

# Coronavirus en porcinos: importancia y presentación del virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) en Colombia

Ricardo Piñeros<sup>1</sup> / José Darío Mogollón Galvis<sup>2</sup>

## Resumen

El artículo busca dar a conocer aspectos generales de los principales coronavirus que afectan los porcinos, su presentación en Colombia y aspectos particulares del virus de diarrea epidémica porcina (PEDV), emergente en diferentes países y que está generando gran impacto en la salud y la economía de la industria porcina. Los coronavirus que afectan la especie porcina son principalmente el virus de gastroenteritis transmisible porcina (TGEV), el coronavirus respiratorio porcino (PRCV), el virus de la encefalomyelitis hemaglutinante porcina (PHEV), el PEDV y el deltacoronavirus porcino (PDCoV). Tiempo atrás en Colombia se han tenido registros de TGEV y PRCV asociados a la importación de animales provenientes de Estados Unidos, que se controlaron en las granjas infectadas y en las unidades de cuarentena. Para el caso de PEDV, este se detectó por primera vez en Colombia a mediados de marzo de 2014, por lo cual el Instituto Colombiano Agropecuario expidió la alerta sanitaria en Neiva (Huila), Fusagasugá, Silvania (Cundinamarca) y Puerto López (Meta), por la presentación inusual de un cuadro epidémico de vómito y diarrea en animales jóvenes y adultos, aborto en cerdas gestantes, con altas tasas de mortalidad hasta de 100% en animales de primera semana de edad. En el presente la enfermedad se ha registrado en otros municipios del país lo mismo que en diferentes países con un cuadro clínico similar y mortalidad en cerdos, con altas pérdidas económicas para el sector porcícola.

**Palabras clave:** coronavirus porcinos, Colombia, diarrea epidémica porcina (PEDV).

1 Médico veterinario. Esp. MSc. Profesor de Patología Clínica y Medicina Porcina, Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Patólogo e investigador de la Corporación de Patología Veterinaria (Corpavet), Bogotá. ✉ rjpineros@unisalle.edu.co

2 Médico veterinario. PhD, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Consultor privado. ✉ josedmogollon@yahoo.es

Cómo citar este artículo: Piñeros R, Mogollón Galvis JD. Coronavirus en porcinos: importancia y presentación del virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) en Colombia. *Rev Med Vet*. 2015;(29):73-89.

## Coronavirus in Pigs: Significance and Presentation of Swine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) in Colombia

### Abstract

The article seeks to study general aspects of the main coronaviruses affecting pigs, their presentation in Colombia, and particular aspects of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), emerging in different countries and generating a great impact on the health and economy of the swine industry. The main coronaviruses affecting swine are porcine transmissible gastroenteritis virus (TGEV), porcine respiratory coronavirus (PRCV), porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (PHEV), PEDV, and porcine deltacoronavirus (PDCoV). Long ago in Colombia there had been reports of TGEV and PRCV associated with the importation of animals from the United States, which was controlled in the infected farms and in quarantine units. PEDV was first detected in Colombia in mid-March 2014; the Colombian Agricultural Institute issued a health alert in Neiva (Huila), Fusagasugá and Silvania (Cundinamarca), and Puerto López (Meta) due to the unusual presentation of epidemic vomiting and diarrhea in young and adult animals, abortion in pregnant sows, with high mortality rates (up to 100%) in animals during the first week of age. At present the disease has been reported in

other municipalities of the country as well as in different countries with similar clinical conditions and mortality rates in pigs with high economic losses for the swine sector.

**Keywords:** porcine coronavirus, Colombia, porcine epidemic diarrhea (PEDV).

## Coronavírus em suínos: importância e apresentação do vírus da diarreia epidêmica suína (PEDV) na Colômbia

### Resumo

O artigo busca divulgar aspectos gerais dos principais Coronavírus que afetam os suínos, seu aparecimento na Colômbia e aspectos particulares do vírus de diarreia epidêmica suína (PEDV), emergente em diferentes países e que está gerando grande impacto na saúde e a economia da indústria suína. Os Coronavírus que afetam a espécie suína são principalmente o vírus de gastroenterite transmissível suína (TGEV), o Coronavírus respiratório suíno (PRCV), o vírus da encefalomielite hemaglutinante suína (PHEV), o PEDV e o delta Coronavírus suíno (PDCoV). Há um tempo na Colômbia houve relatos de TGEV e PRCV associados à importação de animais provenientes dos Estados Unidos, que se controlaram nas granjas infectadas e nas unidades de quarentena. Para o caso de PEDV, este se detectou pela primeira vez na Colômbia a mediados de março de 2014, razão pela qual o Instituto Colombiano Agropecuario expediu a alerta sanitária em Neiva (Huila), Fusagasugá, Silvania (Cundinamarca) e Puerto López (Meta), pelo aparecimento incomum de um quadro epidêmico de vômito e diarreia em animais jovens e adultos, aborto em porcas gestantes, com altas taxas de mortalidade até de 100 % em animais na primeira semana de idade. Atualmente a doença tem sido reportada em outros municípios do país igualmente que em diferentes países com um quadro clínico similar e mortalidade em porcas, com altas perdas econômicas para o setor da indústria suína.

**Palavras chave:** coronavírus suínos, a Colômbia, diarreia epidêmica suína (PEDV).

## INTRODUCCIÓN

Los coronavirus porcinos forman parte del orden *Nidovirales*, que agrupa la familia *Coronaviridae*, la cual presenta dos subfamilias: 1) *Coronavirinae*, que comprende los géneros *Alfacoronavirus* —en el cual están agrupados el virus gastroenteritis transmisibile porcina (TGEV), el coronavirus respiratorio porcino (PCRV) y el virus de diarrea epidémica porcina (PEDV)—, *Betacoronavirus* —que incluye el virus de la encefalomieltis hemaglutinante porcina (PHEV)—, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* —que agrupa el deltacoronavirus porcino (PDCoV)—; 2) *Torovirinae*, que

comprende los géneros *Torovirus* y *Bafivirus*. Para el caso de los *Torovirus* se reconoce que producen una infección asintomática en cerdos (1).

## CARACTERÍSTICAS

### ESTRUCTURALES

### DE LOS CORONAVIRUS

Dependiendo el género de los diferentes coronavirus, estos poseen proteínas en común o complementarias, como son la proteína S o *spike*, que permite la unión e infección celular, la cual se considera como un factor de virulencia, además es la

responsable de inducir la inmunidad humoral; la proteína N del nucleocápside, que es responsable de la inducción de la inmunidad celular; la proteína M, que induce interferón (INF- $\alpha$ ); la proteína E de envoltura; NS, proteína no estructural; CS, proteína *core-shell*; la NC, proteína de la nucleocápside; HE, hemaglutinina-esterada, y MEM, la membrana lipídica. Todas estas proteínas confieren protección al virión, estructura, virulencia, antigenicidad y propiedades hemaglutinantes, como sería el caso del virus de la PHEV (1,2) (figura 1).

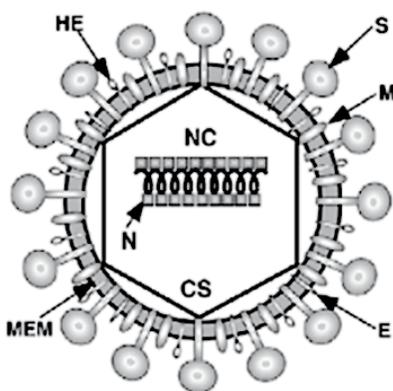
Para el caso de PEDV, el virus posee cuatro proteínas estructurales: glicoproteína S, envoltura E, la proteína de membrana M y la nucleocápside N; también tiene tres proteínas no estructurales: replicasas 1a, 1b y proteína ORF3 (3).

Las funciones de las proteínas estructurales del PEDV, que actualmente se reconocen y según el caso, son (4):

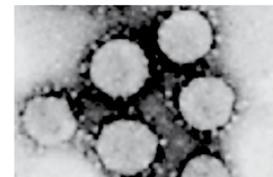
- La proteína S (*spike*) al igual que con TGEV regula la interacción con los receptores específicos de las células huésped, mediante la adhesión y fusión con la membrana celular y de esta forma el ingreso del virus a la célula (5,6). Estimula la inducción de anticuerpos neutralizantes por parte del huésped (contiene epítopes neutralizantes) confiriendo inmunidad humoral sistémica, por lo cual se considera por muchos investigadores como candidata para la elaboración de vacunas recombinantes (7). Los genes que codifican esta proteína a su vez se utilizan para construir los arboles filogenéticos, ya que se ha encontrado

Figura 1. Características estructurales de los coronavirus porcinos

Grupo IV, Orden: <i>Nidovirales</i>		Familia: <i>Coronaviridae</i>		Subfamilia: <i>Coronavirinae</i>
Género				
<i>Alfacoronavirus</i>		<i>Betacoronavirus</i>	<i>Deltacoronavirus</i>	
TGEV	PRCoV	<b>PEDV</b>	PHEV	PDCoV
Grupo 1a		Grupo 1b	Grupo 2a	
<b>Características</b> : ARN cs – no segmentado, polaridad (+), <b>Envueltos</b> , Tamaño de 60-160nm				
<b>Proteínas estructurales</b>				



- S** : proteína spike - **inducción de Anticuerpos y factor de virulencia**
- N**: proteína de la nucleocápside - **inducción de la inmunidad celular**
- M**: proteína grande de membrana – **Inducción INF- $\alpha$**
- E**: proteína pequeña de envoltura
- NS**: proteínas no estructurales
- CS**: core-shell
- NC**: nucleocápside
- HE**: hemaglutinina-esterasa
- MEM**: membrana lipídica



Fuente: Piñeros R. adaptado de Maclachlan J, Dubovi EJ. Coronavirus. Fenner's veterinary virology. 4a. ed. Boston: Academic Press; 2011, p. 393-413.

variabilidad en esta con respecto a genes que codifican las proteínas M y N, que son más conservadas. En la actualidad se encuentran dos regiones (S1 y S2) dentro de la S, la cual es ideal para secuenciación y análisis genéticos, que es un aspecto importante para entender la diversidad de los aislamientos virales y la epidemiología molecular en el campo (8).

- La proteína M es una de las glicoproteínas más abundantes de la envoltura. Desempeña un rol importante en el ensamblaje del virus e induce la formación de anticuerpos neutralizantes que contribuyen a la inmunidad humoral (3). También se ha propuesto su participación en la inducción de interferón (IFN- $\alpha$ ) que regula la respuesta inmune de tipo celular, con lo cual inhibe la reproducción viral y genera resistencia celular a la infección viral (3,9).
- La proteína N que se une al ARN genómico proporciona la base de la nucleocápside y se utiliza como blanco en pruebas de PCR para el diagnóstico de PEDV. Además, se ha sugerido que esta proteína podría inducir inmunidad celular (4,10,11).

## HISTORIA DE LOS CORONAVIRUS

Los coronavirus en porcinos han sido identificados en diferentes épocas y países, como PHEV, en 1958, en Canadá; TGEV en Estados Unidos, en 1946, y a su vez en Japón, en 1956, y en Inglaterra, en 1957 (12,13); PRCV en Bélgica, en 1986, y PEDV en Inglaterra, en 1971 (3). Para el caso de PRCV, su surgimiento es producto de una delección en el gen que codifica la proteína S en TGEV, que genera un cambio en este virus, lo cual le permitió tener un tropismo hacia el sistema respiratorio (14). Recientemente, en 2014, en Estados Unidos se ha detectado la presencia de PDCoV, con la misma presentación clínica de TEGV y PEDV, cuyas cepas obtenidas en los estados Indiana y Ohio

muestran alta homología con cepas chinas. Para el caso la cepa de Indiana PorCoV HKU15-IN2847 tiene una alta identidad, 99,2 % con la cepa China HKU15-155, 98,9 % con HKU15-44 y 99,9 % con la cepa Ohio HKU15-OH1987, lo cual confirma el origen asiático de este nuevo coronavirus emergente en Estados Unidos (15,16).

El TGEV, el PRCV, el coronavirus canino (CCoV), la peritonitis infecciosa felina (FIPV), el coronavirus entérico felino (FECoV), el PEDV y el coronavirus humano (HCoV) están relacionados genéticamente por filogenia, y antigénicamente, basados en las reacciones cruzadas por pruebas de seroneutralización (SN) e inmunofluorescencia, en la detección de anticuerpos (Ac) para las proteínas S, N y M, dentro de las mismas especies afectadas y entre ellas, lo cual demuestra las posibles mutaciones en el tiempo y un posible origen ancestral (1). Lo anterior sugiere el posible salto entre especies y la posibilidad del surgimiento de nuevos coronavirus en el tiempo, debido a los errores de edición en la reproducción viral o asociado a la recombinación viral cuando dos virus se encuentran de forma simultánea infectando un mismo hospedador.

Como ya se mencionó, el PEDV fue reconocido por primera vez en Inglaterra en 1971. En la última década, y durante 2013, se han tenido registros en Europa, Asia y América, lo cual ha generado altas pérdidas asociadas a la presentación de brotes en cerdos susceptibles de todas las edades, caracterizados por vómito y diarrea en animales adultos y jóvenes, siendo letal en animales recién nacidos (4,17,18). Durante los años ochenta y noventa, la enfermedad fue muy frecuente en Europa, pero poco a poco perdió su importancia a medida que la población porcina adquirió inmunidad natural. En contraste, la enfermedad es motivo de gran preocupación en Asia, donde los brotes han sido más agudos y severos que los observados anteriormen-

te en Europa. Los brotes más recientes han sido registrados en China, Corea y Filipinas (4,10,11). En la actualidad, la enfermedad ha alcanzado una importancia relevante en América, ya que el ingreso de cepas virales del PEDV a Estados Unidos y Canadá, con una gran similitud a las cepas de China, ha producido grandes pérdidas a la industria porcina en estos países (17,19,20). El virus de PEDV comenzó su circulación en Estados Unidos desde la primavera de 2013 y hasta el presente se han confirmado brotes en 30 estados. La cepa viral responsable del problema tiene un 99,4% de homología con las cepas de origen chino (17,19,20). La enfermedad se confirmó en México en julio y agosto de 2013 por métodos como la inmunocromatografía y el PCR, siendo actualmente endémica en la mayoría de los estados mexicanos productores de cerdos. En enero de 2014 se confirmó en Canadá, donde su presencia se concentró en las provincias de Ontario y Quebec (información sin publicar). En octubre de 2013 también se describieron de manera no oficial casos en República Dominicana, en la provincia de Santiago, y, finalmente, en marzo de 2014 se confirmó la presencia de la enfermedad de manera casi simultánea en dos departamentos de Colombia: Huila y Cundinamarca, los cuales están muy distantes geográficamente (información sin publicar del Instituto Colombiano Agropecuario [ICA]).

La PEDV no es una enfermedad considerada de declaración obligatoria según la OIE y además no es una enfermedad que pueda causar problemas a la salud humana; no es zoonótica, es decir, es un problema único de salud animal (18).

## HISTORIA DE LOS CORONAVIRUS EN COLOMBIA

Hace ya unos años, en Colombia se ha tenido reporte de TEGV y PRCV asociados a la importa-

ción de animales provenientes de Estados Unidos, los cuales se han controlado en las granjas infectadas y en las unidades de cuarentena, y de esta forma se ha podido limitar y evitar la presentación de estas enfermedades en nuestro país.

El primer registro de algún tipo de coronavirus porcino se remonta a 1973, en Cali, Valle del Cauca, asociado a la importación de 80 animales provenientes de seis granjas de Ohio e Indiana, que fueron sometidos a cuarentena por 16 días en el país de origen, pero no en Colombia a su ingreso. Siete días más tarde, el laboratorio del CIAT recibió información sobre una epidemia de diarrea en una granja, la cual se extendió a dos más al día siguiente. Cinco días después del primer informe, la tasa de mortalidad en lactancia y destetos era aproximadamente del 100%, y la epidemia se había extendido a otras tres granjas. En cerdos menores de tres meses, los signos clínicos se caracterizaron por diarrea amarilla profusa, vómito, pérdida de peso, deshidratación y muerte. En los cerdos adultos presentaron síntomas similares pero menos severos, caracterizados por depresión, agalactia en cerdas y pérdida de peso. Se realizaron necropsias a diez animales, de los cuales se colectaron muestras para diagnóstico que fueron enviadas al ICA y al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos en Plum Island, donde se detectó la presencia del virus y anticuerpos de TGEV. Los brotes se presentaron en seis de las nueve granjas que recibieron cerdos importados, y fue devastador en las granjas afectadas en cerdos lactantes y destetos, lo que causó la muerte a 1141 lechones (21). Recientemente se importaron porcinos provenientes de Estados Unidos que presentaron resultados serológicos por la prueba de Elisa para PRCV, los cuales fueron eliminados en el lugar de la cuarentena (información sin publicar).

Para 2008, teniendo en cuenta los antecedentes de años anteriores relacionados con la presencia del

PRCV, el ICA realizó un estudio seroepidemiológico (realizado por B. Peña y J. Mogollón, consultores privados) para establecer la ausencia de TGEV y PRCV en el país tras el cierre de las importaciones de Estados Unidos y en búsqueda del reconocimiento como país libre de estas enfermedades por países como Estados Unidos y Canadá. Para esto se colectaron muestras en los diez centros de beneficio porcino. Las muestras se tomaron entre el 11 de marzo y el 21 de abril de 2008. En total se recolectaron 479 sueros procedentes de 170 granjas porcinas, de 11 departamentos y 170 municipios del país. De estas, 150 (88,2%) pertenecían a granjas de tipo intensivo y tan solo 9 (5,3%) al tipo extensivo. De 11 (6,5%) no se obtuvo esta información. El análisis de los sueros para la determinación de anticuerpos se efectuó mediante la prueba de Elisa diferencial para TGEV/PRCV-ab SVANOVIR®. La totalidad de los 479 sueros analizados fue negativa para la determinación de anticuerpos contra el TGEV y el PRCV. Por lo tanto, estas se deben seguir considerando como enfermedades de naturaleza exótica para los cerdos del país (información sin publicar).

Luego, a mediados de 2013 se importaron animales provenientes de Canadá que dieron positivo en el estudio de serología y por PCR, y después fueron eliminados en el lugar de cuarentena (información sin publicar tomada del ICA), ante la detección de anticuerpos y antígeno viral a PCR, dado que la enfermedad se considera exótica para el país (información sin publicar).

Para marzo del presente año, el ICA expidió la Resolución 797 debido a la presentación de casos compatibles con PEDV, que fueron confirmados por el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del ICA a partir de muestras de lechones muertos; el virus fue detectado por qPCR. Se declaró la emergencia sanitaria y se pusieron

en cuarentena predios en departamentos como Cundinamarca —Silvania (5), Fusa (9), Choachi (6), Granada (2), La Calera (3), Mesa (1), Tibacuy (1)—, Huila —Neiva (8), Guadalupe (1), Tello (1), Villavieja (1)— y Tolima (1). En la actualidad, hasta el mes de mayo había 45 casos confirmados con PCR para el gen de la nucleocápside, según reporte por el ICA a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Por otra parte, los resultados de estudios filogenéticos a partir de diez muestras colectadas en predios afectados en Colombia y los análisis en el National Veterinary Services Laboratories Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory, Plum Island, Animal Disease Center, USDA, en Estados Unidos, de la secuencia de nucleótidos que codifican la nucleoproteína (proteína N), la poliproteína ORF 1b y ARN polimerasa, han mostrado una homología del 99 al 100% con las cepas estadounidenses circulantes desde mediados de 2013, sin que se tenga claro con estos resultados su posible origen y entrada al país (información del ICA sin publicar y suministrada por la Asociación Colombiana de Porcicultores en reuniones técnicas). Los anteriores resultados de secuenciación, además, sugieren que los aislamientos norteamericanos y colombianos tienen un antepasado desconocido común. Se requiere de otros estudios genéticos adicionales como la secuenciación total del genoma de las cepas colombianas.

## CARACTERÍSTICAS DE LOS CORONAVIRUS EN LOS PORCINOS

### Gastroenteritis Transmisible Porcina (TGEV)

Esta enfermedad es altamente contagiosa para los porcinos. Se caracteriza por la presentación de cuadros entéricos de diarrea y vómito en animales

de todas las edades y alta mortalidad en lechones en las primeras dos semanas de vida. Lo anterior hace que esté incluida dentro de las enfermedades de suidos listadas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (22). Este virus es estable ante la congelación, pero sensible a temperatura ambiente y altas temperaturas. Puede persistir en las heces por más de ocho semanas a 5 °C, dos semanas a 20 °C y 24 horas a 35 °C (23). En agua y aguas residuales puede persistir por varios días a 25 °C, mientras que a 4 °C permanece infectivo por varias semanas (14).

### **Coronavirus Respiratorio Porcino (PRCV)**

El PRCV es una variante de TGEV por delección en el gen que codifica la proteína S, lo cual le confirió la capacidad de infectar a los cerdos con tropismo por el sistema respiratorio, y así les produce neumonía intersticial. Esta condición hace que el PRCV genere anticuerpos frente a TGEV, lo que permite una protección cruzada frente a infecciones en campo entre los dos virus. Este virus posee las mismas características de resistencia relacionadas con TEGV (14).

### **Diarrea Epidémica Porcina (PEDV)**

Esta enfermedad es altamente contagiosa, ya que se ha visto su amplia distribución en diferentes áreas geográficas en el ámbito mundial y su alta propagación entre poblaciones de porcinos, y ha llegado a generar cuadros clínicos similares a TGEV. Es un virus sensible al éter y cloroformo, y pierde su infectividad a temperaturas de 60 °C por 30 min. El virus es estable a un pH entre 5 y 9 a 4 °C y entre 6,5 y 7,5 a 37 °C (4). Se puede sembrar en cultivos celulares de la línea Vero, pero su crecimiento requiere de la presencia de tripsina en el medio del cultivo. El virus produce un efecto citopático con

formación en sincitios y vacuolización de las células (3). Por otro lado, se conoce que el virus es sensible a los desinfectantes comunes, entre estos se encuentran el hipoclorito de sodio, compuestos fenólicos, hidróxido de sodio (2%), formalina al 1%, agentes oxidantes y combinaciones entre glutaraldehído y amonio cuaternario.

### **Encefalomiелitis hemaglutinante porcina (PHEV)**

Por sus características estructurales relacionadas con la presencia de hemaglutininas, genera aglutinación de eritrocitos de varias especies como ratones, ratas, pollos, entre otros. Solo se ha descrito un serotipo y se caracteriza por tener un tropismo por el sistema nervioso central; produce cuadros neurológicos en porcinos susceptibles y alta mortalidad en lechones en las primeras semanas de vida (14).

### **Deltacoronavirus porcino (PDCoV)**

Hasta el momento no se tiene mayor información sobre este nuevo virus emergente en porcinos, pero las manifestaciones clínicas son similares a TEGV o PEDV. Se han encontrado casos en el campo en 2014 en Estados Unidos, con alta mortalidad en lechones lactantes causados por este virus sin participación de otros agentes (15). Se pueden encontrar coinfecciones con PEDV, rotavirus y PDCoV (16).

## **EPIDEMIOLOGÍA DE LOS CORONAVIRUS**

En su mayoría las formas de presentación son de tipo epidémico y endémico en las explotaciones porcinas. La forma epidémica se caracteriza por una alta difusión dentro de las poblaciones susceptibles no expuestas con anterioridad a los diferentes virus (TGEV, PRCV, PEDV y PHEV).

Después de la introducción de la enfermedad a un hato, esta se propaga rápidamente en las diferentes poblaciones sin importar la edad. Para el caso de TEGV, PEDV y PDCoV, estos presentan las mismas características epidemiológicas y distinguirlas hoy en día en campo es difícil, por lo que se requiere el uso de pruebas de laboratorio. Para el caso PHEV, los cuadros diferenciales principales incluyen peste porcina clásica, enfermedad de Aujeszky y la encefalomiocarditis porcina, entre otras. La forma endémica de la infección por coronavirus se caracteriza por la presentación continua de manifestaciones clínicas de la enfermedad en las granjas afectadas, asociada a la introducción continua de animales susceptibles (animales de reemplazo y lechones), lo cual permite la perpetuación de estos coronavirus en las granjas, y hace que se presenten las manifestaciones clínicas de forma recurrente y con condiciones clínicas variables.

Para el caso de TGEV, en la presentación endémica el grado de mortalidad oscila entre un 10 y un 20 % en lechones de seis días a dos semanas de edad, lo cual depende de las condiciones de manejo y el grado de inmunidad materna de los lechones. Es importante destacar que en la presentación endémica de TGEV, PEDV y PDCoV se dificulta su diagnóstico en el campo frente otras entidades entéricas en porcinos como lo son *E. coli*, rotavirus, enteritis clostridial, coccidias, entre otras. Para el caso de PRCV, su presentación en la mayoría de las veces puede ser de carácter subclínico y su circulación se limita a animales entre las diez y quince semanas de edad, cuando la inmunidad materna está desapareciendo (14).

### Formas de transmisión

Los únicos hospedadores naturales de los coronavirus porcinos lo constituyen los cerdos, y pueden infectar otras especies, sin que presen-

ten manifestaciones clínicas, lo cual permite la transmisión de la enfermedad entre las granjas. Para PHEV, la eliminación del virus se presenta a partir de animales enfermos por vía oral-nasal; se excreta entre ocho y diez días, mediante la transmisión de las secreciones nasales, por contacto nariz-nariz y aerosoles, sin que se presenten portadores del virus tras su exposición. Para el caso de PRCV, el contagio es oral-nasal; se elimina por la nariz durante dos semanas aproximadamente, sin que se presente eliminación fecal (14).

En TEGV y PEDV el contagio se presenta por contacto con secreciones, materia fecal, fómites, alimento y agua contaminada con el virus; es oral-nasal y fecal. No obstante, para el caso de PEDV se especula sobre la posibilidad de transmisión por aerosoles, principalmente en áreas de alta densidad porcina. En cuanto a TGEV, el periodo de incubación oscila entre ocho horas y tres días, en los cuales se elimina el virus. Para PEDV el periodo de incubación es de 24 a 36 horas (2,14); cuando se introduce un animal infectado con la PEDV a una granja totalmente susceptible, los signos clínicos aparecen entre cuatro y cinco días después. El virus se elimina entre siete y nueve días, pero esto también puede ocurrir hasta por 35 días (3,24,25). Después de un brote en una granja de cría, el virus puede desaparecer o persistir. No se ha identificado un estado de portador persistente en la actualidad.

### Formas de diseminación del PEDV

- Transmisión oral-fecal, que es la más común, y el contacto con un cerdo infectado. El virus también se ha detectado en la sangre (24) y en la secreción nasal, lo cual podría sugerir una eventual transmisión aérea (20,24,25).
- Transmisión indirecta a través de personas, equipos, fómites contaminados como botas y

vehículos. Los vehículos de transporte como los camiones son uno de los principales diseminadores de la enfermedad entre granjas (25).

### Manifestaciones clínicas de la infección por coronavirus en porcinos

En general, en la totalidad de los coronavirus porcinos las manifestaciones clínicas son muy evidentes en lechones en las primeras semanas de vida (una a tres semanas), lo cual los puede llevar a la muerte. En animales de edades posteriores y en adultos, las manifestaciones clínicas pueden ser variables, y en algunos casos son imperceptibles. Para el caso de TGEV y PEDV, las manifestaciones clínicas son similares, lo que dificulta su diferenciación en campo (2):

- TGEV y PDCoV: presentación de diarrea, vómito, deshidratación, anorexia, fiebre, muerte y agalactia, según la edad de los animales y el estado productivo para el caso de las hembras. También se pueden presentar abortos asociados a la fiebre en hembras gestantes (14).
- PHEV: presentación de vómito, constipación, temblor muscular y parálisis (14).
- PEDV: el principal signo clínico de la presentación clínica del PEDV es la diarrea acuosa. La severidad de la enfermedad es variable y depende del estado inmunológico de la granja. En las granjas de cría todas las edades de animales pueden llegar a afectarse, en especial si son susceptibles y nunca han tenido una experiencia con el virus. Lo llamativo es el vómito, la diarrea acuosa y la pérdida del apetito en todas las edades (3,20).

Las madres pueden presentar inapetencia, fiebre y con cierta frecuencia diarrea. Las hembras infectadas en los primeros días de gestación pueden sufrir una disminución en la tasa de partos y en el

número de nacidos vivos. Esto es más común en las cerdas primerizas (2,25). Ocasionalmente, en las hembras gestantes pueden ocurrir abortos, a causa de la fiebre; estas manifestaciones también se han observado en Colombia.

La morbilidad puede alcanzar el 100% en lechones lactantes, pero esta puede ser variable en las madres. Los lechones lactantes en la primera semana de edad pueden alcanzar una mortalidad entre 50 y 100%, después de una duración de la diarrea entre tres y cuatro días. Presentan vómito, diarrea acuosa, deshidratación y acidosis metabólica. Las madres pueden tener diarrea, o no tenerla, o solo manifestar inapetencia o depresión (20). En contraste, lechones del destete (precebo) y levante (desarrollo)-finalización (engorde) pueden manifestar diarrea por una semana con una alta morbilidad, pero una mortalidad que fluctúa entre 1 y 3%. Si la granja tiene una infección endémica, se puede observar diarrea persistente en lechones recién destetados (26). Los animales de crecimiento-finalización pueden mostrar pérdida de peso y grupos heterogéneos (3).

### HALLAZGOS DE NECROPSIA DE TGEV, PEDV Y PDCoV

Los lechones lactantes están muy deshidratados. En los estados iniciales, cuando comienza la diarrea, el lumen intestinal está distendido por un contenido acuoso amarillento y los hallazgos macroscópicos están limitados al intestino delgado, en donde en la superficie serosa se nota una apariencia translúcida debido a la atrofia severa de las vellosidades, producto de la infección (3,20,22,27). Como hallazgos microscópicos por histopatología, se puede apreciar vacuolización de las células epiteliales, descamación celular, en ocasiones con formación de sincitios. Además, son características la reducción del tamaño y la

fusión de las vellosidades intestinales (20,22,27). Debido a este daño en la mucosa intestinal, la actividad enzimática del intestino delgado está muy disminuida, por lo que la fermentación de la leche contribuye a la diarrea. Estos cambios patológicos son similares a los descritos para la TGEV, pero en el caso de la PEDV son menos severos (3,18).

## **PATOGENICIDAD DE LOS DIFERENTES CORONAVIRUS PORCINOS**

### **TGEV**

El TGEV tiene tropismo por los receptores de aminopeptidasa-N en los enterocitos maduros, los cuales se infectan con el virus y originan su destrucción; producen atrofia y fusión de vellosidades, que se manifiesta simultáneamente con un estado de mala digestión y malabsorción. Lo anterior genera, para el caso de los lechones, una deficiente digestión de la lactosa proveniente de la leche, lo que produce fermentación y diarrea hiperosmótica que recrudece el cuadro diarreico (2,14). Se han encontrado diferencias en la patogenicidad y la virulencia de las cepas americanas y coreanas, como lo publicaron Kim y Chae en 2002, quienes encontraron que al comparar una cepa coreana con dos americanas, presentaba menor grado de patogenicidad, al observarse menor grado en el compromiso de las vellosidades intestinales y menor detección del virus por hibridación *in-situ* en yeyuno e íleon con respecto a las cepas americanas en un desafío en lechones de un día de edad, privados de calostro e inoculados experimentalmente (28). Esto demuestra variabilidad entre las cepas de TGEV respecto a su patogenicidad y virulencia según su distribución geográfica.

### **PRCV**

Su tropismo es particularmente por tejido del tracto respiratorio que se une a los receptores de ácido sialico de las células epiteliales del tracto respiratorio. Esta condición favorece la infección del pulmón, lo que genera neumonía broncointersticial y reacción inflamatoria perivascular de tipo linfocítico. Esto conlleva a su vez un engrosamiento de los septos alveolares por infiltración por linfocitos y macrófagos, hiperplasia e hipertrofia de neumocitos tipo II y presencia de células inflamatorias en la luz bronquiolo alveolar (2,14).

### **PEDV**

La patogénesis ha sido estudiada en lechones lactantes inoculados con la cepa de referencia CV777, la cual fue aislada en Bélgica en los años ochenta. Los signos clínicos aparecen entre 22 y 36 horas después de la infección. El virus tiene un tropismo por las células epiteliales del intestino delgado en los enterocitos donde inicia su multiplicación a los 12 y 18 posinfección, y alcanza un máximo de reproducción entre las 24 y las 36 horas. Este hecho se debe tener muy en cuenta para la colección de material infectivo en el campo. En general, las características patogénicas del virus de la PEDV son muy similares TGEV, pero menos severas. El virus produce degeneración de las células epiteliales y reducción en la altura de las vellosidades en el intestino delgado, pero se puede reproducir en el colon, aunque no se han reportado cambios degenerativos en el epitelio (3,24).

En estudios recientes con una cepa americana aislada en el 2013 (US/Iowa/18984/2013) del nuevo PEDV emergente, en los que se hizo la inoculación experimental en cerdos de cuatro semanas de edad libres de anticuerpos a PEDV, TGEV y síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS), se en-

contró la presentación de diarrea, letargia y ocasionalmente diarrea tres días posinoculación (DPI), y se mantuvieron los signos hasta diez DPI. Por otra parte, se observó adelgazamiento de la pared del intestino y contenido líquido en el lumen desde el día 2 al 7 (DPI). Por histopatología se detectó reducción de la altura de las vellosidades desde el día 3 al 7 (DPI), y regresó a su normalidad al día 14 (DPI). En este mismo estudio se observó también en relación con los parámetros productivos, pérdida de una semana de ganancia de peso entre los animales inoculados y los controles. La eliminación viral detectada con hisopados rectales se encontró hasta 17 días después de la ausencia de signos clínicos o lesiones. Con este estudio se pudo demostrar que el virus se puede eliminar en materia fecal por mayor tiempo, no obstante a los registros realizados en el pasado con otros PEDV (29).

En estudios similares de desafío experimental con esta misma cepa viral en neonatos se encontró severa depresión, deshidratación, mala digestión y absorción, diarrea acuosa y vómito en los lechones a las 12, 24 y 72 horas (PI), y se observó atrofia y fusión de vellosidades a las 36, 48 y 72 horas (PI). En la detección viral por PCR a partir de muestras de contenido intestinal colectadas a la necropsia se detectó el virus de PEDV a las 12, 24 y 72 horas, tiempo en el que culminó el experimento (72 horas PI) (30). Resultados similares se obtuvieron con la cepa Ohio, Estados Unidos, PEDV-PC21A, en la cual se utilizaron lechones gnotobióticos; con este experimento se concluyó que esta cepa es altamente enteropatógena, en la que el yeyuno y el íleon son los sitios primarios de infección, lo cual produce enteritis atrófica acompañada de viremia, diarrea y vómito (31).

## PHEV

Debido a su tropismo por el sistema nervioso, una vez sucede la infección oral-nasal, siendo el

único coronavirus neurotrópico, llega a los plexos nerviosos gástricos y entéricos, lo que genera glanglioneuritis, y así hasta el sistema nervioso central (SNC), lo que produce encefalomielitis; las lesiones se localizan en la médula oblonga, en la espinal, en el cerebro y en el cerebelo, donde se evidencian manguitos perivasculares y focos de gliosis. Lo anterior hace que se presenten las manifestaciones clínicas de anorexia, tremor y paraparesia (2,14).

## PDCoV

Es un virus que presenta tropismos por el tracto gastrointestinal similar a TGEV y PDCV, sin que se tenga aún caracterizada plenamente su fisiopatología, puesto que no se encuentran registros en la actualidad.

## INMUNOLOGÍA

La protección frente a los diferentes coronavirus está asociada a su exposición previa a los virus, si los animales sobreviven, a la inmunidad materna transmitida por el calostro en las primeras horas de vida y a la utilización para algunos de estos virus de vacunas vivas atenuadas o modificadas, como es el caso de TGEV. Respecto a TGEV y PRCV, la protección por exposición o vacunación a cualquiera de estos virus genera protección cruzada de forma adecuada en los cerdos, evento que no sucede para el caso de PHEV, PEDV y aún se desconoce la protección inmune frente a PDCoV. La protección calostrual entérica está asociada a la presentación de IgA, la cual es efectiva para la protección de la infección entérica para TGEV y PEDV. La protección por medio de la inducción de anticuerpos neutralizantes está relacionada con la respuesta a las proteínas S y N de los virus de TGEV, PRCV y PEDV, los cuales se han estudiado hasta el presente (2,7).

## INMUNIDAD NATURAL EN PEDV

El desarrollo rápido de inmunidad activa en toda la población de madres es muy importante para minimizar el impacto económico de la enfermedad. Esto se logra mediante la exposición intencional y controlada del hato de cría a la infección con el virus, y la clave del éxito es la exposición rápida y completa de toda la población de madres (gestantes, reemplazo, etc.). El virus se disemina fácilmente a partir de materia fecal de animales enfermos, intestino delgado de los lechones lactantes infectados, o con el contacto directo de animales infectados que estén eliminando el virus en la materia fecal (26,32).

La eliminación de la infección en el hato de cría se puede lograr con el uso inmediato de material infectivo (heces, intestino delgado), suministrado vía oral a las madres (*feedback*), seguido por un cierre de la granja (no introducción de animales de reemplazo o susceptibles). El proceso se finaliza posteriormente con la introducción de animales centinelas (susceptibles) para determinar si ocurrió o no la eliminación viral (3,26,32).

Para producir una respuesta inmune sólida a la concentración de virus de la PEDV, es muy importante cuando se van a exponer las madres a la infección. Por esta razón, el material utilizado para el *feedback* o la exposición consiste en el intestino delgado o la diarrea (heces) de lechones lactantes que tengan entre 12 y 18 horas de haber comenzado la diarrea, momento en el cual existe un alta carga viral en la mucosa intestinal (32). Es importante establecer previamente el diagnóstico por laboratorio de PEDV y cerrar la granja entre tres y cuatro meses para evitar la entrada de animales susceptibles.

El proceso de exposición natural a la infección por PEDV consiste en una serie de pasos en los que

se suministra inóculo oral (contenido intestinal) de lechones sacrificados enfermos a las hembras que no hayan mostrado signos clínicos de enfermedad, con el fin de lograr una exposición e infección controlada de toda la población, para así conseguir la inmunidad del hato en un solo momento de tiempo, y evitar la presentación de subpoblaciones no infectadas, las cuales perpetuarían la infección en la granja. Es necesario hacer seguimiento clínico de las hembras expuestas verificando la infección relacionada con la presentación de fiebre, diarrea y vómito (3,26,32). Treinta días después de que hayan desaparecido los signos clínicos se pueden colocar centinelas (reemplazos) de una granja negativa, los cuales primero pasan por un periodo de cuarentena y luego se ingresan al hato de cría para evidenciar si presentan o no signos clínicos. Si estos centinelas no presentan signos clínicos se puede asumir que la enfermedad está controlada.

Además, si estos reemplazos no muestran seroconversión (anticuerpos por Elisa), se deduce que ya no hay circulación viral (4,10,26). Otra metodología para establecer la ausencia de circulación es coleccionar fluidos orales o hisopados rectales de los lechones a los 30 días después de la exposición natural para verificar si ya no hay eliminación viral que usa qPCR (2,3,24,32,33). Es necesario en todo caso tener precaución con el suministro de macerados de vísceras (pulmón, ganglio linfático, bazo) de lechones en granja que tengan PRRS, enfermedad de Aujeszky o PPC, dado el alto riesgo que esto representa para la salud de la granja.

## VACUNAS PARA PEDV

El eje inmunológico *intestino-glándula mamaria* es un concepto muy importante que se debe considerar en el diseño de una vacuna óptima para poder proporcionar inmunidad lactogénica (calostrada). En Asia se han desarrollado varios tipos de vacu-

nas que difieren en su secuencia genética, modo de aplicación y eficacia. Se han descrito vacunas muertas, virus atenuado de uso parenteral y virus vivo atenuado de uso oral. En general, la protección de estas vacunas es parcial y no son eficaces contra esta enfermedad. No existen vacunas eficaces disponibles en América. En el caso de Asia (Corea), la mayoría de las cepas virales circulantes difieren genéticamente de los virus vacunales, lo cual se puede dar por la presión inmunológica producida por el excesivo uso de la vacuna (4,10,26). En la actualidad se realizan estudios de vacunas recombinantes utilizando en simultáneo la proteína S de TGEV y PEDV, evaluada en ratones, que han mostrado altas concentraciones de anticuerpos neutralizantes y específicos para los dos virus 35 días posinmunización (7).

## IMPLICACIONES EN SALUD PÚBLICA Y COMERCIO INTERNACIONAL

En la actualidad no se encuentran informes que permitan establecer el contagio de humanos por coronavirus porcinos (PHEV, TGEV, PRCV, PEDV y PDCoV) (14).

## DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR CORONAVIRUS EN PORCINOS

Debido a la diversidad de géneros, grupos virales y tipo de manifestación clínica producto de la infección por cada coronavirus en cerdos, se debe conocer en campo las características clínicas que tienen los coronavirus de tropismo entérico como lo es TGEV, PEDV y PDCoV, los cuales presentan las mismas formas de presentación, siendo quizás más severas para el caso de TEGV. En el caso de PRCV, es claro que sus manifestaciones son netamente

respiratorias, lo que produce neumonía intersticial en los cerdos, y para el caso de PHEV, su cuadro clínico es de tipo neurológico.

El diagnóstico clínico presuntivo de cada uno de los coronavirus se puede confirmar mediante la presentación epidémica y rápida de los diferentes virus; la realización de las necropsias en campo; la evaluación de tejidos por histopatología (encéfalo, médula espinal, intestino, pulmón, según el tipo de coronavirus); la demostración de los antígenos virales por pruebas tales como inmunohistoquímica (IHQ), reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y aislamiento viral (AV) —este no se lleva a cabo en forma rutinaria porque toma tiempo y tiene una baja sensibilidad—; la inmunofluorescencia y el empleo de la microscopía electrónica, que permiten identificar partículas virales en tejidos o materia fecal, las cuales tienen forma de corona radiada independientemente del género de virus, condición propia de sus limitaciones diagnósticas (3,18,20).

## DIAGNÓSTICO DE PEDV

Para el caso de PEDV, existe una prueba rápida de inmunocromatografía para detectar el antígeno de las heces, lo cual es fácil de realizar. Para el PCR de tiempo real (qPCR), se utilizan *primers* (cebadores) para amplificar fragmentos de la proteína N que tiene regiones muy conservadas entre las cepas del PEDV. Para estudiar las cepas circulantes en el campo se utilizan *primers* dirigidos contra el segmento que codifica la proteína S *spike*, y así poder establecer diferencias o similitudes entre cepas circulantes de diferentes zonas geográficas (diversidad genética) (3,8,11,34). En la actualidad se está utilizando el fragmento genómico S1 de la región S para hacer los análisis filogenéticos con el fin de establecer homologías o variabilidad entre las cepas aisladas en campo, ya que esta es una región en la que se han encontrado sutiles variaciones (34).

Para el monitoreo de las granjas también se ha implementado la detección del ARN viral en el fluido oral. Se ha encontrado que la eliminación viral continúa hasta por 35 días después de que han desaparecido los signos clínicos. Esta información es importante porque los productores están moviendo animales en apariencia sanos previamente positivos hacia otras granjas (25,33). Las muestras para histopatología no deben ser mayores de 1 cm del duodeno, el yeyuno, el íleon y el colon, y deben estar principalmente fijadas en formalina tamponada al 10 %, lo que permite observar atrofia y fusión de vellosidades en el diagnóstico histopatológico, con necrosis y cambios vacuolares de tipo hidrópico de los enterocitos del tercio superior de las vellosidades. Las muestras para qPCR pueden ser segmentos de intestino delgado no mayores a 15 cm o 10 ml de materia fecal enviados en bolsas estériles (Nazco) o bolsas Ziploc en refrigeración/congelación.

Se cuenta también con pruebas como la inmunohistoquímica (IHQ) para la evaluación de tejidos o aislamientos virales fijados en formalina, en la que se utilizan anticuerpos monoclonales para la detección de la proteína S del virus de PEDV, sin que se presente reacción cruzada con TGEV u otros virus entéricos porcinos (rotavirus). Esto ha permitido evaluar la distribución del antígeno viral en el intestino, con lo cual se puede observar inmunomarcación principalmente en yeyuno e íleon, en los enterocitos del tercio superior de las vellosidades, producto de la infección viral por PEDV (35).

Se han descrito algunas pruebas serológicas para la detección de anticuerpos IgG, la inmunofluorescencia indirecta y las pruebas de Elisa que utilizan antígenos derivados de cultivos celulares o proteínas recombinantes del virus como la proteína N, de desarrollo reciente en algunas universidades en Estados Unidos. Los anticuerpos se detectan siete

días posinfección por Elisa. También se puede realizar la detección de anticuerpos por seroneutralización usando células Vero (10,20). En Colombia, como pruebas diagnósticas concluyentes para PEDV, solamente se cuenta con la qPCR, con la que se detectan segmentos del gen que codifica la proteína N; esta es utilizada por el ICA y por el Laboratorio de Virología Animal de la Universidad Nacional para la confirmación de casos.

## **CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN DE PEDV EN LA GRANJA**

Se debe revisar la bioseguridad interna (biocontención) y la bioseguridad externa (bioexclusión). Se debe tener precaución con productos concentrados o materias primas de origen internacional (plasma porcino). Las recomendaciones de bioseguridad incluyen: limitar el ingreso de personas y equipos; trazar un programa estricto de higiene y desinfección; exigir tiempos de cuarentena visitantes, aislamiento y cuarentena para animales vivos; prácticas de cambios de uniformes, botas y lavado de manos, entre otras (3,25,26).

Por otro lado, es necesario entender el sistema de transporte hacia adentro o hacia afuera de la granja, o las múltiples posibilidades para que el virus ingrese a la granja. El transporte crea el mayor riesgo para la diseminación e ingreso de esta enfermedad (3,20,25). Cada evento de transporte representa un alto riesgo. La diseminación mecánica del virus se puede realizar por contaminación de la cabina o el chasis. Esta contaminación puede ocurrir en la granja con el grupo de cerdos que se transporta, o por contaminación cruzada en la planta de sacrificio, en la planta de concentrados o en el sitio de lavado de los vehículos. Se deben garantizar protocolos estrictos de aseo y desinfección en vehículos

de transporte de animales, alimentos y de asistencia técnica.

## CONCLUSIONES

La aparición de enfermedades emergentes y re-emergentes para porcinos como lo es el PEDV hace necesario que se investigue la evolución y el origen de esta enfermedad en los diferentes países, teniendo presente su fisiopatología y epidemiología, para de esta forma tener herramientas de prevención y control, y así evitar su distribución e impacto sobre la industria porcina colombiana y en otros países. Por otra parte, es necesario que se eduque a los médicos veterinarios y zootecnistas, técnicos de campo y productores sobre esta nueva enfermedad en Colombia, y a su vez se requiere que se tracen políticas públicas que eviten el ingreso de nuevas enfermedades para las diferentes especies animales en el país.

## REFERENCIAS

1. Carstens EB. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009). *Arch Virol.* 2010;115(1):133-46.
2. Maclachlan J, Dubovi EJ. Coronaridae. *Fenner's veterinary virology.* 4a. ed. Boston Academic Press; 2011. p. 393-413.
3. Saif LJ, Pensaert MD, Sestak K, Yeo SG, Jung K. Coronaviruses. En: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson CW, eds. *Diseases of swine.* 10a. ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2012. p. 1081-91.
4. Song D, Park B. Porcine epidemic diarrhea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis and vaccines. *Virus Genes.* 2012;44(2):167-75.
5. Delmas B, Gelfi J, Laude H. Antigenic structure of transmissible gastroenteritis virus. II. Domains in the pelomer glycoproteina. *J Gen Virol.* 1986;67 (Pt 7):1405-18.
6. Correa I, Gebauer F, Bullino MJ, Suñé C, Baay MF, Zwaagstra KA, et al. Localization of antigenic sites of the E2 glycoprotein of transmissible gastroenteritis coronavirus. *J Gen Virol.* 1990;71(Pt 2):271-9.
7. Meng F, Ren Y, Suo S, Sun X, Li X, Li P, et al. Evaluation on the efficacy and immunogenicity of recombinant DNA plasmids expressing spike genes from porcine transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus. *PLoS ONE* [internet]. 2013;8(3) [citado 2014 mar 15]. Disponible en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0057468>
8. Chen Q, Lin G, Stasko J, Thomas JT, Stensland WR, Pillatzki AE, et al. 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(1):234-43
9. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Inmunología celular y molecular.* 6a. ed. Madrid: Elsevier; 2008.
10. Park SJ, Kwon Kim, H, Song SD. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) field isolates in Korea. *Arch Virol.* 2011;156(4):577-85
11. Yanh C, Huo JY, Chen L, Zheng FH, Chang HT, Zhao J, et al. Genetic variation analysis of reemerging porcine epidemic diarrhea virus prevailing in central China from 2010 to 2011. *Virus Genes.* 2013;46(2):337-44.
12. Goodwin RF, Jelmings AR. A highly infectious gastroenteritis of pigs. *Vet Rec.* 1958;70:271-2.
13. Sasahara J, Harada K, Hayashi S, Watanabe M. Studies on transmissible gastroenteritis in pig in Japan. *Vet Sci.* 1958;20:1-6.
14. Zimmerman J, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ. *Diseases of swine,* 10a. ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2012.
15. Wang L, Zhang Y, Byrum B. Complete genome sequence of porcine coronavirus HKU15 strain IN2847 from the United States. *Genome An-*

- nounc [internet]. 2014;2(2) [citado 2014 may 28]. Disponible en: <http://genomea.asm.org/content/2/2/e00291-14.full.pdf+html>
16. Marthaler D, Raymond L, Jiang Y, Collins J, Rossow K, Rovira A. Rapid detection, complete genome sequencing, and phylogenetic analysis of porcine deltacoronavirus. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2014;20(8) [citado 2014 ago 10]. Disponible en: [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/8/14-0526\\_article#suggestedcitation](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/8/14-0526_article#suggestedcitation)
  17. Huang Y, Dickerman A, Piñeyro P, Li L, Fang L, Kiehne R, Opriessnig T, Menga X-J. Origen, evolution and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *mBio* [internet]. 2013;4(5) [citado 2014 jul 15]. Disponible en: <https://www.aasv.org/pedv/research/PEDvOrigin-Huang.pdf>
  18. Pospichil A, Stvedli A, Kiupel M. Diagnostic notes update on porcine epidemic diarrhea. *J Swine Health Prod.* 2002;10(2):81-5.
  19. Marathaler D, Jiang Y, Otterson T, Goyal S, Rossow K, Collins J. Complete genome sequence of Porcine Epidemic Diarrhea Virus strains. USA/Colorado/2013 from the United States. *Genome Announc.* 2013;1(4):1-2.
  20. Stevenson GW, Hoang H, Schwartz KJ, Hurrrough ER, Sun D, Madson D, et al. Emergence of porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions and viral genomic sequences. *J Vet Diagn Invest.* 2013;25(5):649-54.
  21. Morales A, Beltrán L. Enfermedades porcinas de importancia en trópico colombiano. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); 1979.
  22. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Código Sanitario para los Animales Terrestres [internet]. 2014 [citado 2014 jun 15]. Disponible en: [http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/?htmlfile=chapitre\\_1.1.2.htm](http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/?htmlfile=chapitre_1.1.2.htm)
  23. Haas B, Ahl R, Böhm R, Strauch D. Inactivation of viruses in liquid manure. *Rev Sci Tech.* 1995;14(2):435-45.
  24. Magstadt DR, Madson D, Arruda PH, Hoang H, Sun D, Wilberts B, et al. Pathogenesis of porcine epidemic diarrhea virus in post weaned pigs. Documento procedente de AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 57-8.
  25. Morrison B, Goede D. Epidemiology an economic impact of the PED. Documento procedente de AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 605-9.
  26. Geiger JO, Connor JF. Porcine epidemic diarrhea, diagnosis and elimination [internet]. 2013 [citado 2014 abr 8]. Disponible en: <http://aasv.org/asssv%20website/resources/diseases/ped/13-05.29>
  27. Li G, Chen Q, Harmon KM, Yoon K-J, Schwartz KJ, Hoogland MJ, et al. Full-length genome sequence of porcine deltacoronavirus strain USA/IA/2014/8734. *Genome Announc.* 2014; 2(2). pii: e00278-14.
  28. Kim B, Chae C. Experimental infection of piglets with transmissible gastroenteritis virus: a comparison of three strains (Korean, Purdue and Miller). *J Comp Path.* 2002;126(1):30-7.
  29. Magstadt D, Madson D, Arruda P, Hoang H, Sun D, Wilberts E, et al. Pathogenesis of porcine epidemic diarrhea virus in post-weaned pigs. Documento procedente de AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 57-8.
  30. Arruda P, Madson D, Magstadt D, Hoang H, Sun D, Wilberts B, et al. Pathogenesis of porcine epidemic diarrhea virus in CDCD neonatal piglets. Documento procedente de American AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 377-8.
  31. Jung K, Wang Q, Scheuer KA, Lu Z, Zhang Y, Saif LJ. Pathology of US porcine epidemic diarrhea virus strain PC21A in gnotobiotic pigs. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(4):662-5.
  32. Schwarz K, Henry S, Tokach L, Potter M, Davidson D, Egnor C, Taylor AZ. Infective material, concepts and procedures for intentional sow herds exposure to porcine epidemic diarrhea virus. Iowa State University; 2013. p. 8.

33. Bower L, Madson D, Hoang H, Sun D, Lirola-Gimenez L, Magstadst D, et al. Utility of oral fluid sampling and testing for monitoring PEDV in herds. Documento procedente de AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 61-2.
34. Yoon KJ. Porcine epidemic diarrhea pathogenesis and diagnostics. Documento procedente de AASV 45th Annual Meeting; 2014 mar 1-4; Dallas, TX. p. 603-4.
35. Kim O, Chae C, Kweon CH. Monoclonal antibody-based immunohistochemical detection of porcine epidemic diarrhea virus antigen in formalin-fixed, paraffin-embedded intestinal tissues. J Vet Diagn Invest. 1999;11(5):458-62.

