

Wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV): aktualna sytuacja w Polsce i Europie na tle dużych strat ekonomicznych w USA

Marta Antas, Grzegorz Woźniakowski

z Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Koronawirusy (Coronaviruses, CoVs) wywołują zakażenia na całym świecie zarówno u ludzi, jak i u zwierząt. W przypadku trzody chlewnej CoVs wywołują głównie zakażenia układu pokarmowego i dróg oddechowych (1). U świń zidentyfikowano dotychczas 5 koronawirusów: wirusa zakaźnego zapalenia żołądka i jelit (transmissible gastroenteritis virus, TGEV), koronawirus płucnego świń (porcine respiratory coronavirus, PRCV), wirusa epidemicznej biegunki świń (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV), hemaglutynującego wirusa zapalenia mózgu i rdzenia świń (porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV) i deltakoronawirusa świń (porcine deltacoronavirus, PDCoV; 2, 3, 4).

Wirus PEDV jest czynnikiem etiologicznym wywołującym epidemiczną biegunkę świń (porcine epidemic diarrhea – PED), która jest wysoce zaraźliwą chorobą, powodującą dużą śmiertelność u prosiąt ssących sięgającą nawet do 100%. Epidemiczna biegunka świń charakteryzuje się występowaniem ostrej, wodnistej biegunki, brakiem łaknienia, apatią i niekiedy wymiotami. Objawy wywoływane przez PEDV zależą od różnych czynników, głównie wieku zwierząt, statusu immunologicznego stada oraz zjadliwości danego szczepu. Zakażenie wysoce patogennym szczepem, charakteryzującym się wysoką śmiertelnością wśród prosiąt ssących, największe straty ekonomiczne wywołało w USA w latach 2013–2015 (5, 6).

Systematyka wirusa

Wirus epidemicznej biegunki świń (PEDV) należy do rzędu *Nidovirales*, rodziny *Coronaviridae*, podrodziny *Coronavirinae* rodzaju *Alfacoronavirus* (2). Do podrodziny *Coronavirinae* zalicza się 4 rodzaje: *Alfacoronavirus*,

Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): current situation in Poland and Europe in the context of severe economic losses in USA

Antas M., Woźniakowski G., Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy

This article aims at the presentation of current status of porcine epidemic diarrhea (PED) in EU. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), is an enveloped, ssRNA virus that belongs to the family *Coronaviridae*, genus *Alphacoronavirus*. It causes acute diarrhea with vomiting, dehydration and high mortality in neonatal piglets. The transmission of virus occurs *via* fecal-oral route. PED has been recognized for the first time in 1971 in United Kingdom. In 70. and 80., the virus spread to other European countries. In China, PEDV was detected in 1986. In 2010 new, highly virulent PEDV strain was isolated from outbreaks with up to 100% increase in deaths of piglets in China. The first outbreaks of the disease in US were confirmed in May 2013. Only to March 2015, the presence of PEDV was confirmed in 33 States of America. As a result of an epidemic, the US pig industry has lost almost 10% of its domestic pig population (7 million pigs). Economic losses were significant. Two strains of PEDV have been identified. The original US PEDV strains from the initial outbreaks in 2013 were genetically closely related to the Chinese strains, isolated in 2011–2012. In late 2013, outbreaks of PEDV infection recurred in South Korea. Genetic and phylogenetic analyses showed that isolates from the outbreaks were most closely related to emergent US strains. In January 2014, PEDV isolates associated with high mortality were identified in Ukraine. In Germany, the presence of PEDV was confirmed in 2014 with mortality up to 70%. The presence of PEDV has also been confirmed in Portugal, France, Italy, Belgium and Austria. However, the Central European PEDV strains showed rather low virulence. Porcine epidemic diarrhea is not a notifiable disease in European Union and is not on the list of diseases reported to the World Animal Health Organization (OIE), therefore the status of this disease is not fully established yet.

Keywords: porcine epidemic diarrhea, porcine epidemic diarrhea virus, PEDV, swine.

Betacoronavirus, *Gammacoronavirus* i *Deltacoronavirus* (7). Do rodzaju *Alfacoronavirus* należą: TGEV, PRCV i PEDV, do rodzaju *Betacoronavirus*: PHEV, a do rodzaju *Deltacoronavirus*: PDCoV (3, 4).

Budowa molekularna PEDV

Genom PEDV to pojedyncza nić RNA o dodatniej polarności, wielkości 28 000 nukleotydów, zawierająca na obu końcach (3' i 5') tzw. regiony nieulegające translacji (UTR). Dwie trzecie genomu od końca 5' koduje białka konieczne do replikacji RNA (wirusową replikazę, czyli polimerazę RNA), natomiast pozostała jedna trzecia, czyli geny znajdujące się po stronie 3' genomu, kodują białka strukturalne: białko fuzyjne S (spike), białko płaszczka E (envelope), białko błonowe M (membrane) i białko nukleokapsydu N (nucleocapsid; 7).

Koronawirusowe białko S jest zakotwiczone w otoczenie wirionu. Na powierzchni kapsydu białka te występują w postaci trimerów i tworzą charakterystyczną otoczkę przypominającą koronę słoneczną, stąd nazwa wirusów (*corona*; 8). W strukturze białka S można wyróżnić dwa podregiony, region S2 zakotwicza wypustkę w wirusowej membranie, natomiast region S1 tworzy zewnętrzną część i jako pierwszy reaguje z receptorem w komórce gospodarza. To właśnie białko S1 determinuje genotyp PEDV. Zjadliwość poszczególnych szczepów PEDV zależy od sekwencji genów kodujących białko S (9). PEDV namnaża się w komórkach linii Vero, a ważną rolę przy wnikaniu komórek i uwalnianiu wirionów PEDV odgrywa tripsyna. Przyczynia się ona do wydajnej replikacji i namnażania się wirusa do sąsiednich komórek. Tripsyna powoduje rozszczepienie białka S na podjednostki S1 i S2, co wpływa na fuzję komórka–komórka i na uwalnianie się wirionów z zakażonych komórek Vero. Efekt cytopatyczny charakteryzuje się wakuolizacją i tworzeniem syncytiów (7, 10).

Filogeneza koronawirusów

Koronawirusy posiadają jeden z największych genomów spośród wirusów RNA, co w połączeniu z wysoką zmiennością charakterystyczną dla wirusów RNA prowadzi do kumulacji zmian sekwencji genomu, czego efektem jest powstawanie różnych wariantów wirusów (11). Chociaż odnotowano jeden serotyp PEDV, to genetycznie można go podzielić na dwie grupy: genotyp 1 (G1, mniej zjadliwy, określany jako klasyczny) i genotyp 2 (G2, wysoce zjadliwy, określany jako epidemiczny lub pandemiczny). Każdy genotyp można dalej podzielić na podgrupy odpowiednio G1a i G1b oraz G2a i G2b. Do genotypu 1 zaliczamy szczepy klasyczne, w tym prototypowy szczep CV777 (pierwszy szczep wyizolowany w Europie w 1977 r.), historyczne szczepy szczepionkowe oraz inne szczepy zaadoptowane do hodowli komórkowych, pierwszy szczep zidentyfikowany w Chinach, później w Stanach Zjednoczonych i Korei Południowej, a ostatnio w krajach europejskich (8). Do genotypu 2 zalicza się wysoce zjadliwe szczepy, które wywołują epidemie i pandemie, tak jak to miało miejsce w USA czy Azji (8, 13, 14). Geny większości szczepów

PEDV w obrębie genotypu G2 składają się z 4161 nukleotydów kodujących 1386 reszt aminokwasowych. Regiony te są dłuższe niż geny szczepu CV777. Szczepy epidemiczne G2, które posiadają insercję i delecję w genie S w porównaniu z sekwencjami szczepu prototypowego CV777, określono jako szczepy wariantu S-INDEL (8).

Przebieg zakażenia

Wirus PEDV po zakażeniu replikuje się w komórkach nabłonka kosmków jelita cienkiego, szczególnie w jelicie czczym, krętym i potencjalnie w okrężnicy. U chorych świń obserwuje się zanik kosmków jelitowych i złuszczenie nabłonka w jelicie cienkim, co skutkuje silnym odwodnieniem i wychudzeniem zwierząt (10, 15). Dotkliwość choroby jest zależna od wieku, w jakim zwierzęta uległy zakażeniu, i zdolności komórek kosmków jelita do regeneracji oraz przywrócenia właściwych im funkcji. Im młodsze zwierzę, tym regeneracja uszkodzonych kosmków jelita trwa dłużej. U młodych świń okres regeneracji wynosi od 6 do 7 dni, natomiast u dorosłych osobników jest krótszy i wynosi od 3 do 4 dni. U nowo narodzonych prosiąt, które nie zetknęły się wcześniej z wirusem, zachorowalność sięga nawet 100%, a śmiertelność waha się w granicach 80 do 100%. U prosiąt odsadzonych wskaźnik zachorowalności jest mniejszy i wynosi do 90%, wracają one do zdrowia po około tygodniu od zakażenia, a śmiertelność wynosi tylko od 1 do 3%. Procent zachorowalności warchlaków i tuczników jest zmienny i może sięgać nawet do 90%, natomiast ze względu na szybką regenerację kosmków śmiertelność wynosi zaledwie od 0 do 4% (16).

Drogi szerzenia się wirusa i skuteczne środki dezynfekcyjne

PEDV w dużych ilościach wydalany jest w odchodach, które są głównym źródłem transmisji wirusa między zwierzętami. PEDV w odchodach wykrywany jest już 24 godziny po zakażeniu. Wirus może dostać się do stada poprzez wprowadzenie zakażonych osobników, środki transportu (odchody, wymiociny, gnojowicę na kołach), paszę, wodę zanieczyszczoną kałem chorych zwierząt, człowieka i przedmioty, które miały styczność z chorymi osobnikami, oraz drogą aerogenną na niewielkie odległości. (8)

Wirus epidemicznej biegunki świń jest łatwo inaktywowany przez eter i chloroform (10, 15). Jest stabilny w temperaturze od 4 do 50°C, a inaktywacji ulega przy podgrzaniu do temperatury 71°C i utrzymywaniu w tej temperaturze przez 10 minut lub przy pozostawieniu w temperaturze pokojowej wynoszącej 20°C przez 7 dni (10, 15). PEDV jest również inaktywowany przy pH <4 i pH >9 w temperaturze 37°C (9). Skuteczne środki dezynfekcyjne neutralizujące PEDV to: środki utleniające (Virkon S), środki wybielające, związki fenolowe (One-Stroke Environ, Tek-Trol), 2% wodorotlenek sodu, formaldehyd, aldehyd glutarowy, węglan sodu (4% bezwodny lub 10% krystaliczny z 0,1% detergentem), jonowe i niejonowe detergenty (10).

Historia PED

Wirus wywołujący epidemiczną biegunkę świń (PEDV) pojawił się w Europie w 1970 r., po raz pierwszy w Anglii (17). Pierwsze przypadki choroby charakteryzowały się ostrym przebiegiem u warchlaków, tuczników i loch natomiast nie dotyczyły prosiąt ssących. Objawy kliniczne choroby były bardzo zbliżone do koronawirusowego zapalenia żołądka i jelit (TGE), które w ówczesnym czasie występowało w Europie, ale podstawową różnicą był brak objawów u prosiąt ssących. Gdy PEDV pojawił się ponownie w 1976 r., objawy choroby obserwowano już w wszystkich grup wiekowych zwierząt, nawet u nowo narodzonych prosiąt, a śmiertelność sięgała 30% (13). Od tego czasu przebieg choroby wyglądał niemal identycznie jak w przypadku TGEV. Choroba w latach 1970–1980 rozprzestrzeniła się na inne europejskie kraje, które prowadziły na dużą skalę hodowlę trzody chlewnej – Belgia, Niemcy, Francja, Bułgaria, Włochy, Węgry, Czechy, Holandia i Szwajcaria (6, 12, 5, 13). Pierwszy wyizolowany w 1977 r. belgijski szczep PEDV CV777 określono w Europie jako szczep prototypowy, zaliczony do genotypu 1 wirusa (3, 5). W 2005 r. we Włoszech potwierdzono 24 przypadki PED, natomiast w 2006 r. zostały potwierdzone 42 przypadki, a śmiertelność prosiąt ssących wynosiła około 34% (9, 6).

Sytuacja epidemiologiczna PED w USA i Azji

W latach 2007–2008 kilka przypadków PED o ostrym przebiegu zanotowano w Tajlandii, a występujący tam szczep wykazał duże podobieństwo do chińskiego szczepu IS-2004-2. W Chinach wirus PED został wykryty po raz pierwszy w 1986 r. (6, 17). W 2010 r. pojawił się nowy, bardziej zjadliwy szczep wirusa, który wywołał epidemię trwającą do 2012 r. Wirus powodował dużą śmiertelność wśród prosiąt ssących i został szybko zawleczony do różnych prowincji Chin (18). Przez pierwsze dwie dekady świnię w Chinach szczepione były szczepionką zawierającą inaktywowany szczep CV777, jednak duża śmiertelność wśród prosiąt ssących wykazała niską skuteczność tych szczepionek. Czynnikiem etiologicznym odpowiedzialnym za epidemię okazały się zarówno szczepy klasyczne PEDV, jak i nowe warianty wirusa, które wykazywały zmienność genetyczną w stosunku do szczepu prototypowego CV777 (10). PEDV na kontynencie azjatyckim potwierdzono również w Korei Południowej, Japonii i na Filipinach (6, 17).

Pierwsze objawy PED w USA zaobserwowano w kwietniu 2013 r., a choroba została potwierdzona laboratoryjnie w maju 2013 r. (6, 17). Do marca 2015 r. obecność PEDV potwierdzono w 33 stanach USA, w których była prowadzona hodowla trzody chlewnej. Amerykańskie szczepy PEDV zidentyfikowane podczas początkowego wybuchu epidemii w 2013 r. wykazywały duże podobieństwo genetyczne do szczepów (Chiny/2012/AH2012) występujących w Chinach w latach 2011–2012 (10). Epidemię zostały dotknięte wszystkie grupy zwierząt, a największa śmiertelność występowała wśród prosiąt ssących i wynosiła aż 95% (17). Rok po pojawieniu się PEDV w USA pogłowie świń

zmniejszyło się o 10%, a straty oszacowano na około 7 milionów świń (8, 10). Analiza filogenetyczna pozwoliła na rozróżnienie dwóch amerykańskich szczepów PEDV: szczepu prototypowego US-PEDV i szczepu wariantu S-INDEL. W eksperymentalnych zakażeniach szczepami wariantu S-INDEL wykazano mniejszą patogenność i mniejszą, zmienną śmiertelność (od 0 do 70%) w porównaniu ze szczepem prototypowym US-PEDV, gdzie śmiertelność sięgała nawet 100% (2, 4, 18). Przypadki PED potwierdzono również w Kanadzie i Meksyku (19).

Aktualna sytuacja w Polsce i Europie

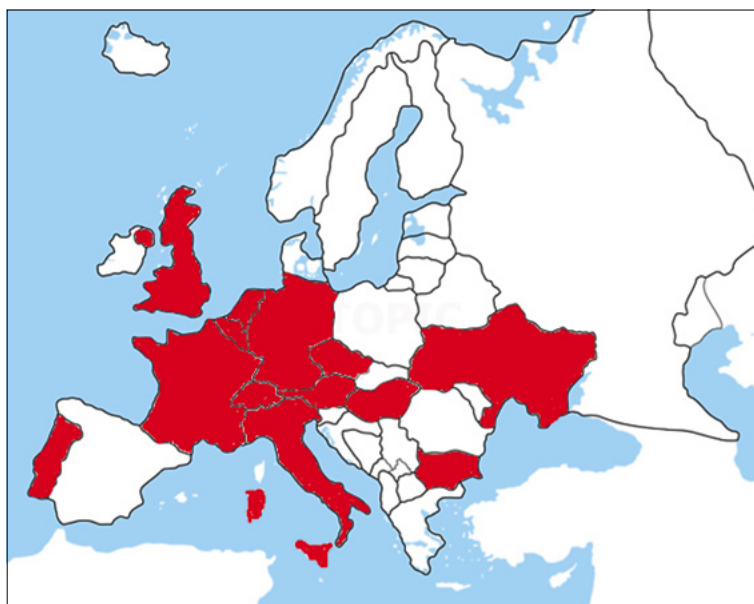
Obecnie PED nie jest chorobą o urzędowym obowiązku zgłaszania w krajach członkowskich Unii Europejskiej i nie znajduje się na liście chorób zgłaszanych do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE), dlatego status tej choroby nie jest do końca znany. W ciągu ostatnich 10 lat tylko kilka państw zgłosiło przypadki kliniczne PED i/lub zwierzęta dodatnie pod względem występowania przeciwciał (7).

Po wybuchu epidemii w 2013 r. w USA przypadki PED potwierdzono również w Europie. W styczniu 2014 r. PED wykryto na Ukrainie, a zidentyfikowane tam szczepy wirusa były zbliżone do zjadliwego szczepu prototypowego US-PEDV, należącego do genotypu 2, odpowiedzialnego za epidemię w USA. Przypadki PED potwierdzono również w innych krajach europejskich: w Niemczech, Portugalii, we Francji, Włoszech, w Belgii i Austrii (2, 5, 22). W Niemczech obecność PEDV potwierdzono w 2014 r. Występujący tam szczep powodował wysoką śmiertelność sięgającą nawet 70% z ostrymi objawami choroby i zbliżony był do szczepu wariantu S-INDEL, ale różnił się od szczepów zidentyfikowanych dotąd w Europie (4). Kraje, w których potwierdzono obecność PED, przedstawiono na **rycynie 1** (3, 5, 7, 13).

Biorąc pod uwagę obecność PEDV w krajach sąsiadujących z Polską (Niemcy, Czechy, Ukraina) oraz drogi i szybkość szerzenia się wirusa, wysoce prawdopodobne było, że PEDV zostanie zawleczony również do

Ryc. 1.

Kraje europejskie, w których od 1970 r. potwierdzono obecność wirusa PED i/lub swoistych przeciwciał (Austria, Belgia, Bułgaria, Czechy, Francja, Holandia, Niemcy, Portugalia, Szwajcaria, Ukraina, Węgry, Wielka Brytania, Włochy)



Polski. W Polsce obserwowano objawy kliniczne epidemicznej biegunki świń, natomiast do 2014 r. nie prowadzono żadnych badań w celu potwierdzenia obecności wirusa PED. W latach 2015–2017 została potwierdzona obecność wirusa i/lub obecność swoistych przeciwciał. Krew pobrana od tuczników ze stada, w którym wcześniej obserwowano objawy kliniczne choroby, została przebadana testem ELISA (Id Screen PEDV Indirect, IdVet). Wynik testu wskazywał na obecność przeciwciał swoistych dla PEDV. Przebadano również próbki kału, gnojowicy i fragmenty jelit ze stad, w których obserwowano biegunkę, pod kątem obecności wirusa PED. Badania wykonane testem Real-Time RT PCR (Quanti Tect Probe RT-PCR Kit, QIAGEN) potwierdziły obecność PEDV. Jak dotąd w Polsce nie prowadzono izolacji wirusa w komórkach Vero ani nie sekwencjonowano materiału genetycznego pochodzącego z dodatknych próbek.

Perspektywy dalszego rozwoju sytuacji w zakresie PED w Polsce

Biorąc pod uwagę aktualną sytuację epidemiologiczną w kraju w zakresie występowania afrykańskiego pomoru świń (ASF) oraz intensyfikację hodowli trzody chlewnej w Polsce, istnieje duże ryzyko wprowadzenia wirusa PED do polskich gospodarstw poprzez np. masowy import zwierząt, paszę i rozwlęczenia go na pozostałe obszary za pośrednictwem np. środków transportu, tak jak to miało miejsce w USA, gdzie epidemią zostały dotknięte aż 33 stany, oraz w Chinach. Epidemie te przyniosły ogromne straty ekonomiczne w produkcji trzody chlewnej w tych krajach, a wirus PED szerzy się bardzo szybko i posiada zdolność do częstych mutacji oraz do tworzenia nowych szczepów.

Piśmiennictwo

- Vijaykrishna D., Smith G.J.D., Zhang J.X., Peiris J.S.M., Chen H., Guan Y.: Evolutionary insights into the ecology of coronaviruses. *J. Virol.* 2007, **81**, 4012–4020.
- Saif L.J., Pensaert M.B., Sestak K., Yeo S.G., Jung K.: *Coronaviruses* in Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W.: *Diseases of Swine*. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, 2012, 10th ed., 501–524.
- Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., Bai R., Teng J.L., Tsang 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.
- Graham R.L., Baric R.S.: Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. *J. Virol.* 2010, **84**, 3134–3146.
- Stadler J., Moser L., Numberger J., Rieger A., Strutzberg-Minderb K., Stellberger T., Ladinig A., Ritzmann M., Fux R.: Investigation of three outbreaks of porcine epidemic diarrhea in Germany in 2016 demonstrates age dependent differences in the development of humoral immune response. *Prev. Vet. Med.* 2018, **150**, 93–100.
- Opreßing T.: Porcine epidemic diarrhea (PED) in Europe and strategies to control outbreaks. *Jap. J. Vet. Res.* 2016, **64** (Supplement 1): S35–S38.
- Brian D.A., Baric R.S.: Coronavirus genome structure and replication. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2005, **287**, 1–30.
- Changhee L.: Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virol. J.* 2015, **12**, 193–198.
- Chen Q., Gauger P.C., Stafne M.R., Thomas J.T., Madson D.M., Huang H., Zheng Y., Li G., Zhang J.: Pathogenesis comparison between

the United States porcine epidemic diarrhea virus prototype and S-INDEL-variant strains in conventional neonatal piglets. *J. Gen. Virol.* 2016, **97**, 1107–1121.

- Jung K., Saif L.J.: Porcine epidemic diarrhea virus infection: Etiology, epidemiology, pathogenesis and immunoprophylaxis. 2015. *Vet. J.* 2015, **204**, 134–143.
- Vabret A., Dina J., Brison E., Brouard J., Freymuth F.: Human coronaviruses (HCoV). *Pathol. Bio.* 2009, **57**, 149–160.
- 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., Stevenson G.W., Burrough E.R., Harmon K.R., Main R.G., Zhang 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.
- Pensaert M.B., Martelli P.: Porcine epidemic diarrhea: A retrospect from Europe and matters of debate. *Virus Res.* 2016, **226**, 1–6.
- Thomas P.R., Karriker L.A., Ramirez A., Zhang J., Ellingson J.S., Crawford K.K., Bates J.L., Hammen K.J., Holtkamp D.J.: Evaluation of time and temperature sufficient to inactivate porcine epidemic diarrhea virus in swine feces on metal surfaces. *J. Swine Health Product.* 2015, **23**, 2–10.
- Laski Z.: *Wirusologia weterynaryjna*. Wydanie III zmienione. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1982.
- Panel EFSA ds. Zdrowia i Dobrostanu Zwierząt AHAW. Opinia naukowa w sprawie epidemicznej biegunki świń i nowo pojawiającego się deltakoronawirusa świń. 16.01.2016.
- Hanke D., Pohlmann A., Sauter-Louis C., Höper D., Stadler J., Ritzmann M., Steinrigl A., Schwarz B.-A., Akimkin V., Fux R., Blome S., Beer M.: Porcine epidemic diarrhea in europe: in-detail analyses of disease dynamics and molecular epidemiology. *Viruses* 2017, **9**, 177.
- Opreßing T., Gerber P.F., Shen H., de Castro A.M.M.G., Zhang J., Chen Q., Halbur P.: Evaluation of the efficacy of a commercial inactivated genogroup 2b-based porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) vaccine and experimental live genogroup 1b exposure against 2b challenge. *Vet. Res.* 2017, **48**, 69.
- Jarvis M.C., Lam H.Ch., Zhang Y., Wang L., Hesse, R.A., Hause B.M., Vlasova A., Wang Q., Zhang J., Nelson M.I., Murtaugh M.P., Marthaler D.: Genomic and evolutionary inferences between American and global strains of porcine epidemic diarrhea virus. *Prev. Vet. Med.* 2016, **123**, 175–184.

Mgr inż. Marta Antas, e-mail: marta.antas@piwet.pulawy.pl