MHV(29) – mCEACAM (carcinoembryonic antigen family of glycoproteins), B-CoV (30) i MERS-CoV – dipeptydyl-dipeptydaza 4 (DDP 4; 30).

Apoptoza komórek zakażonych wirusem jest jednym z ważnych mechanizmów, jakimi dysponuje organizm w walce z zakażeniem, ponieważ hamuje replikację wirusa. Wirusy mogą unikać apoptozy przez kodowanie białek homologicznych do białek z rodziny Bcl-2. Białko Bcl-2 jest jednym z podstawowych endogennych regulatorów apoptozy w komórkach ssaków. Jednak indukowanie apoptozy przez wirusy w pewnych sytuacjach, zwłaszcza w przypadku, gdy dotyczy komórek układu immunologicznego, sprzyja rozwojowi zakażenia i choroby. Koronawirusy dysponują mechanizmami regulującymi białka z rodziny Bcl-2 lub aktywowania kaspazy, bezpośrednio lub za pośrednictwem szlaku kinazy białkowej aktywowanej przez mitogen (MAPK) i szlaku jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (NF- κ B), wywołując apoptozę komórek nabłonka jelitowego, nabłonka kanalików nerkowych i neuronów (31). SARS-CoV indukuje apoptozę komórek płuc, śledziony i grasicy, makrofagów, monocytów, limfocytów T i komórek dendrytycznych, przez co osłabia odpowiedź organizmu na zakażenie. Apoptoza monocytów i makrofagów odgrywa też kluczową rolę w koronawirusowym zapaleniu otrzewnej kotów (FIP; 33). Istnieją przypuszczenia, że FIPV jest wirulentną mutacją w ORF 3c genu S i ORF 7b koronawirusa zapalenia jelit kotów (FE-CoV), co zmieniło tropizm tego wirusa do enterocytów na tropizm do monocytów i makrofagów u jego mutantów (FIP-CoV; 34).

Następstwem interakcji koronawirus – zakażony organizm jest zmiana zachowania się układu immunologicznego, która często prowadzi do uruchomienia lub unikania odpowiedzi immunologicznej. Wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP) są rozpoznawane dzięki receptorom rozpoznającym wzorce (PRR), wśród których w infekcji wirusowej przez zaktywowane receptory Toll-podobne (TRL), RIG-podobne I (Retinoic acid-like receptors) i MDA5 (czynnik różnicowania melanoma 5) są uruchomione szlaki sygnalizacyjne MAPK i NF- κ B do produkcji interferonów. Jednakże w zakażeniu ludzi

koronawirusami, zwłaszcza wysoce patogennymi SARS-CoV i MERS-CoV, ma miejsce supresja syntezy interferonu. Jest ona najprawdopodobniej następstwem osłaniania genomowego lub subgenomowego RNA koronawirusa przez podwójną błonę pęcherzyków, co uniemożliwia ich kontakt z PRR. Być może białka kodowane przez koronawirusy zakłócają mechanizmy szlaków sygnalizacyjnych (35). Taką rolę mogą też odgrywać białka strukturalne i niestrukturalne wirusa, np. białka S, M, E i N SARS-CoV, które mogą zakłócać szlak NF- κ B.

Zakażenie koronawirusami indukuje stres siateczki śródplazmatycznej (ER) i uruchamia szlak adaptacyjnej odpowiedzi na ten stres, włączając m.in. szlak adaptacyjny UPR (unfolded protein response). Efektem może być przywrócenie homeostazy w obrębie siateczki poprzez degradację nieprawidłowych białek, ale też przy przedłużającym się stresie promowanie apoptozy komórki (36). Aktywacja trzech odrębnych ścieżek sygnałowych UPR wywiera wpływ na szlak kinazy białkowej aktywowanej przez mitogen (MAP), autofagię, apoptozę i nasilenie naturalnej odpowiedzi immunologicznej, a tym samym wpływa na replikację wirusa.

Koronawirusy człowieka

Pierwszy koronawirus człowieka, HCoV-229E zidentyfikowano w 1966 r., gospodarzem tego wirusa jest nietoperz. Dotychczas poznano siedem ludzkich koronawirusów. Cztery (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HK1) są przyczyną przeziębień, zapalenia oskrzeli oraz płuc i krążą wśród ludzi na całym świecie (22). Natomiast trzy pozostałe koronawirusy są bardzo groźne: SARS-CoV jest przyczyną zespołu ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej, MERS-CoV powoduje bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej i SARS-CoV-2, który pojawił się w Wuhan (Chiny) pod koniec 2019 r. wywołał pandemię COVID-19.

COVID-19 ma okres wylegania od 2 do 14 dni (mediana 5–6 dni). U większości pacjentów choroba przebiega łagodnie i dobrze rokuje. Do typowych objawów choroby należy gorączka powyżej 38,5°C, suchy kaszel, duszność, płytkie krótkie oddechy, ból gardła, katar i kichanie. Rzadko występuje biegunka. U części chorych SARS-CoV-2 może spowodować zapalenie płuc lub zespół ciężkiej niewydolności oddechowej, posocznicę, wstrząs septyczny i zgon (37). Klinicyści wyróżniają trzy stadia choroby: łagodna postać obejmująca górne drogi oddechowe, zapalenie płuc niezagrażające życiu oraz trzecie stadium rozwijające się po około tygodniu po zakażeniu jako ciężkie zapalenie płuc z zespołem ostrej niewydolności oddechowej, które może wymagać nawet podtrzymywania funkcji życiowych. Pierwsze dane odnośnie do odpowiedzi immunologicznej na zakażenie pochodzą od kobiety w wieku 47 lat z Wuhan. Obecność SARS-CoV-2 stwierdzono u niej testem RT-PCR w wymazach z gardła czwartego dnia oraz piątego i szóstego dnia w gardle, ślinie i kale. Wirusa nie stwierdzono siódmego dnia trwania choroby. We krwi wykazano zwiększenie liczby komórek produkujących przeciwciała, liczby limfocytów Th,

komórek T CD4+ i TCD8+ oraz wzrost miana swoistych przeciwciał w klasie IgM i IgG. Zmiany te utrzymywały się przez co najmniej siedem dni po pełnym ustąpieniu objawów choroby (38).

SARS-CoV zidentyfikowano w 2003 r. w Guangdong (Chiny), gdzie wywołał atypowe zapalenie płuc cechujące się gorączką i kaszlem, po czym rozwijał się zespół ciężkiej niewydolności oddechowej o wysokiej śmiertelności (39). Wśród ludzi wirus przenosi się w postaci aerozolu z wydzieliny dróg oddechowych i jamy ustnej. Naturalnym rezerwuarem wirusa okazały się nietoperze i łaskuny (cywety). Istnieje pogląd, że SARS-CoV przenosił się z łaskunów jako gospodarza pośredniego wirusa na człowieka, względnie, że nastąpiło przekroczenie bariery międzygatunkowej nietoperz \rightarrow człowiek. Gospodarzem większości koronawirusów człowieka są bowiem nietoperze (19, 40). Na przykład źródłem koronawirusa HCoV-229E są nietoperze afrykańskie z rodziny Hipposideridae (*Hipposideros cf. ruber* i *Hipposideros abae*), a pośrednim gospodarzem są wielbłądowate (41).

MERS-CoV zidentyfikowano w 2012 r., gdy wywołał epidemię (42). Pod koniec 2019 r. stwierdzono na świecie 2494 potwierdzone laboratoryjnie przypadki zachorowań, śmiertelność wynosiła 34,4%, większość zachorowań występowała w Arabii Saudyjskiej (2102), zmarło 780 pacjentów (43). Odnośnie źródła zakażenia człowieka istnieją dwie dość dobrze udokumentowane hipotezy. Pierwsza wskazuje na nietoperze (44, 45), druga na dromadery jako na naturalne rezerwuary i źródło zakażenia (46). Wśród objawów MERS występują: kaszel, kichanie, gorączka i trudności w oddychaniu. W ciężkim przebiegu choroby rozwija się zapalenie płuc oraz zespół ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej, zaburzenia czynności nerek i zgon.

Przeciwko koronawirusom człowieka nie ma szczepionki. Jedynym skutecznym działaniem jest ścisła izolacja chorych i podejrzanych o zakażenie, regularne mycie rąk, zakrywanie twarzy podczas kaszlu i kichania, unikanie kontaktów z ludźmi, u których występuje podejrzenie o zakażenie lub zakażenie.

Konie

Koronawirus koni, uznaną za nowo zagrażającą chorobę tego gatunku zwierząt, wywołuje koronawirus koni (E-CoV, equine coronavirus; 5) wyizolowany po raz pierwszy w 1999 r. w USA z kału źrebięcia cierpiącego na biegunkę. W 2011 r. E-CoV wyizolowano w Japonii z kału koni z gorączkowymi chorobami przewodu pokarmowego i od koni w USA. W Europie pierwsze zachorowania koni na koronawirus wystąpiły we Francji i dotyczyły najczęściej zakażeń przewodu pokarmowego z objawami biegunki, gorączki i mierzyska oraz zapalenia układu oddechowego. Źródłem zakażenia jest kał koni i źrebiąt zakażonych bezobjawowo, chorych i ozdrowieńców (47). Choroba częściej występuje jesienią i zimą, co ma związek z przebywaniem koni w pomieszczeniach, a tym samym większymi możliwościami szerzenia się zakażenia drogą kontaktów bezpośrednich oraz ze środowiska zanieczyszczonego wirusem. Do najważniejszych zmian anatomopatologicznych należy martwicze zapalenie jelita czczego

i krętego z obecnością błon rzekomych pokrywających błonę śluzową jelit (48). Przy braku patognomicznych objawów jedyną metodą rozpoznania koronawirusy jest przyżyciowo wykrycie obecności antygenu E-CoV w kale, a pośmiertnie w kale i komórkach jelita cienkiego (49). Profilaktyka obejmuje bioasekurację i szczepienia żywą atenuowaną szczepionką zawierającą koronawirus bydła (50).

Króliki

U królików dotychczas zdiagnozowano dwie koronawirusy: zakaźne zapalenie jelit, którego przyczyną są enteropatogenne szczepy koronawirusa królików (Rb-CoV) oraz zakaźne zwyrodnienie mięśnia serca (infectious cardiomyopathy) i wysiękowe zapalenie opłucnej (51). Wirus zakaźnego zapalenia jelit królików (Rb-CoV), często określanej także jako RbCoV HKU14, replikuje się w hodowli komórek nerki królika (RK13) i jednowarstwowej hodowli komórek nabłonka odbyticy człowieka (HRT-18G), w których wywołuje efekt cytotatyczny piątego dnia po zakażeniu. RbCoV HKU 14 jest rekombinantem przedstawicieli betakoronawirusa 1 powstałym w efekcie transferu międzygatunkowego. W testach radioimmunologicznych występują reakcje krzyżowe Rb-CoV z wirusem zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP), koronawirusem psów (C-CoV) i koronawirusem zapalenia żołądka i jelit świń (TGE; 52). Króliki zakażają się drogą kałowo-oralną, wirus replikuje się i uszkadza komórki nabłonka jelit. Najbardziej wrażliwe na zakażenie są młode króliki w wieku 3–8 tygodni. Najważniejszym objawem jest ostra biegunka, która z reguły w ciągu 48 godzin kończy się śmiercią zwierzęcia. Biegunkę towarzyszy odwodnienie, posmutnienie i gorączka o niewielkim nasileniu. Czasami choroba przebiega bezobjawowo. Na sekcji stwierdza się daleko posunięte odwodnienie i silne rozdęcie jelita ślepego, które wypełnia płynna treść barwy od białej do brązowej. W badaniu histopatologicznym stwierdza się obrzęk błony śluzowej jelit cienkich i grubych, zanik krypt i kosmków jelitowych, wakuolizację i martwicę enterocytów nad grudkami chłonnymi, nacieki wielojądrowych komórek zapalnych oraz martwicę tkanki limfatycznej jelit (53). Surowice odpornościowe przeciwko HCoV-229E, C-CoV, i FIP-CoV, w mniejszym stopniu przeciwko TGEV, osłabiają nasilenie zapalenia jelit u królików i zmniejszają odsetek śmiertelności. Częściowe działanie ochronne i spadek śmiertelności przynosi szczepienie królików szczepionkami opartymi o C-CoV, FIPV i TGEV (54).

Wirusową etiologię zwyrodnienia mięśnia sercowego u królików ustalono w 1961 r. Chorobę cechowała wysoka śmiertelność, wahająca się od 50% w 1968 r. do 75% w 1970 r. Serce jest docelowym narządem ataku wirusa (55). Chorobę cechuje gorączka ponad 40°C, przekrwienie spojówek, zapalenie tęczówki, ciałaka rzęskowego i jagodówki, czasem surowiczokrwisty wyciek z nozdrzy i śmierć w ciągu tygodnia trwania choroby. Występuje też niedokrwiłość, limfopenia i hipogammaglobulinemia. W jamie opłucnej gromadzi się wysięk barwy słomkowej, żółtawej lub surowiczokrwisty z domieszką włókniaka.

Płuca są obrzmiałe, węzły chłonne powierzchowne i krezkowe powiększone i przekrwione, prawa komora serca jest powiększona, pod nasierdziem i wsierdziem występują pasmowate wybroczyny. W wątrobie i nerkach, czasem też i w innych narządach, występują ogniska zapalenia i martwicy, mięsień sercowy jest zwyrodniały z ogniskami martwicy. Pęcherzyki płucne wypełnia płyn, a nabłonek pęcherzyków płucnych jest zwyrodniały, śledziona jest powiększona, węzły chłonne są w zaniku, w ich zatokach gromadzą się krwinki czerwone i wysięk.

Świnie

Jedną z najważniejszych i wysoce zaraźliwych chorób świń w każdym wieku jest koronawirusowe zapalenie żołądka i jelit świń (TGE) opisane po raz pierwszy w 1946 r. Po 38 latach pojawił się koronawirus układu oddechowego świń (PRC-CoV, porcine respiratory coronavirus), który jest najprawdopodobniej mutantem delecyjnym TGE-CoV (56) i ze względu na pokrewieństwa antygenowe obydwu wirusów komplikuje on rozpoznanie TGE. Istnieją sugestie, że rezerwuarem pomiędzy epidemiami i subklinicznymi nosicielami TGE-CoV są psy, koty i dzikie zwierzęta mięsożerne (lis, norka) oraz że TGE-CoV, PRC-CoV, FIP-CoV i C-CoV są mutantami pochodzącymi od wspólnego przodka. Szpak zwyczajny (*Sturnus vulgaris*) i mucha domowa mogą być mechanicznymi wektorami TGE-CoV (57).

U prosiąt w wieku do trzech tygodni, macior zakażonych przed i po oproszeniu, ma ciężki przebieg, zaś w pozostałych grupach wiekowych choroba przebiega łagodnie i zwierzęta rzadko padają. U prosiąt odsadzonych przy zachorowalności mogącej wynosić prawie 100% śmiertelność jest mała. Zakażenie szerzy się drogą kałowo-oralną i inhalacyjną, zwłaszcza wśród prosiąt tego samego miotu lub zwierząt w tym samym kojcu. Następnym powiniactwem TGE-CoV do komórek nabłonka jelita cienkiego jest destrukcja kosmków jelitowych, zaburzenia w trawieniu i wchłanianiu pokarmu, wymioty oraz wodnista biegunka, prowadząca do utraty wody i elektrolitów. Wirus może też replikować się w układzie oddechowym i w gruczole mlekowym (58). Najczęściej izoluje się TGE-CoV z treści przewodu pokarmowego i kału. Odporność pojawia się po około tygodniu po zakażeniu. Siewstwo wirusa przez ozdrowieńców zwykle utrzymuje się przez trzy tygodnie. Jednak obecność TGE-CoV stwierdzano w kale świń po ośmiu tygodniach po wyzdrowieniu i w płucach świń rzeźnych oraz w jelitach po 104 dniach po zakażeniu doświadczalnym. Maciory, które przechorowały TGE, przekazują prosiątom swoiste przeciwciała za pośrednictwem siary. Mniejszą ilość przeciwciał zawiera mleko. W stadach, w których prosięta pochodzą od odpornych macior, TGE ma nietypowy przebieg, biegunka występuje głównie u prosiąt w wieku ponad ośmiu dni lub u prosiąt świeżo odsadzonych. Na sekcji prosiąt ściana jelit jest cienka, prawie przezroczysta, zmienione zapalnie odcinki jelit wypełnia niestrawione mleko, kosmki jelitowe jelita czczego i krętego są w zaniku. Najważniejszą rolę w profilaktyce TGE odgrywa bioasekuracja. W niektórych krajach postuluje się szczepienie macior

ciężarnych w celu ochrony ssących prosiąt przed zachorowaniem. Szczepienia mają ograniczoną wartość. Badania nad doustną szczepionką z ekspresją białka S TGE-CoV w kukurydzy wykazały jej działanie ochronne u prosiąt w wieku 13 dni skarmianych przez 10 dni karmą zawierającą szczepionkę i zakażonych zjadliwym szczepem Purdue TGE-CoV (59). W USA jest dostępna żywa zmodyfikowana szczepionka przeciwko wirusowi TGE i rotawirusowi prosiąt.

Wirus identyfikuje się na podstawie izolacji w hodowlach komórkowych (60), badania w mikroskopie elektronowym, w teście immunofluorescencji, teście RT-PCR, odczynie seroneutralizacji i teście ELISA. Test RT-PCR (61), ELISA, hybrydyzacja *in situ* oraz sondy molekularne umożliwiają odróżnienie TGE-CoV od PRC-CoV (62).

Koronawirus układu oddechowego świń (PRC-CoV) wywołuje zakażenia subkliniczne lub chorobę układu oddechowego najczęściej o łagodnym przebiegu i uczestniczy w etiologii zespołu chorobowego układu oddechowego świń (PRDC, porcine respiratory disease complex; 63). Na koronawirusę układu oddechowego chorują głównie prosięta po odstawieniu. Zakażenie szerzy się w ciągu 1–6 dni po zakażeniu drogą aerozolową i przez kontakty bezpośrednie osobników zdrowych z chorymi (64). PRC-CoV występuje w komórkach nabłonka oskrzeli i oskrzelików, makrofagach pęcherzyków płucnych i monocytach przegród międzypęcherzykowych. Wirus izoluje się najłatwiej z górnych odcinków układu oddechowego, tchawicy,

migdałków i płuc w stadach, w których występuje endemicznie przez cały rok. W niewielkich ilościach wirus replikuje się w przewodzie pokarmowym (62, 65). Zarówno w chorobie o subklinicznym, jak klinicznym przebiegu na skutek śródmiąższowego zapalenia ma miejsce zwłóknienie przednio-dolnych płatów płucnych. W chorobie o przebiegu klinicznym występuje gorączka (40°C), kaszel, duszność i utrata apetytu. Wtórne zakażenia, np. *Bordetella bronchiseptica*, zaostrzają objawy i zmiany chorobowe (66). W rozpoznaniu wykorzystuje się test RT-PCR, ELISA oraz test immunofluorescencji (67).

Jawna postać choroby wymiotnej i wyniszczającej (vomiting and wasting disease) występuje u prosiąt ssących w wieku do czterech tygodni, zakażenia bezobjawowe występują u zwierząt starszych. Przyczyną choroby jest hemaglutynujący wirus powodujący zapalenie mózgu (HE-CoV, hemagglutinating encephalitis coronavirus; 68). Świnie są jedynym naturalnym gospodarzem tego wirusa. Choroba pojawiła się po raz pierwszy w 1969 r. w Kanadzie, szerzy się przez kontakt bezpośredni i drogą powietrzno-kropelkową za pośrednictwem wydzieliny z jamy nosowej lub śliny (68). Wirus replikuje się w cytoplazmie nabłonka jamy nosowej, migdałkach i płucach, rzadziej w błonie śluzowej jelita cienkiego. Drogą nerwów obwodowych przedostaje się do rdzenia i do zwojów nerwowych mózgu i mózdzku. Za związanie wirusa z cząsteczką adhezyjną neuronu (NCAM; CD56, homofilowa glikoproteina) odpowiada fragment S białka

NOWY ANALIZATOR HEMATOLOGICZNY

MINDRAY BC30VET (true 4 diff)

- 23 parametry morfologiczne
- rozmaz 4 diff WBC: NEU, EOS, LYM, MON
- najnowsza technologia: tylko 2 odczynniki
- niskie koszty eksploatacji: 1 pln/badanie
- małe wymiary, wydłużona gwarancja
- **ODBIERZEMY TWÓJ ANALIZATOR W ROZLICZENIU**



www.AnalizatoryWeterynaryjne.pl

ZAMÓW DEMO • Marek: 601 845 055 • Kasia: 603 741 720 • Dominika: 726 300 777

wypustek otoczki koronawirusa (69). Następstwem uszkodzenia zwoju czuciowego nerwu błędnego są wymioty, a spłotu śródściennego żołądka opóźnienie w opróżnianiu żołądka, zaś zaburzenia nerwowe są efektem uszkodzenia ośrodków nerwowych w mózgu i mózdzku (70).

Wyróżnia się dwa zespoły chorobowe, które wywołują różne szczepy HE-CoV: wymiotno-wyniszczający (VWD, vomiting wasting disease) i mózgowy (EF, encephalic form). Pierwszy charakteryzuje się wymiotami, brakiem apetytu, zatwardzeniem i padnięciami lub postępującym wyniszczeniem. W postaci mózgowej związanej z zapaleniem mózgu i rdzenia przedłużonego, na którą chorują głównie prosięta w wieku do siedmiu dni, występuje apatia, drgawki i konwulsje, nadwrażliwość na bodźce i zaburzenie koordynacji ruchów, czasem wymioty. Śmiertelność może osiągać 100% w ciągu 1–3 dni trwania choroby. Rozpoznanie opiera się o izolowanie HE-CoV z wydzieliny jamy nosowej lub mózgu, rdzenia kręgowego i płuc lub wykazania materiału genetycznego wirusa testem RT-PCR. W diagnostyce serologicznej stosuje się odczyn seroneutralizacji, odczyn hemaglutynacji i odczyn zahamowania hemaglutynacji. Brak jest leczenia przyczynowego i szczepionki (71).

Epidemiczna biegunka prosiąt (porcine epidemic diarrhea) wywołana przez koronawirus epidemicznej biegunki prosiąt (PED-CoV, alpha-coronavirus) cechuje się wysoką zachorowalnością i śmiertelnością. Występuje sześć grup wirusa, przy czym w grupach 1–5 występują izolaty pandemiczne, których wspólny przodek pojawił się przed 75 latami (72). Zjadliwość poszczególnych szczepów PED-CoV zależy od sekwencji genów kodujących białka wypustek otoczki. Choroba szerzy się drogą kałowo-oralną, aerozoliową oraz ze środowiska zanieczyszczonego kałem lub wmiocinami (73). Wirus cechuje powinowactwo do enterocytów jelita cienkiego i komórek nabłonka kosmków jelitowych. Do najważniejszych objawów choroby należy brak apetytu, wymioty, wodnista biegunka i odwodnienie (74). W fermach o cyklu zamkniętym chorują świny wszystkich grup wiekowych. U prosiąt ssących zachorowalność dochodzi do 100%, natomiast u loch jest bardziej zróżnicowana w jednym stadzie i pomiędzy stadami. Prosięta w wieku do pierwszego tygodnia życia giną z powodu odwodnienia po 3–4 dniach trwania biegunki. Średnia śmiertelność prosiąt wynosi 50%, ale może dochodzić do 100%. Zmiany sekcyjne ograniczają się do zapalenia jelita cienkiego (75). Padłe oseski, u których występowała biegunka, są silnie odwodnione. Jelito cienkie wypełnia wodnista treść barwy żółtawej. Badanie histopatologiczne wykazuje ostre zanikowe zapalenie jelit, przy czym proces chorobowy zaczyna się od jelita czczego i krętego. Wysoce zjadliwe enteropatogenne szczepy wirusa wywołują także zmiany w jelicie grubym. Kosmki jelitowe są zredukowane do 2/3 pierwotnej wysokości (76). Do wykrywania swoistych przeciwciał stosowany jest test ELISA z antygenami wirusa namnożonego w komórkach linii Vero. W profilaktyce stosuje się szczepienia. Atenuowana doustna szczepionka (szczep koreański DR 13) i domięśniowa atenuowana szczepionka (KPEDV-9 PEDV)

zastosowane u macior na dwa i cztery tygodnie przed porodem znacznie zmniejszają śmiertelność prosiąt, zwiększając miano przeciwciał przeciwko wirusowi w sianie i surowicy macior (77).

Psy

U psów występują dwa odrębne koronawirusy. Jeden wywołuje zapalenie żołądka i jelit (C-CoV, alpha-coronavirus 1), a drugi chorobę układu oddechowego (CR-CoV). Zapalenie żołądka i jelit dotyczy głównie szczeniąt, cechuje się dużą śmiertelnością, zwłaszcza noworodków, podczas gdy padnięcia u starszych zwierząt są sporadyczne (78). Zapalenie rozpoczyna się od dwunastnicy i następnie obejmuje dalsze odcinki przewodu pokarmowego. Oprócz krezkowych węzłów chłonnych zakażeniu może ulegać wątroba i śledziona. Wirus replikuje się w komórkach nabłonka jelit, co powoduje zanik kosmków i pogłębienie się krypt jelitowych. Główny objaw choroby, jakim jest nagła biegunka, pojawia się po 1–7 dniach po zakażeniu doustnym i towarzyszy jej osłabienie i utrata apetytu. Kał konsystencji płynnej o nieprzyjemnym zapachu barwy pomarańczowej może zawierać śluz i krew. Mogą wystąpić zaburzenia krążenia na skutek odwodnienia. Większość zakażeń ma jednak przebieg subkliniczny. Choroba ma cięższy przebieg w przypadku dołączenia się zakażenia parwowirusowego. W profilaktyce stosuje się szczepienia, ale ich efektywność jest ograniczona przez antygenową różnorodność C-CoV. Istnieją bowiem dwa odrębne genotypy tego wirusa. Genotyp I słabo replikuje się w hodowli komórkowej i nie jest znany jego receptor. Genotyp II dobrze replikujący się w hodowli komórkowej posiada receptor APN (aminopeptydaza; 79) i występuje w dwóch podtypach: klasycznym (CCoV-IIa) i rekombinowanym (CCoV-IIb) (80). W obrębie genotypu IIb występują warianty, których N-terminalna domena 5' i 3' białka S wykazuje dużą homologię z TGE-CoV i koronawirusami kotów (80). Szczepionki inaktywowane chronią przez zachorowaniem, ale nie chronią przed zakażeniem (81). Dostępna jest też szczepionka oparta o koronawirus zapalenia jelit kotów (Fe-CoV).

Oprócz enterotropowych szczepów C-CoV występują szczepy pantropowe, np. wysoce zjadliwy podtyp IIa wyizolowany z padłych szczeniąt we Włoszech w 2005 r., powodujący ogólne zakażenie, które cechuje się gorączką, depresją, wymiotami, biegunką, ataksją i napadami drgawek oraz leukopenią. Zmiany patologiczne ograniczają się głównie do jelita cienkiego. Na błonie śluzowej jelit barwy różowej lub czerwonej pojawiają się nieliczne wybroczyny. Krezkowe węzły chłonne i śledziona są powiększone i przekrwione, kosmki jelitowe są w zaniku, a komórki krypt jelitowych ulegają zwyrodnieniu i martwicy (82).

Koronawirus wywołujący chorobę układu oddechowego u psów (CR-CoV) cechuje się dużym pokrewieństwem antygenowym z koronawirusem odpowiedzialnym za chorobę układu oddechowego bydła (Bo-CoV) i koronawirusami powodującymi przeziębienie u ludzi (83, 84). Różni się od C-CoV, ponieważ wykazuje tylko 69% identyczności nukleotydów w najbardziej konserwatywnym fragmencie genomu i tylko

21% identyczności sekwencji aminokwasów w białku S (85). Prawdopodobnie CR-CoV jest wirusem bydłym (Bo-CoV), który przekroczył barierę międzygatunkową i zaadaptował się do psa (85). CR-CoV jest też jednym z czynników etiologicznych kaszlu kenelowego (CIRD; canine infectious respiratory disease) łącznie z wirusem parainfluenzy psów (CPIV), adenowirusem psów (CAV), herpeswirusem, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma* spp., *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (86). Wirus po raz pierwszy wykryto u psów w Anglii w 2003 r. testem RT-PCR w materiale pochodzącym z tchawicy i płuc (83). Choroba szerzy się przez kontakty bezpośrednie, drogą aerozolową, przez kontakty z zakażonym środowiskiem, pomieszczeniami i legowiskami, pokarmem zanieczyszczonym wirusem, a także za pośrednictwem ludzi, którzy mogą być biernymi przenosicielami CR-CoV. Wśród objawów klinicznych dominują: gorączka, kichanie, kaszel, wyciek z nosa i ogólna depresja. U części psów choroba ma przebieg bezobjawowy, przy równoczesnym siewstwie wirusa (87). U niewielkiego odsetka chorych rozwija się zapalenie płuc, szczególnie w przypadku dołączenia się wtórnych zakażeń. Rozpoznanie opiera się o test PCR, próbki do badań stanowią wymazy z nosa i gardła (88). Zakażenie wzbudza odporność, która zapobiega reinfekcji lub łagodzi przebieg choroby (89, 90).

Fretki

Fretki chorują na epizootyczne nieżytowe zapalenie jelit (ECE, epizootic catarrhal enteritis) i uogólnioną koronawirozę (FSC, ferret systemic coronavirusis; 12). Epizootyczne nieżytowe zapalenie jelit zdiagnozowano po raz pierwszy w 1993 r. Chorobę wywołuje koronawirus jelitowy fretki (FRE-CoV; 91) z klasy 1 koronawirusów (92). Jest to wysoce zakaźna choroba rozpoczynająca się osowieniem, spadkiem lub zupełnym brakiem apetytu i wymiotami, następnie pojawia się obfita, cuchnąca biegunka barwy zielonkawej, a czasem żółty śluzowaty kał (green slime disease) i odwodnienie. W przewlekłym przebiegu choroby przy dłuższej trwającej biegunce kał często wygląda, jakby znajdowały się w nim drobne ziarenka. W ostrym przebiegu choroby w kale może pojawić się krew. Przy zachorowalności prawie 100% śmiertelność z reguły nie przekracza 5%. Na sekcji stwierdza się pogrubienie i przekrwienie błony śluzowej jelit, powiększenie krezkowych węzłów chłonnych, obrzęk dolnych partii kończyn i brzegów małżowin usznych. Występuje rozlane limfocytarne zapalenie jelit, zanik kosmków jelitowych oraz zwyrodnienie i martwica wierzchołków kosmków. We krwi często występuje eozynofilia (93).

Uogólniona koronawiroza fretki, którą cechuje ropno-ziarniniakowe okołonaczyniowe zapalenie i zapalenie otrzewnej, pojawiła się w 2004 r. w Hiszpanii (94). Przyczyną choroby jest wirus uogólnionej koronawirozy fretki (FRSCV, ferret systemic coronavirus). Przebieg kliniczny oraz zmiany anatomopatologiczne są bardzo podobne do występujących u kotów w bezwysiękowej postaci zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (95). Najczęściej chorują młode fretki, głównie w wieku poniżej 18 miesięcy. Objawem choroby są: biegunka, spadek masy ciała, osowienie, osłabienie, zupełny

brak apetytu i wymioty. Dłużej trwająca choroba powoduje wyniszczenie organizmu. Ponadto występują objawy ze strony układu nerwowego w postaci niedowładu kończyn tylnych lub niedowładu poprzecznego, ataksji, drgawek i skurczów. Na początku choroby może występować tylko przechylenie głowy i napady drgawek. Rzadziej występują: kichanie, kaszel, trudności oddechowe, wyciek z nosa, odwodnienie, żółtaczka, zielona barwa moczu i wypadnięcie odbytnicy. Podczas palpacji jamy brzusznej wyczuwa się twory w jamie brzusznej, obrzęk śledziony i nerek. Czasem powierzchowne węzły chłonne są powiększone (96). Często występuje niedokrwistość o miernym nasileniu, trombocytopenia i hipergammaglobulinemia. Wzdłuż naczyń krwionośnych w tłuszczu krezki i węzłach chłonnych, otrzewnej trzewnej, wątrobie, nerkach, śledzionie i płucach występują białawe guzki. Rzadko pojawia się surowiczy wysięk w jamach ciała. Badanie histopatologiczne wykazuje ropno-ziarniniakowe zapalenie otrzewnej trzewnej, tłuszczu krezki, wątroby, śledziony, płuc, nerek, węzłów chłonnych, trzustki i nadnerczy. Zapalenie obejmuje też jelito cienkie, uszkadzając ogniskowo mięśniówkę i błonę surowiczą. W ziarniniakach widoczne jest centrum utworzone z pozostałości martwych komórek i zwyrodniałych neutrofilów, które otaczają makrofagi, oraz warstwa limfocytów i komórek plazmatycznych.

U fretki z objawami nerwowymi występuje ropno-ziarniniakowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych oraz mózgu i rdzenia kręgowego.

Bydło

Koronawirus bydła – Bo-CoV (beta-coronavirus 1) cechuje powinowactwo do układu pokarmowego i układu oddechowego. Wirus replikuje się zarówno w enterocytach, jak i w nabłonku dróg oddechowych (97). Wywołuje on trzy zespoły chorobowe: u cieląt zapalenie żołądka i jelit (biegunkę cieląt; 98, 99), zimową dyzenterię bydła mlecznego (100) oraz choroby układu oddechowego bydła w różnym wieku (97). Bo-CoV jest także chorobotwórczy dla łosi, jeleni, saren i wielbłądowatych, a ponadto wywołuje subkliniczne zakażenia u psów i indycząt (101). Znany jest tylko jeden serotype Bo-CoV. Brak markerów umożliwiających odróżnienie szczepów enterotropowych od pneumotropowych (102). Najważniejszym miejscem replikacji wirusa u cieląt jest nabłonek okrężnicy. Siewstwo wirusa w ogromnych ilościach z układu oddechowego i przewodu pokarmowego (milion kopii wirusa/ml kału) utrzymuje się u cieląt do 14 dnia, niekiedy do 21 dnia po zakażeniu (103). Zakażenie szerzy się drogą fekalno-oralną i drogą oddechową oraz horyzontalnie: matka → cielęta i pomiędzy cielętami (104). Około 90% populacji bydła hodowlanego na świecie jest seroreaktywna w stosunku do Bo-CoV.

Koronawirusowa biegunka występuje u cieląt w wieku 3–16 tygodni, jej nasilenie zależy od wielkości dawki zakaźnej, wieku i odporności siarowej cieląt, a także od wtórnych zakażeń (rotawirusy, torowirusy, kryptosporidia, enteropatogenne lub enterotoksynogenne szczepy *Escherichia coli*). Największy

odsetek zachorowań przypada na zimę, co wiąże się m.in. ze stabilnością wirusa w niskich temperaturach. Uszkodzenie przez Bo-CoV komórek absorpcyjnych nabłonka kosmków jelitowych i śluzówki jelita grubego zaburza trawienie i wchłanianie, prowadzi do szybkiej utraty wody i elektrolitów, czego efektem jest hipoglikemia, kwasica, hipowolemia oraz zaburzenia krążenia prowadzące do padnięć, szczególnie młodych cieląt. W zakażeniach układu oddechowego, które występują u cieląt w wieku 2–6 miesięcy, wirus replikuje się w nabłonku jamy nosowej i tchawicy, czasem w płucach. Występuje gorączka, surowiczy wypływ z nosa, kichanie i kaszel (99).

Zimowa dysenteria bydła jest sporadyczną ostrą chorobą przewodu pokarmowego, na którą choruje bydło na całym świecie. Nasilenie choroby przypada na miesiące zimowe. Szczepy krążące w Korei Południowej w populacji bydła w lecie i zimą różnią się między sobą zjadliwością, co wiąże się z aktywnością enzymu niszczącego receptory RDE erytrocytów myszy (105). Najważniejszym objawem jest pojawiająca się nagle u większości zwierząt w stadzie obfita i często krwawa biegunka, której towarzyszy spadek mleczności, depresja, utrata apetytu i zaburzenia ze strony układu oddechowego. Przy zachorowalności 20–100% śmiertelność nie przekracza 1–2%. Charakterystyczną zmianą anatomopatologiczną jest zapalenie jelit cienkich i okrężnicy (106). Najprawdopodobniej bydło domowe zakaża się na pastwiskach, z których korzystają też dzikie przeżuwacze (sarny, jelenie, łosie), będące rezerwuarem wirusa. 6,5% surowic jeleni wirginijskich w Ohio i 8,7% surowic saren jest reaktywna w stosunku do Bo-CoV w teście immunofluorescencji pośredniej (107). Także renifery były seroreaktywne w stosunku do Bo-CoV (108).

Koronawirus bydła zakaża też układ oddechowy, wywołując chorobę o łagodnym przebiegu, cechującą się zapaleniem jamy nosowej i kaszlem oraz zapalenia płuc u cieląt w wieku 2–6 mies. i u dorosłego bydła, a także uczestniczy w zespole choroby układu oddechowego bydła (BRDC, bovine respiratory disease complex). U cieląt zajęcie dróg oddechowych może poprzedzać biegunka. Wirus jest rozsiewany zarówno z kałem, jak i z wydzieliną dróg oddechowych. W rozpoznaniu infekcji najczęściej stosuje się test RT-PCR, nested RT-PCR, qRT-PCR, odczyn ELISA i test immunofluorescencji. Materiałem do badań są wymazy z jamy nosowej, aspirat tchawicowo-oskrzelowy i kał z ostrych przypadków choroby, w badaniach pośmiertnych wykorzystuje się jako materiał do badań górne odcinki układu oddechowego, płuca, okrężnicę i jelito kręte. W badaniach serologicznych należy badać pary surowic (102). W profilaktyce biegunki cieląt stosuje się immunizację matek szczepionkami inaktywowanymi lub atenuowanymi i immunizację cieląt. Jest opracowana szczepionka donosowa dla cieląt zawierająca żywy zmodyfikowany Bo-CoV.

Koronawirusy kotów

Przyczyną zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP, feline infectious peritonitis), postępującej, wyniszczającej i śmiertelnej choroby kotów domowych

i wolno żyjących jest koronawirus kotów FIP-CoV (feline infectious peritonitis virus). Natomiast koronawirusowe zapalenie jelit kotów (FEC, feline eenteritis coronavirus), chorobę głównie kociąt, przebiegającą w postaci zakażeń bezobjawowych lub łagodnych zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego, wywołują patotypy enteropatogenne FEC-CoV o niskiej zjadliwości. Pojawienie się zjadliwego patotypu FIP-CoV jest efektem mutacji w C-terminalnej domenie białka fuzyjnego (spike protein; 109) lub delecji w ORF3c FEC-CoV (110). W obrębie obydwu patotypów występują dwa typy różniące się replikacją *in vitro* w hodowlach tkankowych, pokrewieństwem antygenowym z koronawirusem psów, reaktywnością białka S z monoklonalnymi przeciwciałami (111). Podczas gdy typ I nie replikuje się lub replikuje się tylko w niewielkim stopniu w hodowlach komórkowych: FIPV UCD1, UCD2, UCD3, UCD4, TN-406, NW1, Yayoi, KU-2, Dahlberg, FECV UCD, typ II wywołuje zmiany cytopatyczne w hodowlach: FIPV 79–1146, NOR15 (DF2), Cornell-1, FECV 79–1683. Podobieństwo sekwencji nukleotydów genu S typu II z TGE-CoV wynosi 91% z C-CoV 81%, podczas gdy w przypadku typu I wynosi tylko 46% (111). Typ II jest rekombinantem typu I z koronawirusem psów (112). Typ I jest stricte typem kocimi i częściej izoluje się go z przypadków FIP, aniżeli typ II (113).

Jawna postać FIP występuje w około 1% populacji kotów i przede wszystkim w dużych skupiskach, w których istnieją sprzyjające warunki do szerzenia się zakażenia. Chorują głównie koty w wieku od 3 miesięcy do 3 lat i stare w wieku 14–15 lat. Nosiciele bezobjawowi wysiewają wirus przez kilka miesięcy, a nawet kilka lat i stanowią rezerwuuar FIP-CoV. Czynnikiem ryzyka jest immunosupresja spowodowana stresem, zakażeniem wirusem białaczki kotów i wirusem niedoboru immunologicznego kotów. Jest możliwa ekspansja pojawiających się mutantów enteropatogennych szczepów wirusa FIP o wybitnym tropizmie do makrofagów (11). Kluczową rolę w rozwoju choroby odgrywa zakażenie monocytów i makrofagów, co zależy głównie od mechanizmów odporności komórkowej gospodarza. Przy silnej odporności komórkowej wirus może przetrwać w makrofagach, nie wywołując choroby, a przy obniżeniu odporności rozwija się jawna postać choroby. Przy średnim stanie odporności choroba rozwija się powoli, w narządach powstają ziarniniaki zapalne, które powodują miejscową martwicę. Natomiast przy niskim poziomie odporności komórkowej rozwija się postać wysiękowa choroby. W patogenezie tej postaci ważne znaczenie odgrywają kompleksy immunologiczne odkładające się we włosowatych naczyniach krwionośnych.

Najczęściej wyróżnia się dwie postaci FIP: wysiękową (effusive), która stanowi około 60–70% przypadków i postać bezwysiękową (dry), która przebiega w formie podostrej, częściej w formie przewlekłej. W postaci wysiękowej do objawów natury ogólnej dołącza się zapalenie błon surowiczych z gromadzeniem się dużych ilości wysięku w jamie otrzewnej i/lub opłucnej. W następstwie postępującego wyniszczenia i często niedokrwistości następuje padnięcie. Postać bezwysiękową charakteryzują zmiany ropno-ziarniniakowe w różnych narządach i związane z nimi

objawy kliniczne. Na przykład chorobie nerek towarzyszy nadmierne pragnienie i wielomocz, wymioty i spadek masy ciała, a po zajęciu wątroby żółtaczką, i trzustki – wymioty, biegunka i cukrzyca. W obydwu postaciach FIP jest zaatakowany układ nerwowy, przy czym częściej w postaci bezwysiękowej (10). Rozpoznanie postaci wysiękowej choroby na podstawie objawów, braku efektu po stosowaniu antybiotyków nie nastręcza większych problemów. Interpretacja testu ELISA i immunofluorescencji powinna być skorelowana z istniejącymi objawami klinicznymi. Trudniejsze jest rozpoznanie postaci bezwysiękowej FIP ze względu na brak swoistych objawów klinicznych. Najbardziej przydatne jest badanie histopatologiczne bioptatów w celu stwierdzenia ropnych ziarniników.

Koronawirusowe zapalenie jelit kotów jest głównie chorobą kociąt w wieku 4–12 tygodni i przebiega w postaci zakażeń bezobjawowych lub łagodnych zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego (114). U dorosłych kotów ze sprawnym układem immunologicznym zakażenie ma bezobjawowy przebieg, ale koty są nosicielami i wysiewają wirus z kałem. Około 30–80% zakażonych kotów jest siewcami wirusa. Enteropatogenne szczepy nie replikują się intensywnie w makrofagach, a tym samym nie wywołują zakażenia ogólnego (115). Ponieważ FEC-CoV może zakażać komórki układu immunologicznego, nawet przy braku replikacji w nabłonku jelit, istnieje możliwość pojawienia się nieenterotropowych mutantów tego wirusa na skutek stopniowej adaptacji do monocytów (116). Wirus replikuje się głównie w komórkach nabłonka jelit cienkich powodując ich uszkodzenie i wystąpienie biegunki. Choroba po 2–7-dniowym okresie inkubacji rozpoczyna się posmutnieniem, brakiem apetytu, niewielką gorączką, następnie pojawiają się wymioty i biegunka o miernym nasileniu, utrzymująca się przez 2–4 dni. Rozpoznanie opiera się o badanie testem PCR. Badania serologiczne mają wartość ograniczoną, ponieważ dopiero 2–6 tygodni po zakażeniu miano przeciwciał osiąga wartość maksymalną, ponadto surowice są reaktywne zarówno u zwierząt chorych, jak i zdrowych oraz występują reakcje krzyżowe pomiędzy FIP-CoV i FEC-CoV.

Drób

Koronawirusy izolowano od wielu gatunków ptaków, włączając pawie, kuropatwy i cyranki, perliczki, gołębie, szare gęsi i kaczki krzyżówki (117). W 1930 r. wyizolowano wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli kur (IB-CoV, infectious bronchitis coronavirus) wywołujący wysoce zaraźliwą chorobę kur i bażantów, która nadal stanowi poważny problem epizootyczny i gospodarczy w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej na całym świecie. IB-CoV cechuje się dużą zmiennością i występuje w wielu serotypach i odmianach antygenowych (118). Zakażenie szerzy się drogą oddechową, najczęściej przez kontakty bezpośrednie, przy czym możliwe jest zakażenie transowarialne, a także drogą fekalno-oralną. Chorują ptaki niezależnie od wieku, rasy i płci. Pierwotnym miejscem replikacji wirusa są komórki nabłonka worków powietrznych i tchawicy, wtórnym miejscem replikacji są płuca, wątroba, nerki,

drogi rodne, bursa Fabrycjusza i przewód pokarmowy (119). Następstwem zakażenia jest zajęcie układu oddechowego, zaburzenia w rozrodzie lub zapalenie nerek (120). Objawy kliniczne są uzależnione od wieku, rasy, płci i nasilenia odporności ptaków, zjadliwości i serotypu wirusa (121). Kurczęta, najczęściej poniżej szóstego tygodnia życia, chorują wśród objawów zajęcia układu oddechowego. Występuje rzęzenie, katar, czasem obrzęk zatok podoczodołowych i łzotok, drżenie mięśni, zasinienie lub błądźliwość grzebienia, czasem zaburzenia ruchowe, osłabienie i depresja. W przewlekłym przebiegu choroba może trwać kilka tygodni przy śmiertelności 5–25%.

Następstwem zakażenia szczepami o powinowactwie do nerek (postać nerkowa) jest początkowo łagodne zajęcie układu oddechowego, a następnie uporczywa biegunka z wodnistym kałem barwy białej, pragnienie, odwodnienie, szybki spadek masy ciała. Śmierć następuje po 4–5 dniach po zakażeniu. Zwłoki są odwodnione i ciemne, nerki są obrzękłe, barwy bladuróżowej, moczowody często wypełniają moczniki. Ponadto stwierdza się nieznaczny stopień przekrwienie i rozpulchnienie błony śluzowej tchawicy (122). Zaburzenia w rozrodzie polegają na gwałtownym i długotrwałym spadku nieśności, który może osiągać 50%, zmniejsza się też odsetek zapłodnień i wylęgowość jaj. Jaja mają cienką pofałdowaną chropowatą skorupę (123). Immunoprofilaktyka polega na szczepieniu przy użyciu szczepionek opartych o wysoce immunogenny szczep IB-CoV, ale nadal skuteczność szczepień pozostawia dużo do życzenia. Masowe szczepienia mogą stanowić przy tym potencjalne zagrożenie pojawiania się odmian wirusa, które unikają poszczepiennej odpowiedzi immunologicznej (124, 125). Koronawirus indyków (T-CoV, grupa 3 koronawirusów) powoduje enteropatię u indyków w każdym wieku (126). U starszych ptaków choroba powoduje zmniejszone przyrosty masy ciała i wzrost zużycia paszy, a u młodych ptaków zwiększoną śmiertelność. Wirus uczestniczy w zespole zapalenia jelit indycząt, który manifestuje się głównie zahamowaniem rozwoju i zwiększonym zużyciem paszy. Może też wywołać zespół śmiertelności indycząt związany z zapaleniem jelit (poult enteritis mortality syndrome), w którym śmiertelność może osiągać nawet 96%.

Koronawirusy innych gatunków zwierząt

Koronawirus zapalenia wątroby myszy (MH-CoV, mice hepatitis coronavirus) ze względu na wywołanie zapalenia przewodu pokarmowego i wątroby oraz demielinizującego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego o ostrym lub przewlekłym przebiegu jest wykorzystywany w badaniach nad patogenizacją koronawirusów i mechanizmami odpowiedzi immunologicznej na zakażenia tymi wirusami. MH-CoV1 jest przyczyną ciężkiego zapalenia układu oddechowego u myszy. Szczepy neurotropowe (JHMV i A59) replikują się w oligodendrocytach mózgu i wywołują zapalenie mózgu i przewlekłą demielinizację o cechach przypominających stwardnienie rozsiane u człowieka (127). Makrofagi i mikroglia fagocytują zakażoną przez wirus mielinę (128).

Od jeży europejskich (*Erinaceus europaeus*) wyizolowano koronawirus (Eri-CoV) cechujący się filogenetycznym pokrewieństwem z MERS-CoV i z koronawirusem nietoperzy z kladu c (Bt-CoV). Największa liczba kopii RNA tego wirusa występuje w jelitach w porównaniu do narządów mięsowych, krwi i moczu. Średnio stwierdzono 7.9 log₁₀ kopii RNA/ml kału (129). Także u wielorybów białuga z chorobami układu oddechowego oraz chorobami wątroby stwierdza się duże ilości kopii gammakoronawirusa w wątrobie (130). Istnieją przypuszczenia, że alfakoronawirus jest przyczyną śmierci fok. U padłej fokii (*Phoca vitulina*) z ostrym zapaleniem jelit i obrzękiem płuc test immunofluorescencji wypadł pozytywnie z surowicami dla wirusa TGE, FIP i enterowirusa psów (131). W 2010 r. od jednej z dwóch fok z martwiczym limfocytarnym i histiocytarnym zapaleniem płatów płuc testem PCR stwierdzono obecność wirusa, który wstępnie określono jako koronawirus fokii pospolitej (HS-CoV, harbor seal coronavirus; 132). Okazał się on jednak w oparciu o badania metagenomiczne anellowirusem (SealAV). Anellowirusy występują powszechnie u płetwonogów (133).

Odrębne i ważne zagadnienie epidemiologiczne, filogenetyczne i metagenomiczne stanowią koronawirusy nietoperzy. Ten gatunek ssaków stanowi rezerwuwar wielu gatunków wirusów i źródło zakażenia dla różnych gatunków zwierząt oraz dla człowieka. Ponadto coraz częściej wirusy od nietoperzy zaadaptowane do człowieka i wielu gatunków zwierząt wywołują groźne epidemie i pandemie.

Piśmiennictwo

- Al Hajjar S., McIntosh K.: The first influenza pandemic of the 21-st century. *Ann. Saudi Med.* 2010, **30**, 1–10.
- To K.K.W., Hung I.F.N., Chan J. F.W., Yuen K.Y.: From SARS coronavirus to novel animal and human coronaviruses. *J. Thoracic Dis.* 2013, **5**, 103–108.
- CDC: Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *CDC* 2020, **24/7**, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/summary.html>
- WHO: Coronavirus disease (COVID-19) outbreak. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- Pusterla N., Vin R., Leutenegger C., Mittel L.D., Divers T.J.: Equine coronavirus: An emerging enteric virus of adult horses. *Equine Vet. Educ.* 2016, **28**, 216–223.
- Fulton R.W., Herd H.R., Sorensen N.J., Confer A.W., Ritchey J.W., Ridpath J.F., Burge J.L.: Enteric disease in postweaned beef calves associated with Bovine coronavirus clade 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015, **27**, 97–101.
- Fabricant J.: The early history of infectious bronchitis. *Avian Dis.* 2000, **42**, 648–650.
- Erles K., Toomey C., Brooks H.W., Brownlie J.: Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology* 2003, **310**, 216–223.
- Buonavoglia C., Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., Castagnaro M., Tempesta M.: Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, **12**, 492–494.
- Diaz J.V., Poma R.: Diagnosis and clinical signs of feline infectious peritonitis in the central nervous system. *Can. Vet. J.* 2009, **50**, 1091–1093.
- Foley J.E., Leutenegger C.: A review of coronavirus infection in the central nervous system of cats and mice. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **15**, 438–444.
- Murray J., Kiupel M., Maes R.K.: Ferret coronavirus-associated diseases. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 2010, **13**, 543–560.
- Vijgen L., Keyaerts E., Moës S., Maes P., Duson G., van Ranst M.: Development of One-Step, Real-Time, Quantitative reverse Transcriptase PCR assay for absolute quantitation of Human coronaviruses OC43 and 229E. *J. Clin. Microbiol.* 2005, **43**, 5452–5456.
- Vijaykrishna D., Smith G.J., Zhang J.X., Peiris J.S., Chen H., Guan Y.: Evolutionary insights into the ecology of coronaviruses. *J. Virol.* 2007, **81**, 4012–4020.
- Hayman D.T., Bowen R.A., Cryan P.M., McCracken G.F., O'Shea T.J., Peel A.J., Gilbert A., Webb C.T., Wood J.L.: Ecology of zoonotic infectious diseases in bats: current knowledge and future directions. *Zoon. Publ. Health* 2013, **60**, 2–21.
- Watanabe A., Masangkay J.S., Nagata N., Morikawa S., Mizutani T., Fukushi S., Alviola P., Omatsu T., Ueda N., Iha K., Taniguschi S., Fuji H., Tsuda S., Endoh M., Kato K., Tohya Y., Kyuwa S., Yoshikawa Y., Akashi H.: Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 1217–1223.
- Fung T.S., Liu D.X.: Human coronavirus: Host – pathogen interaction. *Annu. Rev. Microbiol.* 2019, **73**, 529–557.
- Lim Y.X., Ng Y.L., Tam J.P., Liu D.X.: Human coronaviruses: A review of virus-host interactions. *Diseases* 2016, doi: 10.3390/diseases4030026
- Colisher C.H., Childs J.E., Field H.E., Holmes K.V., Schountz T.: Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, **19**, 531–545.
- Masters P.S.: The molecular biology of Coronaviruses. *Adv. Virus Res.* 2006, **66**, 193–292.
- Yin Y., Wunderink R.G.: MERS and SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology* 2018, **23**, 130–137.
- Van der Hoek L.: Human coronaviruses: What do they cause? *Antivir. Ther.* 2007, **12**, 651–658.
- Arbour N., Day R., Newcombe J., Talbot P.J. Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. *J. Virol.* 2000, **74**, 8913–8921.
- Felten S., Weider K., Doenges S., Gruendl S., Matiasek K., Hermanns W., Mueller E., Matiasek L., Fischer A., Weber K., Hirschberger J., Wess G., Hartmann K.: Detection of feline coronavirus spike gene mutations as a tool to diagnose feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* 2017, **19**, 321–335.
- Fehr A.R., Perlman S.: Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 2015, **1282**, 1–23.
- Delmas B., Gelfi J., L'Haridon R., Vogel L.K., Sjostrom H., Noren O., Laude H.: Aminopeptidase N is a major receptor for the enteropathogenic coronavirus TGEV. *Nature* 1992, **357**, 417–420.
- Li B.X., Ge J.W., Li Y.J.: Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus. *Virology* 2007, **365**, 166–172.
- Benbacer L., Kut E., Besnardeau L., Laude H., Delmas B.: Interspecies aminopeptidase-N chimeras reveal species-specific receptor recognition by canine coronavirus, Feline Infectious Peritonitis virus, and Transmissible Gastroenteritis virus. *J. Virol.* 1997, **71**, 734–737.
- Williams R.K., Jiang G.S., Holmes K.V.: Receptor for mouse hepatitis virus is a member of the carcinoembryonic antigen family of glycoproteins. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1991, **88**, 5533–5536.
- Schultze B., Herler G.: Bovine coronavirus uses N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid as a receptor determinant to initiate the infection of cultured cells. *J. Gen. Virol.* 1992, **73**, 901–906.
- Tao X., Hill T.E., Morimoto C., Peters C.J., Ksiazek T.G., Tseng C.-T.K.: Bilateral entry and release of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus induces profound apoptosis of human bronchial epithelial cells. *J. Virol.* 2013, **87**, 9953–9958.
- Collins A.R.: In vitro detection of apoptosis in monocytes/macrophages infected with human coronavirus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002, **9**, 1392–1395.
- Shudi A.N., Safi N., Haghani A., Mehrbod P., Haron M.S., Tan S.W., Omar A.R.: Apoptosis transcriptional mechanism of Feline Infectious Peritonitis virus infected cells. *Apoptosis* 2015, **20**, 1457–1470.
- Pedersen N.C.: An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet. J.* 2014, **201**, 123–132.
- Frieman M., Heise M., Baric R.: SARS coronavirus and innate immunity. *Virus Res.* 2008, **133**, 101–112.
- Fung T.S., Liu D.X.: Coronavirus infection, ER stress, apoptosis and innate immunity. *Front. Microbiol.* 2014, **5**, 296. doi: 10.3389/fmicb.2014.00296
- WHO Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- Thevarajan I., Nguyen T.H.O., Koutsakos M., Druce J., Caly L., van de Sandt C.E., Jia X., Nicholson S., Catton M., Cowie B., Tong S.Y., Lewin S.R., Kedzierska K.: Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature Med.* 2020; DOI: 10.1038/s41591-020-0819-2
- Graham R.L., Donaldson E.F., Baric R.S. A decade after SARS: Strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013, **11**, 836–848.
- Huynh J., Li S., Yount B., Smith A., Sturges L., Olsen J.C., Nagel J., Johnson J.B., Agnihotram S., Gates J.E., Frieman M.B., Baric R.S., Donaldson E.F.: Evidence supporting a zoonotic origin of human coronavirus strain NL63. *J. Virol.* 2012, **86**, 12816–12825.
- Corman V.M., Baldwin H.J., Tateno A.F., Zerbinati R.M., Annan A., Owusu M., Nkrumah E.E., Maganga G.D., Oppong S., Adu-Sarkodie Y., Vallo P., da Silva Filho L.V.R.E., Leroy E.M., Thiel V., van der Hoek L., Poon L.L.M., Tschapka M., Drosten C., Drexler J.F.: Evidence for an

- ancestral association of Human coronavirus 229E with bats. *J Virol*. 2015, **89**, 11858–11870.
42. Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A.: Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012, **367**, 1814–1820.
 43. WHO: Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV). <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>
 44. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Cramer G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F.: Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* 2005, **310**, 676–679.
 45. Annan A., Baldwin H.J., Corman V.M., Klose S.M., Owusu M., Nkrumah E.E., Badu E.K., Anti P., Agbenyega O., Meyer B., Oppong S., Adu Y., Kalko E.K.V., Lina P.H.C., Godlevska E., Reusken C., Seebens A., Gloza-Rausch F., Vallo P., Tschapka M., Drosten C., Drexler J.F.: Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, **19**, 456–459.
 46. Alagaili A.N., Briese T., Mishra N., Kapoor V., Sameroff S.C., de Wit E., Munster V.J., Hensley L.E., Almut L.S., Kapoor A., Epstein J.H., Karesh W.B., Daszak P., Mohammed O.B., Lipkin W.I.: Middle East Respiratory Syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia. *MBio* 2014, **5**, e00884–14.
 47. Sanz M.G., Kwon S.Y., Pusterla N., Gold J.R., Bain F., Evermann J.: Evaluation of equine coronavirus fecal shedding among hospitalized horses. *J. Vet. Intern Med.* 2019. <https://doi.org/10.1111/jvim.15449>
 48. Giannitti F., Diab S., Mete A., Stanton J.B., Fielding L., Crossley B., Sverlow K., Fish S., Mapes S., Scott L., Pusterla N.: Necrotizing enteritis and hyperammonemic encephalopathy associated with equine coronavirus infection in Equids. *Vet. Pathol.* 2015, **52**, 1148–1156.
 49. Kooijman L.J., Mapes S.M., Pusterla N.: Development of an equine coronavirus-specific enzyme-linked immunosorbent assay to determine serologic response in naturally infected horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2016, **28**, 216–218.
 50. Prutton J.S.W., Barnum S., Pusterla N.: Evaluation of safety, humoral immune responses and faecal shedding in horses inoculated with a modified-live bovine coronavirus vaccine. *Equine Vet. Edu.* 2019. <https://doi.org/10.1111/eve.13175>
 51. Small J.D., Woods R.D.: Relatedness of rabbit coronavirus to other coronaviruses. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1987, **216**, 521–527.
 52. Lau S.K., Woo P.C., Yip C.C., Fan R.Y., Huang Y., Wang M., Guo R., Lam C.S., Tsang A.K., Lai K.K., Chan K.H., Che X.Y., Zheng B.J., Yuen K.Y.: Isolation and characterization of a novel Betacoronavirus subgroup A coronavirus, rabbit coronavirus HKU14, from domestic rabbits. *J. Virol.* 2012, **86**, 5481–5496.
 53. Descoteaux J.P., Lussier G.: Experimental infection of young rabbits with a rabbit enteric coronavirus. *Can. J. Vet. Res.* 1990, **54**, 473–476.
 54. Percy D.M., Muckle C.A., Hampson R.J., Brash M.I.: The enteritis complex in domestic rabbits: A field study. *Can. Vet. J.* 1993, **34**, 95–102.
 55. Alexander L.K., Small J.D., Edwards S., Baric R.S.: An experimental model for dilated cardiomyopathy after rabbit coronavirus infection. *J. Infect. Dis.* 1992, **166**, 978–985.
 56. Zhang X., Hasoksuzum, Spiro D., Halpin R., Wang S., Stollar S., Janies D., Hadya N., Tang Y., Ghedin E. & Saif L.J.: Complete genomic sequences, a key residue in the spike protein and deletions in non-structural protein 3b of US strains of the virulent and attenuated coronaviruses, Transmissible Gastroenteritis virus and Porcine Respiratory coronavirus. *Virology* 2007, **358**, 424–435.
 57. OIE: Transmissible gastroenteritis. *OIE Terrestrial Manual*. 2018, 1627–1638.
 58. Kemeny L.J., Wiltsey V.L., Riley J.L.: Upper respiratory infection of lactating sows with Transmissible Gastroenteritis virus following contact exposure to infected piglets. *Cornell Vet.* 1975, **65**, 352–362.
 59. Jilka J.: An oral vaccine in maize protects against Transmissible Gastroenteritis virus in swine. W.L. Erickson L., Yu W.J., Brandle J., Rymerson R. (ed): Molecular farming of plants and animals for human and veterinary medicine. SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-94-017-2317-6>.
 60. Dulac G.C., Ruckerbauer G.M., Boulanger P.: Transmissible gastroenteritis: demonstration of the virus from field specimens by means of cell culture and pig inoculation. *Can. J. Comp. Med.* 1977, **41**, 357–363.
 61. Kim L., Chang K.O., Sestak K., Parwani A., Saif L.J.: Development of a Reverse Transcription-Nested Polymerase Chain Reaction assay for differential diagnosis of Transmissible Gastroenteritis virus and Porcine Respiratory coronavirus from feces and nasal swabs of infected pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 385–388.
 62. Costantini V., Lewis P., Alsop J., Templeton C., Saif L.J.: Respiratory and enteric shedding of porcine respiratory coronavirus (PRCV) in sentinel weaned pigs and sequence of the partial S gene of the PRCV isolates. *Arch. Virol.* 2004, **149**, 957–974.
 63. Truszczyński M., Pejsak Z.: Charakterystyka etiologii wieloczynnikowej i mechanizmów patogenezы zespołu chorobowego układu oddechowego świń. *Med. Weter.* 2013, **38**, 387–393.
 64. O'Toole D., Brown I.H., Bridges A., Cartwright S.F.: Pathogenicity of experimental infection with 'pneumotropic' porcine coronavirus. *Res. Vet. Sci.* 1989, **47**, 23–29.
 65. Cox E., Hooyberghs J., Pensaert M.B.: Sites of replication of a Porcine Respiratory coronavirus related to Transmissible Gastroenteritis virus. *Res. Vet. Sci.* 1990, **48**, 165–169.
 66. Brockmeier S.L., Loving C.L., Nicholson T.L., Palmer M.V.: Coinfection of pigs with Porcine Respiratory coronavirus and Bordetella bronchiseptica. *Vet. Microbiol.* 2008, **128**, 36–47.
 67. Callebaut 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.
 68. Greig A.S., Johnson C.M., Bouillant A.M.P.: Encephalomyelitis of swine caused by haemagglutinating virus VI. Morphology of the virus. *Res. Vet. Sci.* 1971, **12**, 305–307.
 69. Dong B., Gao W., Lu H., Zhao K., Ding N., Liu W., Zhao J., Lan Y., Tang B., Jin Z., He W., Gao F.: A small region of porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus Spike protein interact with the Neural Cell Adhesion molecule. *Intervirology* 2015, **58**, 130–137.
 70. Andries K., Pensaert M., Callebaut P.: Pathogenicity of hemagglutinating encephalomyelitis (vomiting and wasting disease) virus of pigs, using different routes of inoculation. *Zentralbl. VetMed B.* 1978, **25**, 461–468.
 71. Mora-Diaz J.C., Piñeyro P.E., Huston E., Zimmerman J., Giménez-Lirola L.G.: Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus: A review. *Front. Vet. Sci.* 2019, **27**, <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00053>
 72. Jang J., Yoon S.H., Lee W., Yu J., Yoon J., Shim S., Kim H.: Time-calibrated phylogenomics of the Porcine Epidemic Diarrhea virus: genome-wide insight into the spatio-temporal dynamics. *Genes* 2018, **40**, 825–834.
 73. 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**, 74–77.
 74. Brnić D., Šimić I., Lukić I., Krešić N., Jungić A., Balić D., Lolić M., Knežević D., Hengl B.: The emergence of porcine epidemic diarrhoea in Croatia: molecular characterization and serology. *BMC Vet. Res.* 2019, **15**, 249. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2002-x>
 75. Kim O., Chae C.: Experimental infection of piglets with a Korean strain of Porcine Epidemic Diarrhoea virus. *J. Comp. Pathol.* 2003, **129**, 55–60.
 76. Jung K., Saif L.J.: Porcine epidemic diarrhoea virus infection: etiology, epidemiology, pathogenesis and immunoprophylaxis. *Vet. J.* 2015, **204**, 134–143.
 77. Kweon C.H., Kwon B.J., Lee J.G., Kwon G.O., Kang Y.B.: Derivation of attenuated Porcine Epidemic Diarrhoea virus (PEDV) as vaccine candidate. *Vaccine* 1999, **17**, 2546–2553.
 78. Appel M.J.G., Meunier P., Pollock R., Greisen H., Carmichael L., Glickman L.: Canine viral enteritis: A report to practitioners. *Canine Pract.* 1980, **7**, 22–23.
 79. Pratelli A., Decoro N., Tinelli A., Martella V., Elia G., Tempesta M., Cirone F., Buonavoglia C.: Two genotypes of canine coronavirus simultaneously detected in fecal samples of dogs with diarrhoea. *J. Clin. Microbiol.* 2004, **42**, 1797–1799.
 80. Decoro N., Mari V., Elia G., Addie D.D., Camero M., Lucente M.S., Martella V., Buonavoglia C.: Recombinant canine coronaviruses in dogs, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 41–47.
 81. Edwards B.G., Filker R.H., Acree W.M.: Evaluating a canine coronavirus vaccine through antigen extinction and challenge studies. *Vet. Med.* 1985, **80**, 28–33.
 82. Decoro N., Cordonnier D.N., Demeter Z., Egberink H., Elia G., Grellet A., Le Poder S., Mari V., Martella V., Ntakis V., von Reitzenstein M., Rottier P.J., Rusvai M., Shields S., Xylouri E., Xu Z., Buonavoglia C.: European surveillance for pantropic canine coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 2013, **51**, 83–99.
 83. Erles K., Toomey C., Brooks H., W, Brownlie J.: Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology* 2003, **310**, 216–223.
 84. Weiss S.R., Novas-Martin S.: Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2005, **69**, 635–664.
 85. Erles K., Shiu K.B., Brownlie J.: Isolation and sequence analysis of Canine Respiratory coronavirus. *Virus Res.* 2007, **124**, 78–87.
 86. Erles K., Brownlie J.: Canine respiratory coronavirus: an emerging pathogen in the canine infectious disease complex. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 2008, **38**, 815–825.
 87. Buonavoglia C., Martella V.: Canine respiratory viruses. *Vet. Res.* 2007, **38**, 355–373.
 88. Möstl K.: Enteric and respiratory canine coronaviruses; importance and prevalence in Austria. *Med. Weter.* 2014, **78**, 520–523.
 89. Erles K., Brownlie J.: Investigation into the causes of canine infectious respiratory disease: antibody responses to Canine Respiratory

- Coronavirus and Canine Herpesvirus in two kennel dog populations. *Arch Virol* 2005, **150**, 1493–1504.
90. Priestnall S.L., Brownlie J., Dubovi E.J., Erles K.: Serological prevalence of Canine Respiratory Coronavirus. *Vet. Microbiol.* 2006, **115**, 43–53.
 91. Wise A.G., Kiupel M., Maes R.K.: Molecular characterization of a novel coronavirus associated with epizootic catarrhal enteritis (ECE) in ferrets. *Virology* 2006, **349**, 164–174.
 92. Li T.C., Yoshizaki S., Kataoka M., Doan Y.H., Ami Y., Suzaki Y., Nakamura T., Takeda N., Wakita T.: Determination of Ferret Enteric Coronavirus genome in laboratory ferrets. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, **23**, 1568–1570.
 93. Williams B.H., Kiupel M., West K.H., Raymond J.T., Grant C.K., Glickman L.T.: Coronavirus associated epizootic catarrhal enteritis in ferrets. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2000, **217**, 526–530.
 94. Martinez J., Ramis A.J., Reinacher M., Perpiñán D.: Detection of feline infectious peritonitis virus-like antigen in ferrets. *Vet. Rec.* 2006, **158**, 523–528.
 95. Garner M.M., Ramsell K., Morera N., Juan-Sallés C., Jiménez J., Aridaca M., Montesinos A., Teifke J.P., Löhr C.V., Evermann J.F., Baszler T.W., Nordhausen R.W., Wise A.G., Maes R.K., Kiupel M.: Clinicopathological features of a systemic coronavirus-associated disease resembling feline infectious peritonitis in the domestic ferret (*Mustella putorius*). *Vet. Pathol.* 2008, **46**, 236–246.
 96. Perpinan D., Lopez C.: Clinical aspects of systemic granulomatous inflammatory syndrome in ferrets (*Mustella putorius furo*). *Vet. Rec.* 2008, **162**, 180–183.
 97. Boileau M.J., Kapil S.: Bovine coronavirus associated syndromes. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 2010, **26**, 123–146.
 98. Mebus C.A., Stair E.L., Rhodes M.B., Twichaus M.J.: Neonatal calf diarrhea: propagation, attenuation, and characteristics of a coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.* 1973, **34**, 145–150.
 99. Fulton R.W., Herd H.R., Sorensen N.J., Confer A.W., Ritchey J.W., Ridpath J.F., Burge J.L.: Enteric disease in postweaned beef calves associated with Bovine coronavirus clade 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015, **27**, 97–101.
 100. Saif L.J., Redman D.R., Brock K.V., Kohler E.M., Heckert R.A.: Winter dysentery in adult dairy cattle: detection of coronavirus in the faeces. *Vet. Rec.* 1988, **123**, 300–301.
 101. Perelman S., Netland J.: Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, **7**, 439–450.
 102. Saif L.J.: Bovine respiratory coronavirus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2010, **26**, 349–364.
 103. Oma V.S., Traven M., Alenius S., Myrmet M., Stockstad M.: Bovine coronavirus in naturally and experimentally exposed calves, viral shedding and the potential for transmission. *Virol. J.* 2016, **13**, 100. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0555-x>
 104. Cho K.O., Hoet A.E., Loerch S.C., Wittum T.E., Saif L.J.: Evaluation of concurrent shedding of Bovine coronavirus via the respiratory tract and enteric route in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.* 2001, **62**, 1436–1441.
 105. Park S.J., Jeong C., Yoon S.S., Choy H.E., Saif L.J., Park S.H., Kim Y.J., Jeong J.H., Park S.I., Kim H.H., Lee B.J., Cho H.S., Kim S.K., Kang M.I., Ch K.O.: Detection and characterization of bovine coronaviruses in fecal specimens of adult cattle with diarrhea during the warmer seasons. *J. Clin. Microbiol.* 2006, **44**, 3178–3188.
 106. Traven M., Sundberg J., Larsson B., Niskanen R.: Winter dysentery diagnosed by farmers in dairy herds in central Sweden: incidence, clinical signs and protective immunity. *Vet. Rec.* 1993, **133**, 315–318.
 107. Tsunemitsu H., El-Kanawati Z.R., Smith D.R., Reed H.H., Saif L.L.: Isolation coronaviruses antigenically indistinguishable from Bovine Coronavirus from wild ruminants with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 1995, **33**, 3264–3269.
 108. Elazhary M.A., Frechette J.L., Silim S., Roy R.S.: Serological evidence of some bovine viruses in the caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in Quebec. *J. Wildl. Dis.* 1981, **17**, 609–612.
 109. Rottier P.J., Nakamura K., Schellen P., Volders H., Haijema B.J.: Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the Feline Coronavirus spike protein. *J. Virol.* 2005, **79**, 14122–14130.
 110. Vennema H., Poland A., Foley J., Pedersen N.C.: Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology* 1998, **243**, 150–157.
 111. Motokawa K., Hohdatsu T., Aizawa C., Koyama H., Hashimoto H.: Molecular cloning and sequence determination of the peplomer protein gene of Feline Peritonitis Virus type I. *Arch. Virol.* 1995, **140**, 469–480.
 112. Herrewegh A.P.M., Smek I., Horzinek M.C., Rottier P.J.M., Fe Groot R.J.: Feline coronavirus type II strain 79–1683 and 79–1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *J. Virol.* 1998, **72**, 4508–4514.
 113. Benetka V., Küber-Heiss A., Kolodziejek J., Nowotny N., Hoffman-Parisot M., Möstl K.: Prevalence of feline coronavirus types I and II in cats with histopathologically verified infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.* 2004, **99**, 31–42.
 114. Pedersen N.C., Allen C.E., Lyons L.A.: Pathogenesis of Feline Enteric coronavirus infection. *J. Feline Med. Surg.* 2008, **10**, 529–541.
 115. Kipar A., Meli M.L., Baptiste K.E., Bowker L.J., Lutz H.: Sites persistence in healthy cats. *J. Gen. Virol.* 2010, **91**, 1698–1707.
 116. Desmarests L.M.B., Vermeulen B.L., Theuns S., Conceição-Neto N., Zeller M., Roukaerts I.D.M., Acar D.D., Olyslaegers D.A.J., Ranst M.V., Matthijssens J., Nauwynck H.: Experimental Feline Enteric Coronavirus infection reveals an aberrant infection pattern and shedding of mutants with impaired infectivity in enterocyte cultures. *Sci Rep* 6, 20022 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep20022>
 117. Cavanagh D.: Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathol.* 2006, **34**, 439–448.
 118. Cavanagh D.: Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet. Res.* 2007, **38**, 281–297.
 119. Hofstad M.S., Yoder H.W. jr.: Avian infectious bronchitis virus distribution in tissues of chicks. *Avian Dis.* 1966, **10**, 230–239.
 120. Cook J.K.A., Jackwood M., Jones R.C.: The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathol.* 2012, **41**, 239–250.
 121. Domańska-Blicharz K.: Zakaźne zapalenie oskrzeli kur – ogólnoswiatowy problem w przemyśle drobiarskim. *Życie Wet.* 2018, **93**, 384–387.
 122. Perlman S., Netland J.: Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, **7**, 439–450.
 123. Mazurkiewicz M. (red. nauk.): *Choroby drobiu*. Wyd. Akad. Rolniczej we Wrocławiu 2005.
 124. Franzo G., Legnardi M., Tucciarone C.M., Drigo M., Martini M., Cecchinato M.: Evolution of Infectious Bronchitis Virus in the field after homologous vaccination introduction. *Vet. Res.* 2019, **50**, 92. <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0713-4>
 125. Umar S., Shah M.A.A., Munir M.T., Ahsan U.: Infectious bronchitis virus: evolution and vaccination. *World's Poultry Sci. J.* 2016, **72**, 49–60.
 126. Cavanagh D., Mawditt K., Sharma M., Drury S.E., Ainsworth H.L., Britton P., Gough R.E.: Detection of a coronavirus from turkey poult in Europe genetically related to infectious bronchitis virus of chickens. *Avian Pathol.* 2001, **30**, 355–368.
 127. Bender S.J., Weiss S.R.: Pathogenesis of murine coronavirus in the central nervous system. *J. Neuroimmune. Pharmacol.* 2010, **5**, 336–354.
 128. Wu G.F., Perlman S.: Macrophage infiltration, but not apoptosis, is correlated with immune-mediated demyelination following murine infection with a neurotropic coronavirus. *J. Virol.* 1999, **73**, 8771–8780.
 129. Corman V.M., Kallies R., Philipps H., Göpner G., Müller M.A., Eckertle I., Brünink S., Drosten C., Drexler J.F.: Characterization of a novel betacoronavirus related to Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in European hedgehogs. *J. Virol.* 2014, **88**, 717–724.
 130. Mihindukulasuriya K.A., Wu G., St Leger J., Nordhausen R.W., Wang D.: Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. *J. Virol.* 2008, **82**, 5984–5988.
 131. Bossard G.D., Schwartz J.C.: Acute necrotizing enteritis associated with suspected coronavirus infection in three harbour seals (*Phoca vitulina*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 1990, **21**, 84–87.
 132. Nollens H., Wellehan J., Archer L., Lowenstein L.: Detection of a respiratory coronavirus from tissues archived during a pneumonia epizootic in free-ranging Pacific harbor seals (*Phoca vitulina richardsii*). *Dis. Aquatic Org.* 2010, **90**, 118–120.
 133. Ng T.F.F., Greig D., Waltzek T.B., Gulland F., Breitbart M.: Metagenomic identification of a novel anellovirus in Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsii*) lung samples and its detection in samples from multiple years. *J. Gen. Virol.* 2011, **92**, 1318–1323.