

# Salud y Producción Porcina

#### Temas:

- 1.- Conversatorio sobre coronavirus digestivos porcinos.- *Dra. María Elena Trujillo Ortega; Dr. Marco Antonio Carvajal Velázquez; Dr. Alfredo Becerra Flores; Dr. Iván Sánchez Betancourt; Dr. Horacio Lara Puente.* 
  - a. El síndrome viral diarreico
    - Situación en México
    - ii. Diagnóstico
    - iii. Prevención y control



# CONSERVATORIO SOBRE CORONAVIRUS PORCINOS

#### **CONASA 2016**

Dra. María Elena Trujillo Ortega. Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos



# **BROTE EN MÉXICO**

Julio de 2013detectada por primera vez en Degollado, Jalisco y la Piedad, Michoacán

Diciembre de 2013-Sonora



Agosto de 2014-Todas las regiones porcícolas importantes (excepto Yucatan).





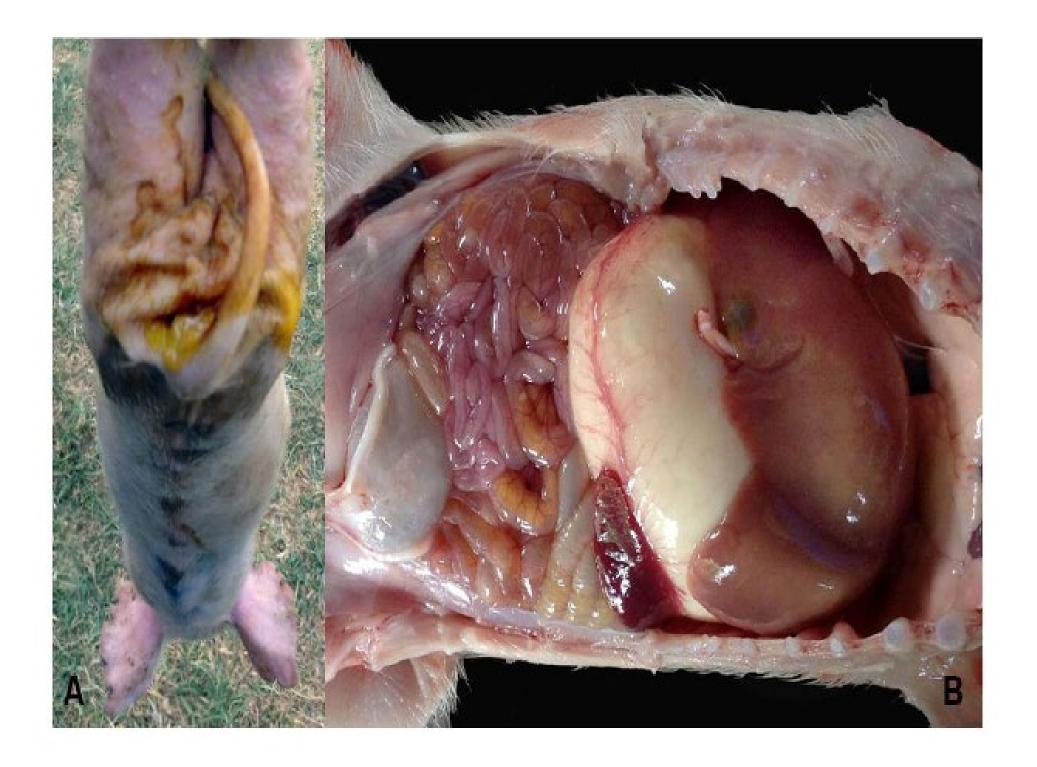
Noviembre de 2013- Edo. De México, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Aguascalientes Puebla, Veracruz, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa

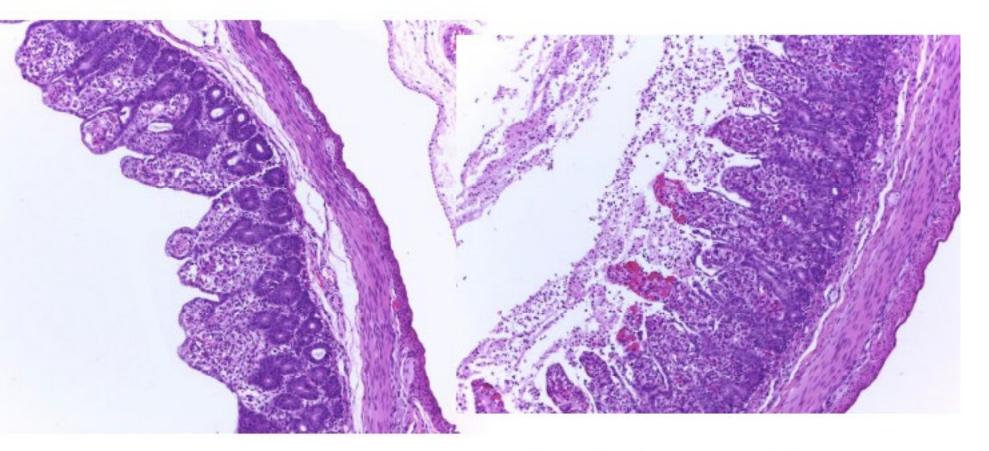
Herrera 2014 (2º simposio de PED)









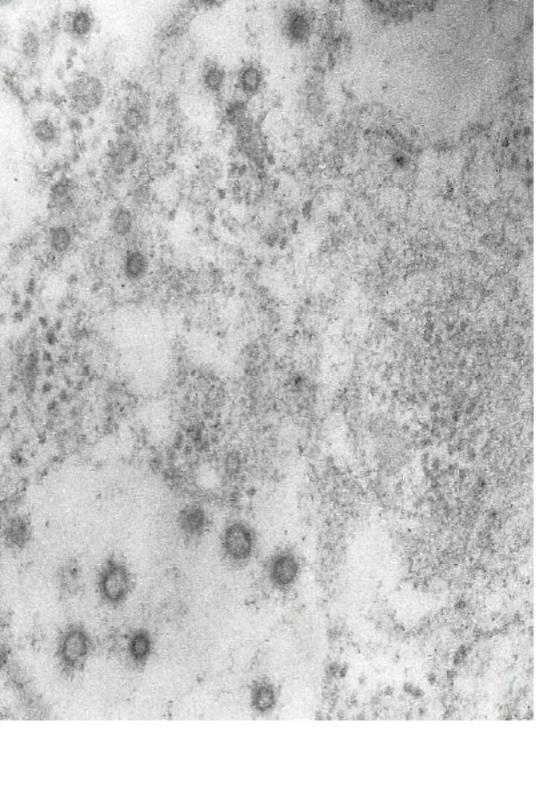


#### Descripción macroscópica foto intestino

El intestino delgado exhibe dilatación y adelgazamiento de su pared, a través de la cual pueden observarse restos de alimento.

Descripción microscópica intestino (Yeyuno)

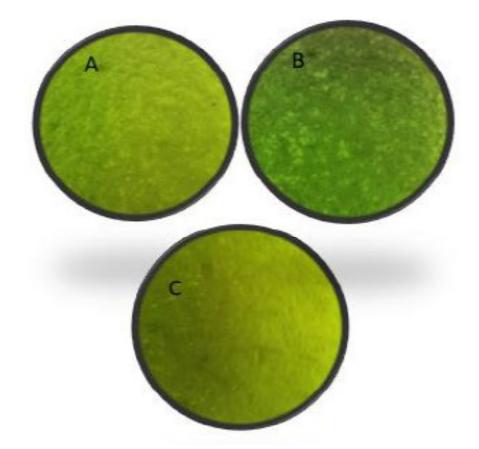
La mucosa exhibe congestión moderada, degeneración y necrosis de células epiteliales intestinales severa. Se observa atrofia severa de vellosidades, infiltrado linfocitario de leve a moderado



Microscopia
electrónica de
enterocitos particulas
virales de 75-83
nm de diametro

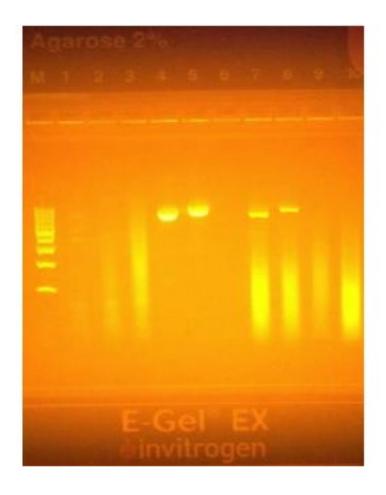
La morfología y tamaño de la partícula viral coincide con un **Coronavirus.** 

#### AISLAMIENTO VIRAL



Efecto citopático del virus PEDV en células Vero.

A y B) Células infectadas con macerado de duodeno y heces de las muestras de campo a 24 hrs. posinfección. C) Control sin infectar.

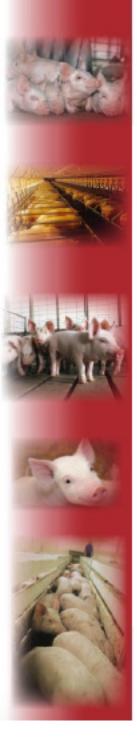


Identificación mediante RT-PCR del VDEP. Gel de Agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, Carril 4 **gen S** 651 pb muestra: contenido gástrico, Carril 5 **gen M** 765 pb muestra: contenido gástrico, Carril 7 gen S 651 pb muestra: estomago, Carril 8 gen M 765 pb muestra: estomago

#### **FALLA REPRODUCTIVA**



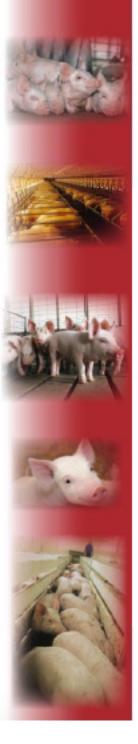
Falla reproductiva (causa-efecto)						
	Aborto	Nacidos débiles	Mortinatos	Momias	Camadas pequeñas	
GENERAL						
Temperatura alta						
Manejo						
Nutrición						
BACTERIAS						
Leptospira						
VIRUS						
Parvovirus						
DEFICIENCIA TOXICIDAD						
Vitamina A						
Zearalenona						
Fumonisina						



#### Principales signos en falla reproductiva

Causa	No infecciosa	Infecciosa
Anestro	XXX	-
Repetición regular	XXX	X
Repetición irregular	x	xxx
Baja tasa de concepción	XXX	X
Baja tasa de parición	XXX	XX
Aumento de días a 1er servicio	XXX	X
Baja eficiencia con IA	XXX	-
Aumento de aborto	X	XXX
Descarga vaginal	-	XXX
Aumento de nacidos muertos	XXX	XX
Aumento momias < 4cm	X	XXX
Aumento de momias > 4cm	XXX	XX
Baja en número de nacidos vivos	XXX	XX

Modificado de Pejsak, Z. 2003.



#### Signos clínicos en enfermedades

Causa	EA	PVP	PRRS	EOA
Signos en la hembra	SI	NO	NO/SI	NO/SI
Aborto (Tercio afectado)	1-2-3	NO	>80 días	NO/SI
Muerte embrional y reabsorción	SI	SI Frecuente	NO claro	SI
Muerte fetal y momificación	SI	SI Frecuente	SI bajo	SI
Lechones nacidos muertos	SI	SI Frecuente	SI	SI
Anomalías del desarrollo	NO	NO	NO	NO
Nacidos débiles y bajo peso	SI	NO	Si sig. respiratorio	NO

Modificado de Mengeling et al. 1997.



#### **LECHON**

Duración del brote 3-6 semanas

Incrementa nacidos muertos

Incrementa momias

Mortalidad 100%



Incrementa días no productivos

Aumenta % abortos

Disminuye la fertilidad

No amamanta

Afecta la involución uterina



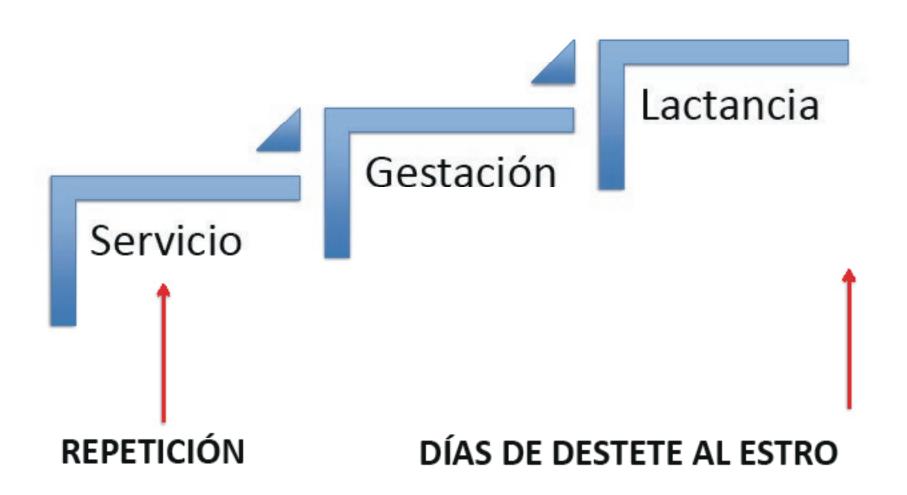














### Efecto del DEPv antes y despues del brote

Variable	Antes de DEP	Durante DEP	Variación	Р
No.servicios	2581	2956		
%fertilidad	91.3	87.5	-3.8	0.003
%Abortos	2.0	2.7	+0.7	0.05
No. De partos	2353	2583		
Nacidos Totales	12.2	12.5	+0.3	0.006
Nacidos Vivos	11.3	11.2	-0.1	0.38
%Nacidos muertos	4.3	6.1	+1.8	0.001
%Momias	2.9	4.0	+1.1	0.001
Peso Nac. (kg)	1.59	1.61	+0.02	0.02

Olanratmanee E, et al, 2010

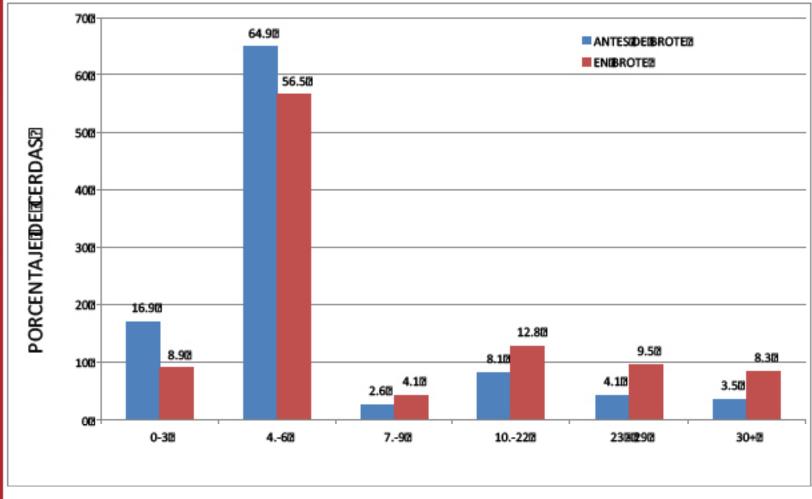
# Efecto del DEPv en cerdas gestantes

Variable	Antes de PED	Días de Gestación al ser infectadas			
		0-30	31-60	61-90	91-116
%Fertilidad	91.1	78.5	92.5	92.5	91.4
%Aborto y reabsorción	2.1	3.4	2.6	1.9	3.2
Total Nacidos	12.1	11.7	12.4	12.8	12.9
Nacidos Vivos	11.1	10.3	11.3	11.6	11.7
Nacidos Muertos	4.5	5.9	5.4	5.2	6.2
% Momias	3.5	5.6	3.4	3.3	3.5
Peso al nacer (kg)	1.62	1.65	1.63	1.62	1.59

Olanratmanee E, et al, 2010

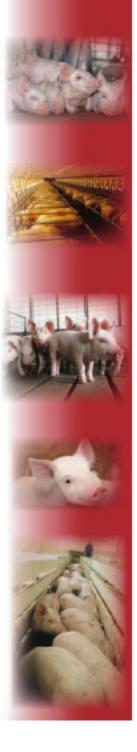


#### Intervalo de días de monta post-destete

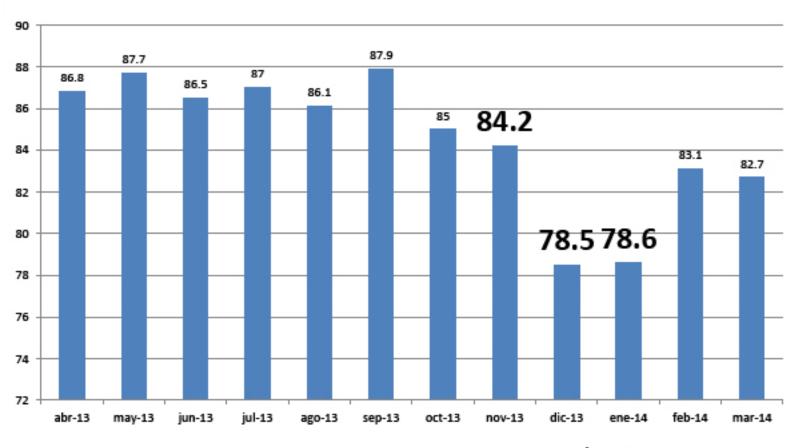


n= 5,500 hembras

Quintero V, 2015.

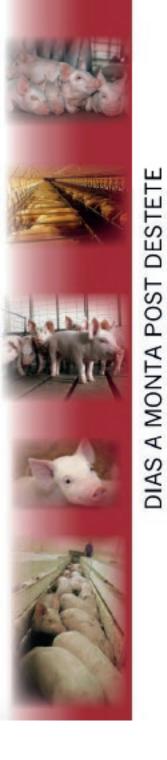


### Tasa de parición

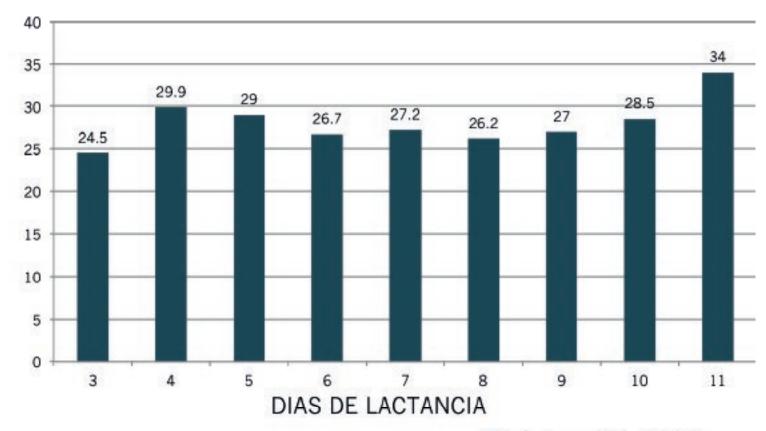


Quintero V, 2015.

n=2,900 hembras



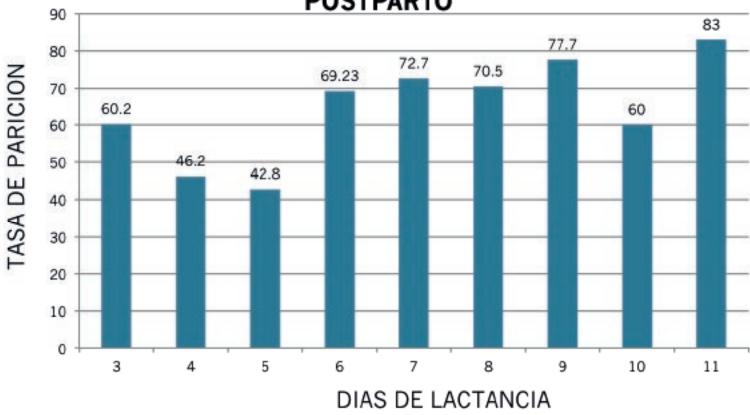
# DIAS A MONTA POST- DESTETE CERDAS DESTETADAS ENTRE 3 Y 11 DIAS POSTPARTO



Quintero V, 2015.

n=200 hembras

# TASA PARICION CERDAS DESTETADAS ENTRE 3 Y 11 DIAS POSTPARTO



Quintero V, 2015.

n=200 hembras



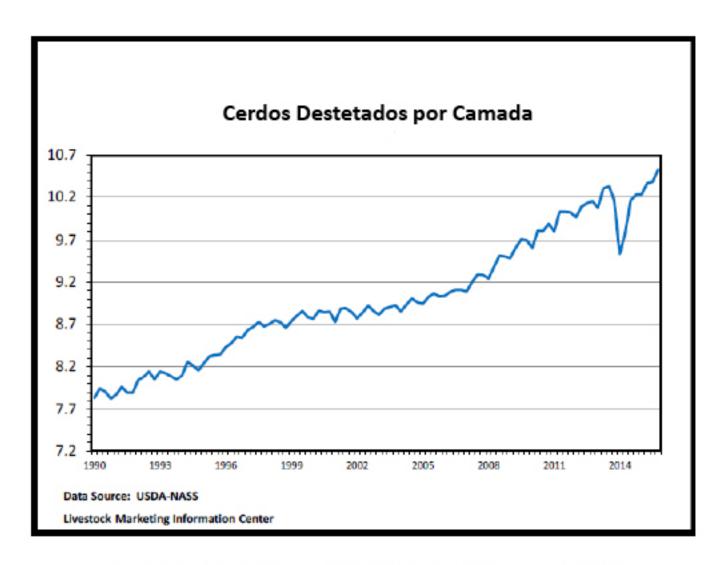
# Diarrea Epidémica Porcina Estrategias de Control Infección Crónica / Rebrotes

Marco Antonio Carvajal Velázquez
Consultor Técnico Senior Cerdos
Elanco Salud Animal





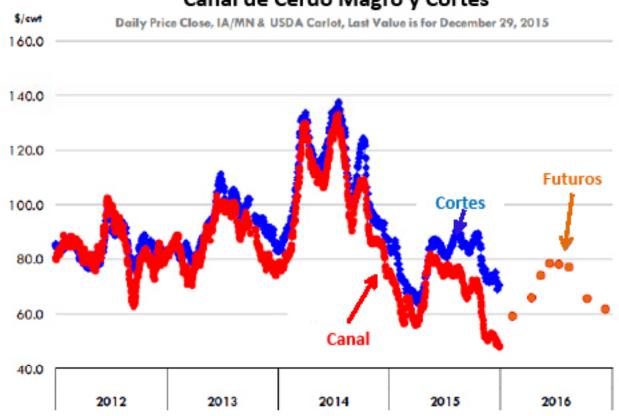
## Efecto DEP en EEUU: Producción



Fuente: Daily Livestock Report. Vol. 13, No. 250 / Diciembre 24, 2015

### Efecto DEP en EEUU: Precio

#### Precio Promedio Canal de Cerdo Magro y Cortes



Fuente: Daily Livestock Report. Vol. 13, No. 255 / Diciembre 30, 2015

# Objetivos

- Manifestación clínica de la Diarrea Epidémica Porcina (DEP) después del brote inicial
- Posibles causas del problema
- Estrategias de control
- Comentarios y recomendaciones

## ¿Por qué vemos re — brotes? (Dufresne & Robbins, 2014)

- Un re brote puede ocurrir 6 meses después del brote inicial (Ackerman M., 2015)
- Perdida de inmunidad lactogénica
- Subpoblaciones de animales no infectados
- Subpoblaciones de animales que no responden
- Alto desafío que rebasa la inmunidad
- Excreción crónica de virus (cerdas portadoras)
- Limpieza, lavado, desinfección y secado inadecuado
- Mutación viral o ingreso de un virus diferente

### Infección Endémica (Lufresne L., AASV 2015)

- Puede ocurrir en el 30% a 40% de las piaras
- Debido a disminución en la inmunidad, excesivo desafío viral, o ambos
- Algunas causas:
  - No realización de eutanasia a animales enfermos
  - Granjas de ciclo completo
  - Mal manejo de los reemplazos
  - Meses fríos
  - Granjas muy grandes
  - Diseño de las instalaciones de maternidad

# Factores de Riesgo para Infección Endémica por DEP (Pittman J. et al., 2015)

- Diseño de las maternidades
- Cuidado del lechón al día 1 de nacido
- Dejar cerdos en maternidad sin la hembra
- Manejo Todo Dentro Todo Fuera efectivo
- Restricción del movimiento del personal
- Uso de agua reciclada (de las lagunas de oxidación)
- Presencia de otras enfermedades
- Varios destetes por semana

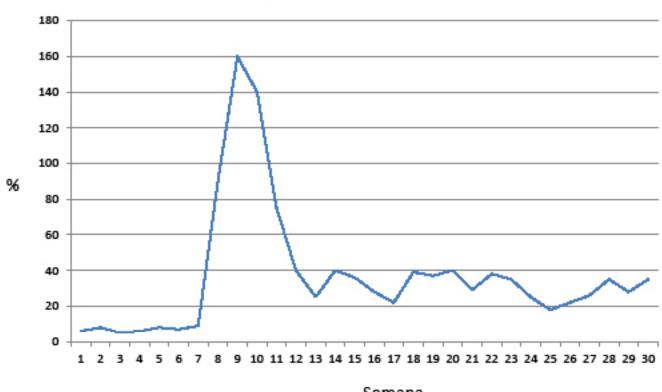
# 1. DEP después del brote inicial

Granjas con problema clínico asociado al virus de la DEP (vDEP) después del brote inicial:

- a. Granja inestable
- b. Granja con rebrotes frecuentes
- c. Rebrote un año después
- d. Circulación del virus en destete / engorda

# a. Granja Inestable



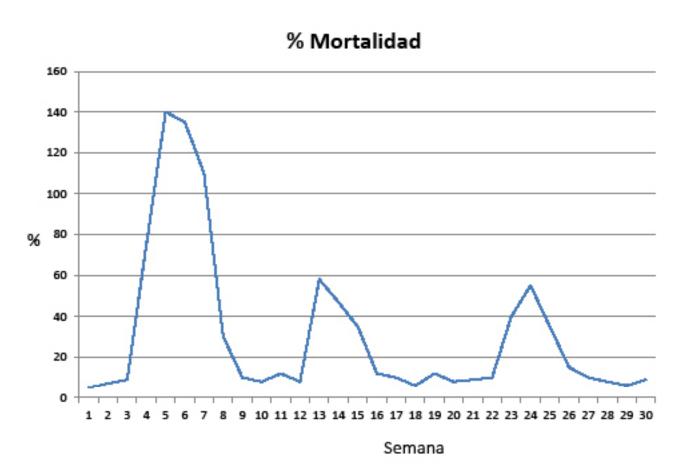


Semana

#### Posibles causas

- Proceso de "feedback" inadecuado
- Coinfecciones debido al "feedback" (PRRS, E. coli, Rotavirus,...)
  - Deficiente nivel de inmunidad en el pie de cría
- Errores en el proceso de producción (TD TF, LLDS,...)
- Otros virus (GTC, Delta Coronavirus)
  - Al menos 3 vDEP (http://www.aasv.org/news/story.php?id=7004) y 2
     Delta Coronavirus (http://www.aasv.org/news/story.php?id=7019)

#### b. Rebrotes Frecuentes

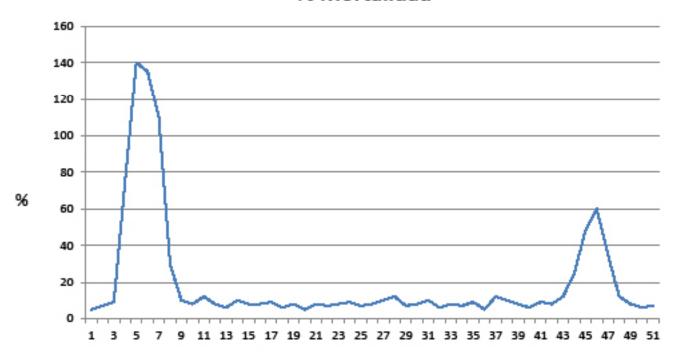


#### Posibles causas

- Co infecciones
- Deficiente inmunidad
- Elevada exposición al virus de campo
  - "Feedback" frecuente
  - Deficiente proceso TD TF
  - Deficiente proceso de LLDS
  - Instalaciones inadecuadas

#### c. Rebrote

#### % Mortalidad



Semana

#### Posibles causas

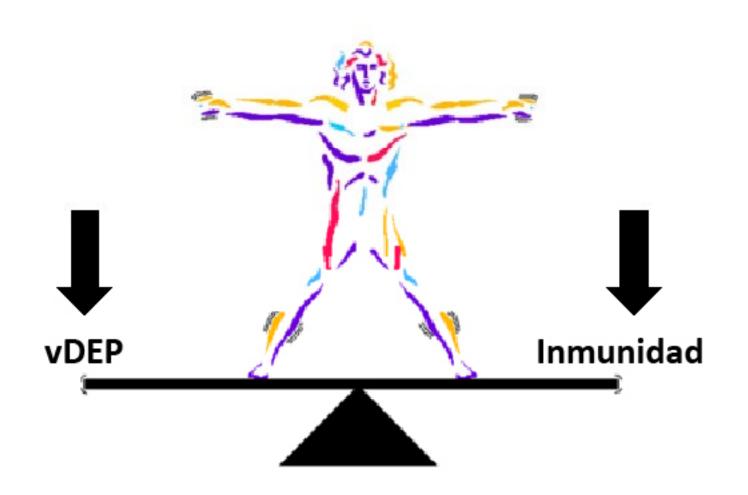
- Perdida de inmunidad
- Movimiento regional del virus
  - Virus detectado a 16 kms de una granja infectada (Dufresne & Robbins, 2014)
- Ingreso de un virus diferente (vDEP, Delta Coronavirus, GTC)

## d. DEP en Destete / Engorda

- Animales nacidos de hembras inmunes no se infectan
  - No hay inmunidad activa
- Diarrea en los cerdos que cede en pocos días
- Problema por:
  - Patógenos secundarios
  - Ligero incremento en días a venta y CA
  - El virus sigue circulando en la granja



# Equilibrio: Presión de Infección - Inmunidad



#### 2. Estrategias de Control

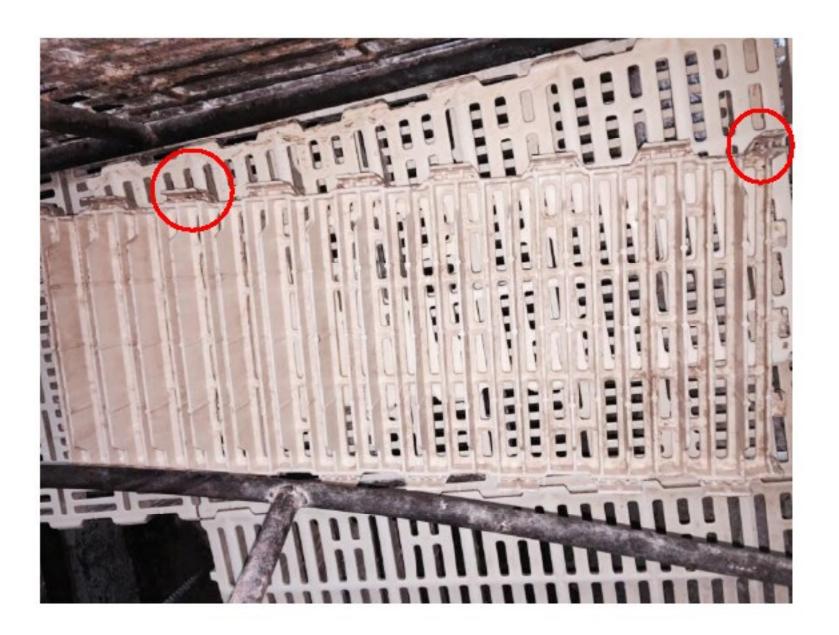
- a) Reducir la Presión de Infección
  - Evitar el movimiento del virus de campo
- b) Incrementar la Inmunidad
  - Favorecer la respuesta inmune

## a) Reducir la Presión de Infección

- <u>Exagerar</u> la higiene en las instalaciones (LLDS)
  - Limpieza, lavado, desinfección y secado
  - Virus muy resistente al medio ambiente (Goyal, 2014)
- Control de fauna nociva (vectores mecánicos)
  - Perros, gatos, ratas, aves, insectos,...
- Llevar grupos a parto a otras instalaciones
- Cierre de granja (no ingreso de primerizas por 4 a 6 meses)

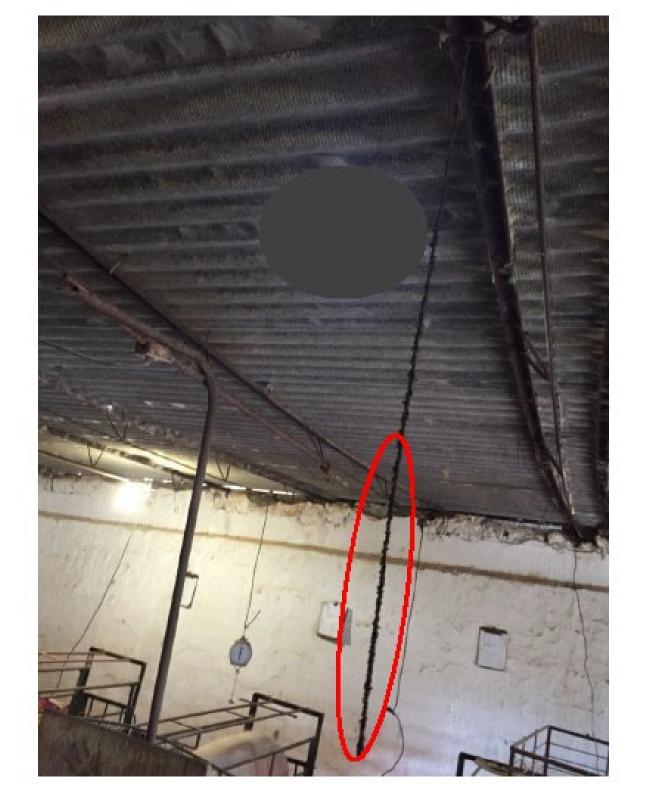




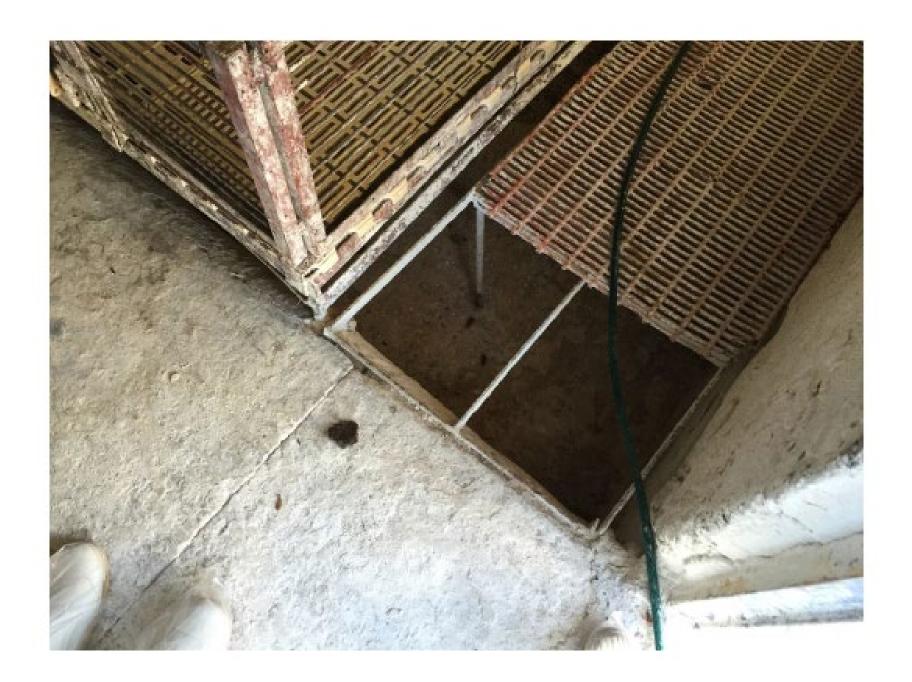




















## Riesgo de Infección

- Una gota de heces puede contener hasta un millón de partículas virales
- Se requieren alrededor de 200 partículas virales para infectar a un cerdo (Dufresne & Robbins, 2014)
- Entonces, un gramo de heces tiene capacidad de infectar cinco mil cerdos!!!

## Hembras portadoras del virus

El virus en heces por al menos 24 días (Madsen et al., 2014), 42 días (Hesse, 2014) y hasta 40 semanas\* (Rovira A., 2015)
 \*Después del "feedback"

# Reducción del riesgo de movimiento viral por hembras portadoras

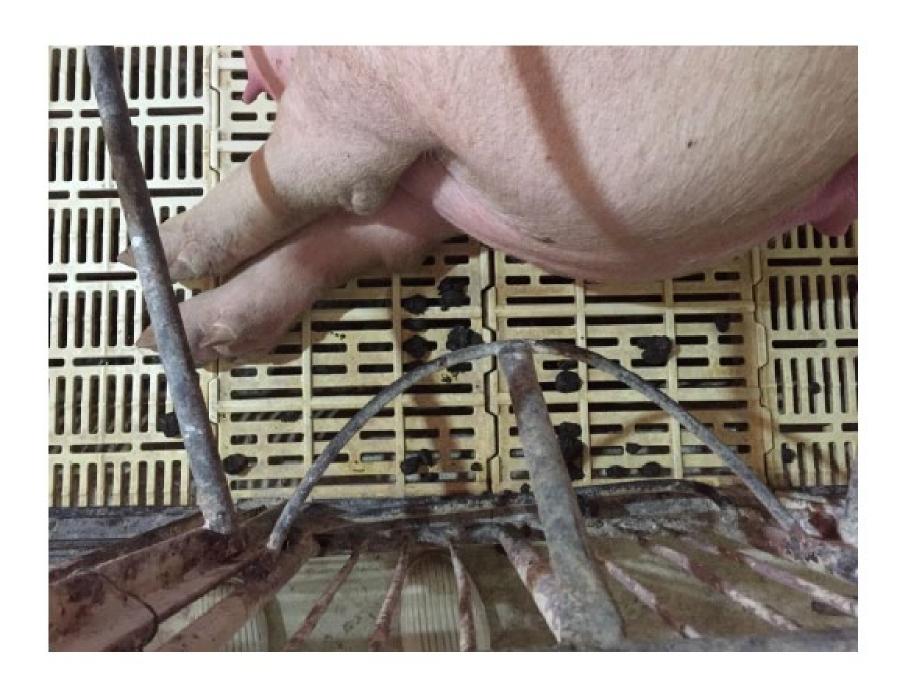
- Adicionar ionoforo al alimento
  - Narasina, Monensina, Salinomicina
- Se ha demostrado que los ionoforos tienen efecto antiviral (Puls et al., 2015)
- Administrarlo en el alimento de lactancia, desde el enjaule de las cerdas en maternidad hasta el destete (60 – 120 ppm)

## b) Incrementar la inmunidad

- "Feedback" solo con contenido diarreico en la cuarentena (aislada)
  - Conexión intestino glándula mamaria solo después del a pubertad (Said, 2015)
- Vacuna subunitaria o a base de virus inactivado
- Aplicar a todas las hembras previo a parto
  - La vacuna no protege animales que no hayan sido previamente expuestos al virus de campo

## Opciones / Complemento

- Cierre de granja (no ingreso reemplazos)
- Asegurar el consumo adecuado de calostro a todos los lechones inmediatamente después de nacidos
  - Atención lechones nacidos de bajo peso
- Dar el mayor confort a las hembras para mejorar respuesta inmune y la producción de leche
  - Laxado previo al parto, temperatura, ventilación, agua, alimento, piso, jaula, ...



## Riesgo con el tiempo

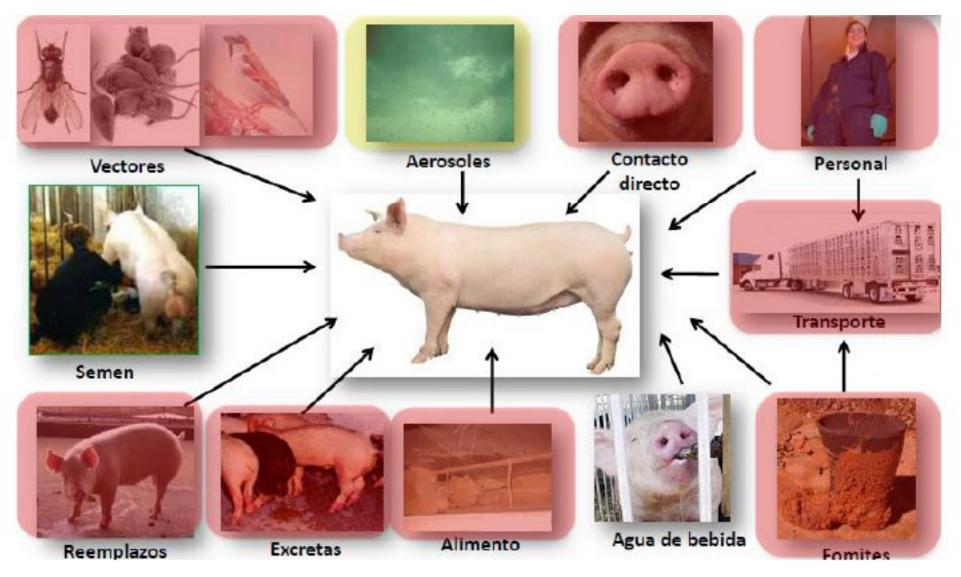
Un año después del brote inicial:

- Granja de 1,000 hembras de pie de cría, ciclo completo
- Población total: 11,000 animales
- 40% de tasa de reemplazo anual
- Solo 600 hembras posiblemente inmunes
- 10,400 animales susceptibles (95% de la población!!!)

## Acciones Complementarias

- Control de otros patógenos
  - Programa de vacunación
  - Programas Estratégicos de Medicación
- Control Regional
  - Evidencia de movimiento regional del virus por difusión vía aérea (Alonso et al., 2014)

#### Métodos de transmisión



#### Conclusiones

- Extremar la bioseguridad
- Asegurar los procesos de LLDS
- Acceso a Diagnóstico
  - Pruebas directas e indirectas
  - Secuenciar virus aislados
- Acceso a Vacunas
- Control Regional

# Gracias por su atención



# CONVERSATORIO SOBRE EL SINDROME VIRAL DIARREICO

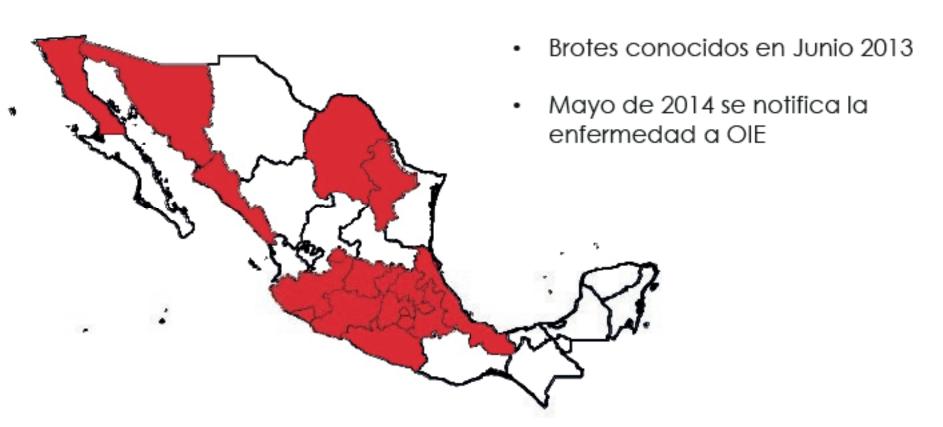
# Coronavirus entéricos en México ¿Qué nos ha faltado?

Esteban Ramírez Portolés Gte. Tecnico Keken

> LEÓN, GUANAJUATO Octubre 2016

#### Situación en México

#### Estados con reporte de PED en México



#### EN MENOS DE 10 MESES LA ENFERMEDAD SE DISEMINO EN 17 ESTADOS

#### **IMPACTO ECONOMICO (RABOBANK)**

#### Mexico

This year, despite the sow herd increasing by 50,000 head, to 875,000 sows, pork production in Mexico is anticipated at 1.3m tonnes—flat compared to last year due to the impacts of PEDv. A further decline in domestic production was mitigated due to improving genetics, as large Mexican hog farms continue to invest in genetics (that produce more pigs per sow) and biosecurity.

\*\*Rababank Pork Quarterly Report. Q4 2016\*\*

 Esto significa que México dejó de producir al menos 1 millón de cerdos o el equivalente a 86,300 TM de carne de cerdo. (aprox)

En términos generales, por cada 1,000 vientres y con una mortalidad asociada a DEP en la maternidad del 20%, una empresa porcicola puede perder o dejar de generar 1.8 millones de pesos al año, aproximadamente.

# ¿Es PED realmente una enfermedad de alto impacto en la industria?

<u>Federal Order</u> -- USDA Secretary Tom Vilsack issued a Federal Order on June 5, 2014 requiring the reporting of swine enteric coronavirus diseases including PED and PDCoV

## Swine Enteric Coronavirus Diseases (SECD), including Porcine Epidemic Diarrhea virus (PEDv)

Last Modified: Nov 4, 2016

#### Background

Since its appearance in the United States in April 2013, PEDv has spread within the swine industry. In early 2014, an additional related virus, porcine delta coronavirus (PDCoV), appeared in this country. Infections with these novel SECD can cause significant morbidity and mortality, particularly in young piglets.

#### Federal Order and Reporting Information

In response to a large number of SECD cases that were causing significant hardship for the U.S. swine industry, APHIS issued a Federal Order in June 2014 making SECD a reportable disease. At the same time, USDA made funds available to cover specific costs associated with the disease. On January 4, 2016, the United States Department of Agriculture's (USDA) Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) issued a revised Federal Order to more effectively use remaining emergency funding. SECD remains a reportable disease, which means that producers, veterinarians, and diagnostic laboratories are required to report all cases of SECD to USDA or State animal health officials. The reporting criteria are unchanged in the revised Federal Order.

The revised Federal Order eliminates the herd plan requirement, as well as reimbursement to veterinarians for completing those plans. It also eliminates reimbursement for biosecurity actions, like truck washing. USDA and the States are collaborating with herd veterinarians and producers to manage the diseases in a manner that supports business continuity for commercial pork producers and maintains a plentiful supply of pork for consumers.

## ¿Es PED realmente una enfermedad de alto impacto en la industria?

04/05/2016

ACUERDO MEDIANTE EL CUAL SE DAN A CONOCER EN LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS LAS ENFERMEDADES Y PLAGAS EXÓTICAS Y ENDÉMICAS DE NOTIFICACIÓN OBLIGATORIA DE LOS

#### ANIMALES TERRESTRES Y ACUÁTICOS.

Artículo 1o.- El presente Acuerdo tiene por objeto establecer grupos y características de enfermedades y plagas de los animales terrestres y acuáticos, que deben ser notificadas a las autoridades sanitarias del país incluyendo los animales de vida silvestre.

Artículo 2o.- El grupo 1 está compuesto por las enfermedades y plagas que no se encuentran en el territorio nacional o que han sido erradicadas del país; y que por su rápida diseminación y afectación al sector y riesgo para la salud pública, son consideradas de notificación inmediata obligatoria a las dependencias oficiales de salud animal y sanidad acuícola del país, como las siguientes:

Artículo 3o.- El grupo 2 está integrado por las enfermedades y plagas endémicas transmisibles que se encuentran en el territorio nacional; y que por sus efectos significativos en la producción pecuaria, comercio internacional, salud pública y por su importancia estratégica para las acciones de salud animal y sanidad acuícola en el país, son consideradas de notificación inmediata obligatoria a las dependencias oficiales de sanidad animal del país siendo las siguientes:

#### 2) PORCINOS

SÍNDROME DE EMACIACIÓN MULTISISTÉMICO POSDESTETE (Circovirus porcino tipo 2)

SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (Arterivirus tipo 2, cepa americana)

Artículo 4o.- El grupo 3 está constituido por aquellas enfermedades y plagas que se encuentran presentes en el territorio nacional y son consideradas como endémicas; y que por representar un riesgo menor desde el punto de vista epidemiológico, económico, de salud pública y de comercio nacional e internacional, son consideradas de notificación mensual obligatoria a las dependencias oficiales de salud animal y sanidad acuícola del país, siendo las siguientes:

#### 6) PORCINOS

INFECCIÓN POR CORONAVIRUS RESPIRATORIO PORCINO / PRCV (Gammacoronavirus)

SÍNDROME DIARREICO ASOCIADO A LA PRESENCIA DE CORONAVIRUS (Alphacoronavirus, Deltacoronavirus / PorCor HKV15)

DIARREA VIRAL BOVINA (Pestivirus)

ENCEFALOMIELITIS PORCINA (Enterovirus, Picornavirus)

ENFERMEDAD DE GLASSER (Haemophilus parasuis)

## ¿Es PED realmente una enfermedad de alto impacto en la industria?

# PED CONTINUA SIENDO EN MEXICO UNA DE LAS ENFERMEDADES DE MAYOR IMPACTO PRODUCTIVO Y ECONOMICO PARA LA INDUSTRIA

i ALGO DIFERENTE DEBEMOS HACER!

## Diagnóstico

- Base para vigilar y dar seguimiento a los programas de control/eliminación
- Sentido de urgencia a las cosas básicas!!!!
  - Pruebas de diagnóstico deben ser gestionadas e importadas de inmediato post ingreso de una enfermedad.
  - Apoyar el desarrollo de pruebas de diagnostico.
  - Deben estar al alcance de todos.

## Role of Transportation in Spread of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection, United States

James Lowe, Phillip Gauger, Karen Harmon, Jianqiang Zhang, Joseph Connor, Paul Yeske, Timothy Loula, Ian Levis, Luc Dufresne, and Rodger Main

After porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) was detected in the United States in 2013, we tested environmental samples from trailers in which pigs had been transported. PEDV was found in 5.2% of trailers not contaminated at arrival, , suggesting that the transport process is a source of transmission if adequate hygiene measures are not implemented.

#### Conclusions

Harvest facilities serve as a source of contact between many swine farms with different health statuses. This study suggests that collection points, such as harvest facilities and livestock auction markets, can be an efficient source of contamination of transport vehicles that return to pig farms and likely played a role in rapidly disseminating PEDV across vast geographic regions shortly after PEDV was first identified in the United States. These data also suggest that the contamination of transport vehicles leaving the harvest facilities increased as the prevalence of PEDV—positive transport vehicles and virus load coming into the facility increased.









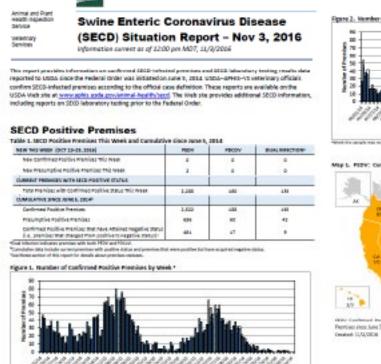
- Marco Regulatorio para enfermedades emergentes de alto impacto que permita:
  - Proteger regiones libres Robustecer Puntos de Verificación
  - Limitar la diseminación y reinfección en zonas endémicas.
  - Asegurar sanitización de unidades de transporte.
  - Bases para la eliminación en granjas endémicas.



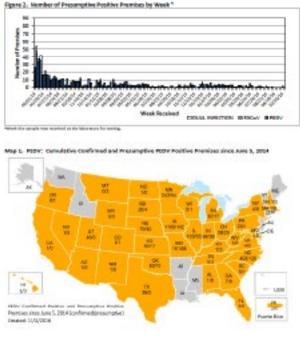
#### Algunos ejemplos:

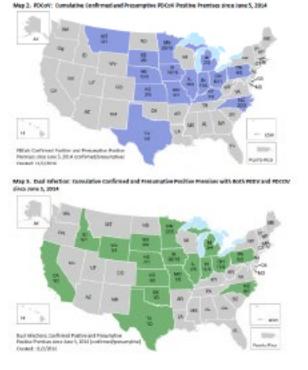
State	Import requirement	Effective date	Comments
Arkansas	Pigs must be inspected by a veterinarian and the the		
	CVI must include a statement that the pigs are traveling		
	from a site that hasn't had a PEDV case in the last 60		
	days. The state of Arkansas must then be called, (501)		
	907-2400, and an entry permit number must be issued		
	for the health certificate.	2-Apr-14	Effects all swine entering the state.
Idaho			
	CVI must be signed by both the owner and the		
	accredited veterinarian and contain the following		
	statement: "To the best of my knowledge, swine		
	represented on this certificate have not, within the last		Effects all swine entering the state, for
	30 days, originated from premises known to be		purposes other than shipment direct to
	affected by PEDv and have not been exposed to PEDv."	5-Mar-14	slaughter
North Dakota	CVI must be signed by both the owner and the		_
	accredited veterinarian and contain the following		
	statement: "The premises the swine are originating		Requires any pigs shipped into the
	from has not had any signs or a diagnosis of		state or within the state to have a
	Transmissible Gastroenteritis (TGE) or Porcine Epidemic		health certificate stating there have
	Diarrhea virus (PEDv) in the last 60 days."	4-Mar-14	been no clinical signs of PED or TGE
Oklahoma			
	CVI must be signed by the accredited veterinarian		
	containing the following statement: "To the best of my		
	knowledge, swine represented on this certificate have		
	not originated from a premises known to be affected		Effects non-commercial hoes entering
	by Porcine Epidemic Diarrhea virus (PEDv), and have		Oklahoma for purposes other than
	not been exposed to PEDv within the last 30 days."	10-Feb-14	immediate slaughter.
Texas			•
	CVI must be signed by the accredited veterinarian		
	containing the following statement: "To the best of my		
	knowledge, swine represented on this certificate have		
	not originated from a premises known to be affected		Effects non-commercial hogs entering
	by Porcine Epidemic Diarrhea virus (PEDv), and have		Texas for purposes other than
	not been exposed to PEDv within the last 30 days."	7-Eab-14	immediate slaughter.

- Monitoreo obligatorio de la enfermedad Generar Información
  - a) Casos nuevos y recurrentes, incidencia por estados, nuevas infecciones.
  - b) Obligatoriedad de reportes



COMMUNICATION SPRING SPRING





https://www.aphis.usda.gov/aphis/

- Monitoreo obligatorio de la enfermedad Generar Información.
- 2. Contar con todas las herramientas de diagnostico disponibles
- Contar con Herramientas de Control
  - a) Estandarizar protocolos de Feed back
  - b) Vacunas:
    - Las vacunas disponibles son a base de virus muertos.
    - Agilizar trámites de registro y permisos de importación.

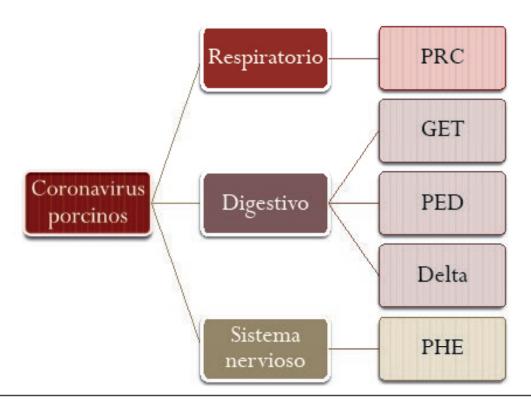
- Monitoreo obligatorio de la enfermedad Generar Información.
- 2. Contar con todas las herramientas de diagnostico disponibles
- Contar con Herramientas de Control
- Bioseguridad en todos los niveles (planes regionales):
  - Granjas Rastros
  - Movilización
  - Robustecer Puntos de Control Interestatales

- Monitoreo obligatorio de la enfermedad Generar Información.
- 2. Contar con todas las herramientas de diagnostico disponibles
- Contar con Herramientas de Control
- Bioseguridad en todos los niveles (planes regionales)
- Marco Regulatorio!!
  - Coronavirus digestivos seguirán golpeado fuertemente y diseminándose si no hacemos algo diferente
  - Vamos a actuar igual ante el ingreso de la siguiente enfermedad ?

- Monitoreo obligatorio de la enfermedad Generar Información.
- 2. Contar con todas las herramientas de diagnostico disponibles
- Contar con Herramientas de Control
- Bioseguridad en todos los niveles (planes regionales)
- Marco Regulatorio!!
- Fomentar la participación directa de los responsables de salud de las empresas en los foros de toma de decisiones.

## Coronarirus

• En los cerdos se conocen 5 coronavirus que provocan enfermedad



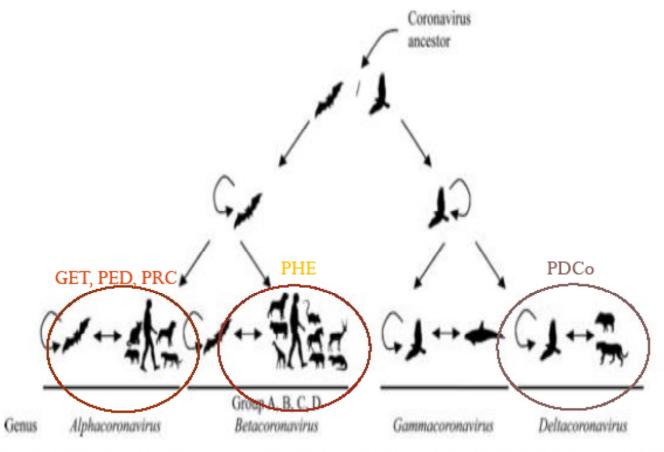


FIG 6 A model of CoV evolution. CoVs in bats are the gene source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus, and CoVs in birds are the gene source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus.

Woo, P 2012.

GET

EEUU en
1945

PED
Inglaterra
1971



Las tres enfermedades presentan un cuadro clínico muy similar lo que hace necesario el diagnóstico a través de pruebas de laboratorio.

#### CONTROL DE DEPiii

#### Vacunación

Respuesta inicial **Poco efectiva** Inducción de IgG poco protectores (ELISA)

Respuesta de memoria se incrementa consideradamente



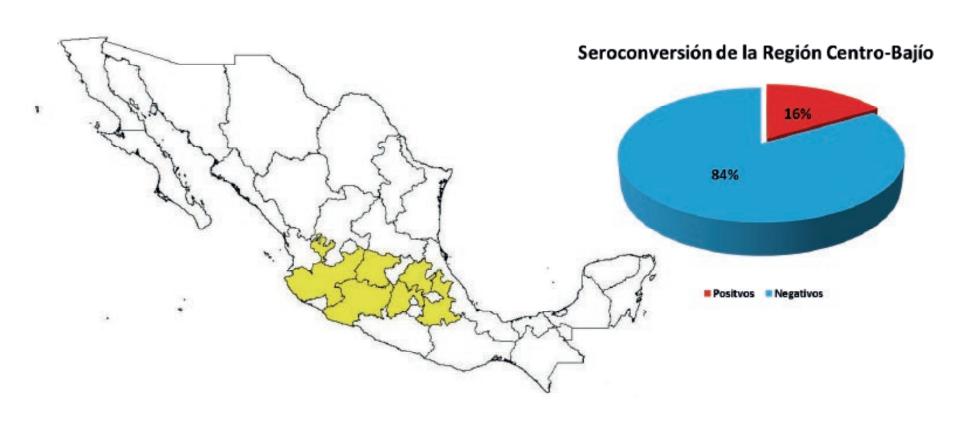
#### Inducción de Inmunidad Materna con Feed Back



Respuesta inicial **Muy Protectora** Inducción de IgG e IgA altamente específicos y protectores.

Generalmente no respuesta de memoria

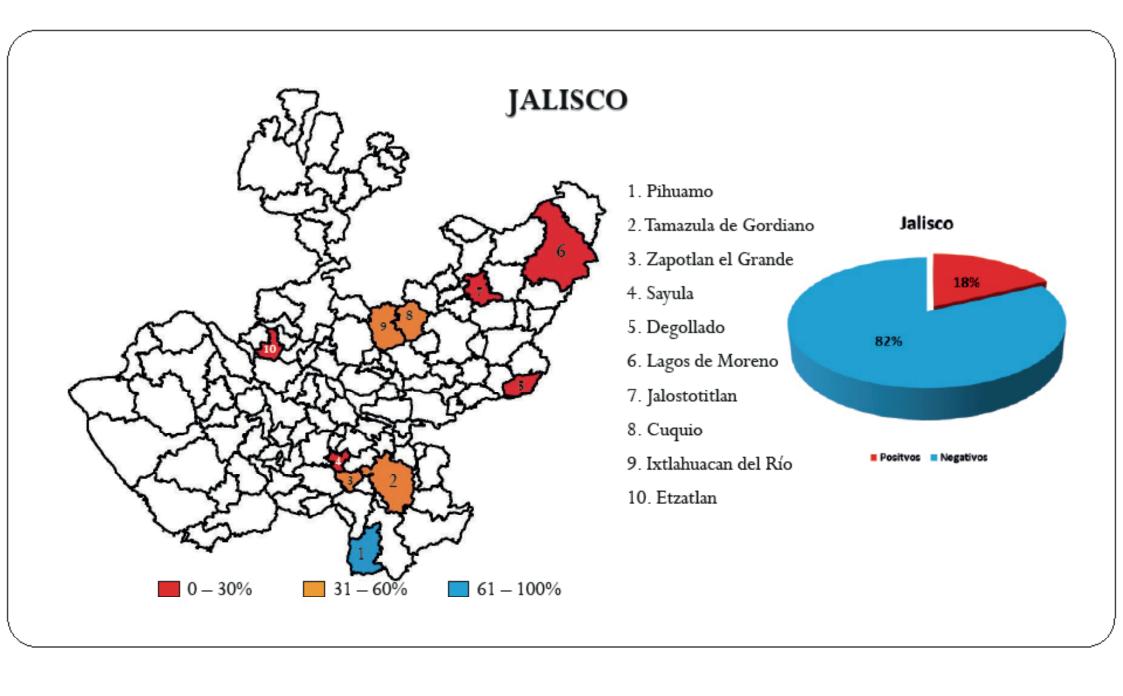
## SEROPREVALENCIA DE PEDV EN ESTADOS DE LA REGIÓN CENTRO-BAJÍO DE LA REPÚBLICA MEXICANA

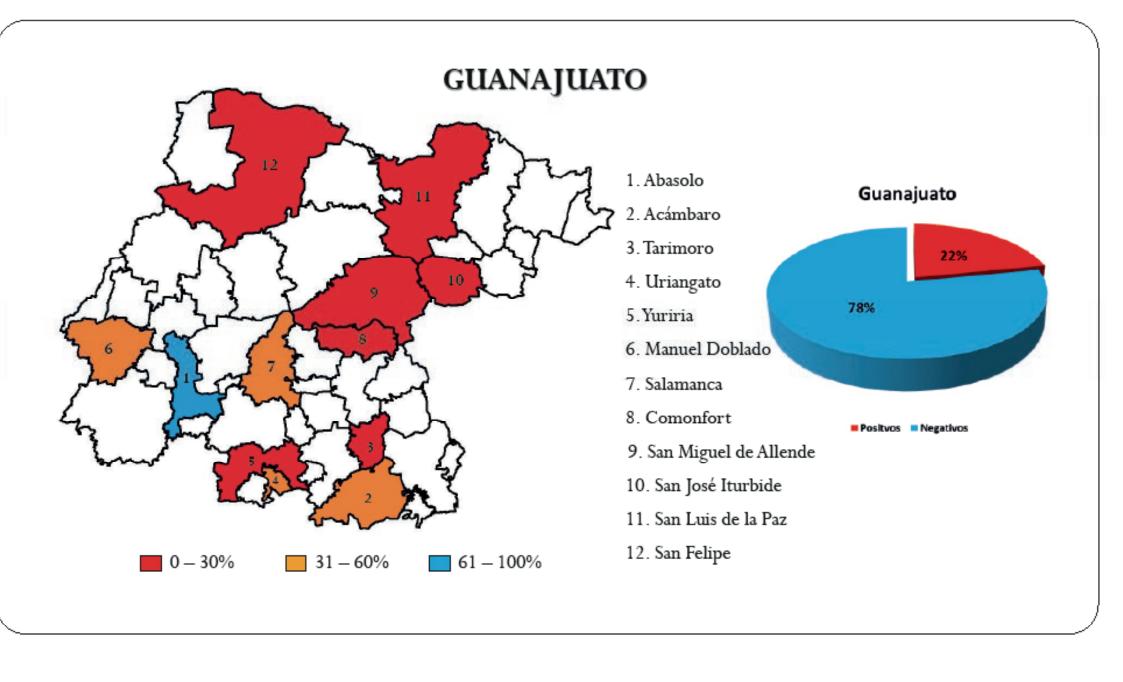


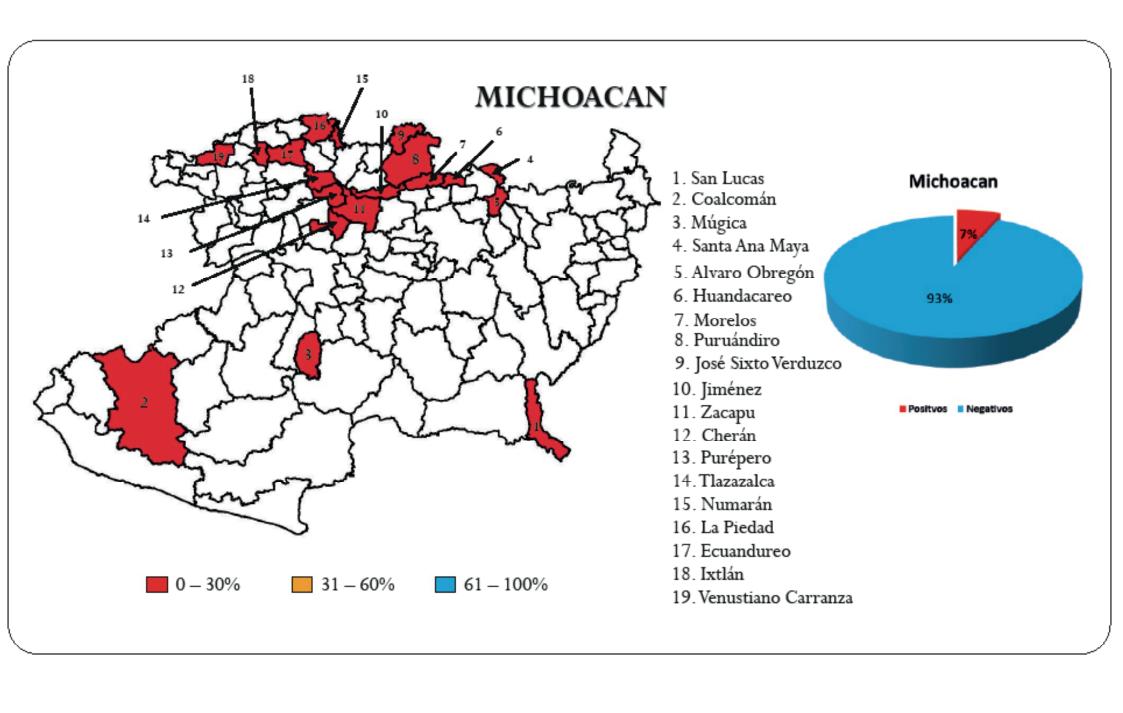
### SEROPREVALENCIA DE PEDV EN ESTADOS DE LA REGIÓN CENTRO-BAJÍO DE LA REPÚBLICA MEXICANA

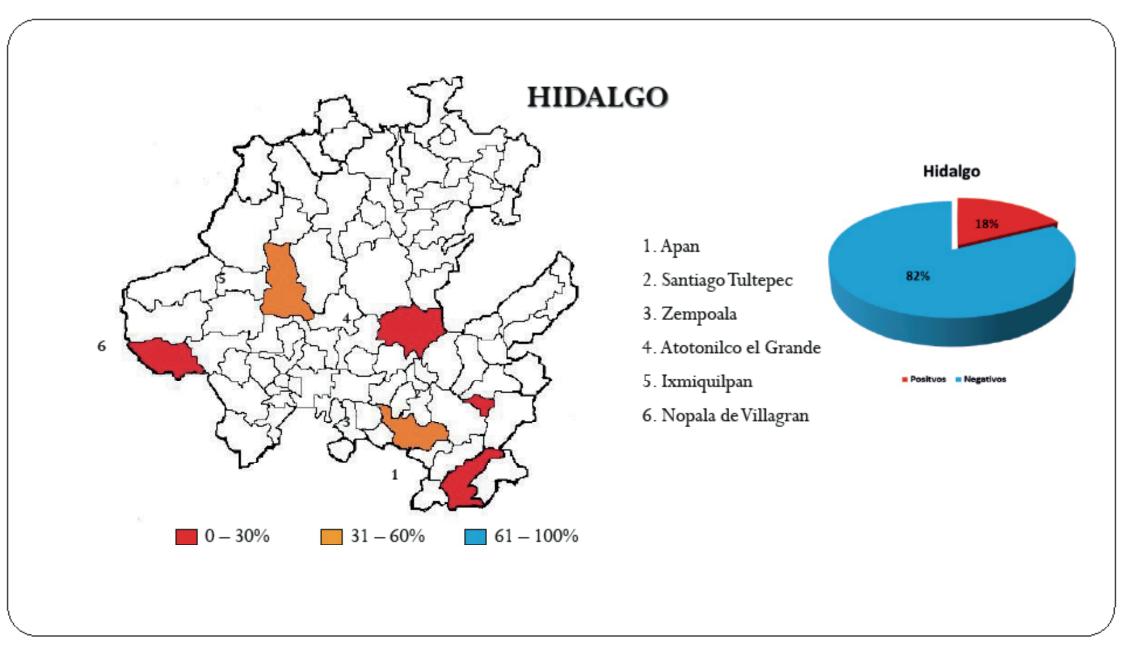
Estado	Municipios	No. De Granjas	No. Muestras
Jalisco*	11	31	920
Guanajuato*	13	31	934
Michoacán*	19	31	930
Puebla*	14	22	654
Hidalgo*	6	11	324
Estado de México*	7	8	238
6	70	134	4000

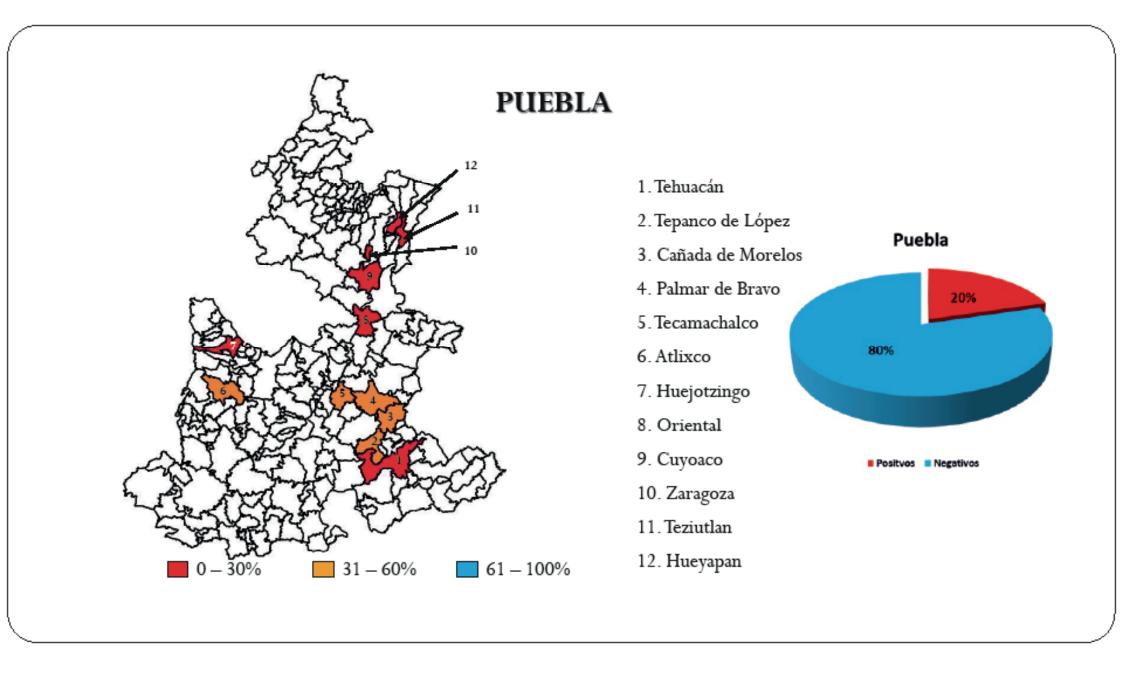
<sup>\*</sup> Diagnóstico de IgA



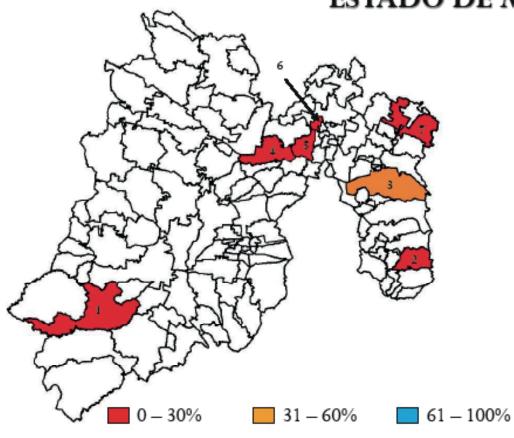








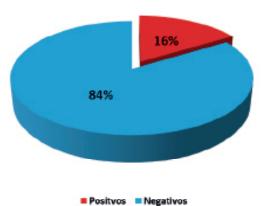
#### ESTADO DE MÉXICO





- 2. Amecameca
- 3. Texcoco
- 4. Nicolás Romero
- 5. Cuautitlan Izcalli
- 6. Teoloyucan
- 7. Axapusco

#### Estádo de México



# PRUEBAS DIAGNÓSTICAS "DISPONIBLES"

#### Pruebas de Laboratorio para el Diagnostico de Coronavirus Porcinos

	Aislamiento Viral	Inmunohistoquímica	ELISA		Reconocimiento de Ácidos Nucleicos	
	7.2.42		Detección de Antigeno Vírico	Serología (Subtipos de Ab)	PCR (Cualitativo)	Real Time- PCR (Cuantitativo)
PEDV (Diarrea Epidémica Porcina)	Heces, Intestino (Colon, ciego. Íleon. Yeyuno)	Intestino Delgado	Heces (Antigeno)	Calostro (IgA) Suero (IgG)	Heces, ID, CI, FO (Genes S, M, N)	Heces, ID, CI, FO (Genes S, M, N)
TGEV (Gastroenteritis Transmisible Porcina)	Heces, Intestino	Intestino Delgado (Proteína S del virus)	Heces (Antigeno)	Suero (IgG)	Heces, CI	Heces, CI
PDCoV (Delta Coronavirus Porcino)	Heces, Intestino  (Colon, ciego. Íleon. Yeyuno)	Intestino Delgado			Heces, CI, FO, ID (Gen M)	Heces, CI, FO, ID (UTR 3')

ID. Intestino Delgado; CI. Contenidos Intestinales; FO. Fluidos Orales

#### Correcto manejo de muestras para Dx de Enteritis Porcinas

Tipo de Muestra	Inmunoflorescencia	PCR / RealTime PCR
Heces	10 ml como mínimo	10 ml como mínimo
Colon y Ciego	<ul> <li>Órgano fresco.</li> <li>Porciones de 1cm fijados en formalina</li> </ul>	Órgano fresco, CI
ileon	<ul> <li>Segmentos de 10 – 15cm frescos</li> <li>Tres porciones de 1 cm fijadas en formalina</li> </ul>	Segmentos de 10 – 15cm frescos, CI
Yeyuno	<ul> <li>Segmentos de 10-15cm frescos.</li> <li>Tres porciones de 1cm fijadas en formalina</li> </ul>	Segmentos de 10-15cm frescos, CI

#### Técnicas de Muestreo

- Las muestras deben ser tomadas lo mas pronto posible después de la muerte (en minutos).
- El intestino NO requiere estar atado de los extremos.
- Enjuagar los segmentos intestinales para examen histopatológico con formalina y colocar en fijador o de ser posible, por los extremos y con mucho cuidado, abrir a la mitad los segmentos (con tijera limpia) para exponer la mucosa y sumergirla en el fijador
- Colocar en una bolsa todos los tejidos fijados en formalina por cerdo
- El intestino fresco debe ser empaquetado en una bolsa por separadas de los demás tejidos. <u>Enfriar los tejidos antes de enviarlos</u> <u>a laboratorio</u>. NO CONGELAR

Formalina al 10%

¡La mejor muestra es aquella colectada de cerdos vivos no tratados que presenten enfermedad aguda !

\*Muestras sirven para Dx de Enteritis causada por Virus, Bacterias y Parásitos

#### Diagnóstico Serológico para PED

Nombre Comercial KIT	Laboratorio	¿Qué detecta?	Tipo de Muestra	Tipo de Prueba	Caract. Del Kit
PED IgA Ab ELISA	BIONET	IgA	Calostro	ELISA Cuantitativo	Frace, Ag PEDv
Rapid PEDAg	BIONET	Antígeno	Heces, Contenido Intestinal	ELISA Prueba Rápida (Campo)	
Swinecheck	BIOVET	IgG	Suero	ELISA Cualitativo	Nucleoproteína
EDVA ELISA Kit*	MyBioSource	IgG	Suero, Plasma, Tejido Homogenizado, Sobrenadante de Cultivos Celulares, Otros fluidos biológicos	ELISA Cualitativo	

Los Ab en suero pueden detectarse desde los 7 a 14 días posteriores a la exposición

<sup>\*</sup> Para investigación

### Diagnóstico Molecular para PED

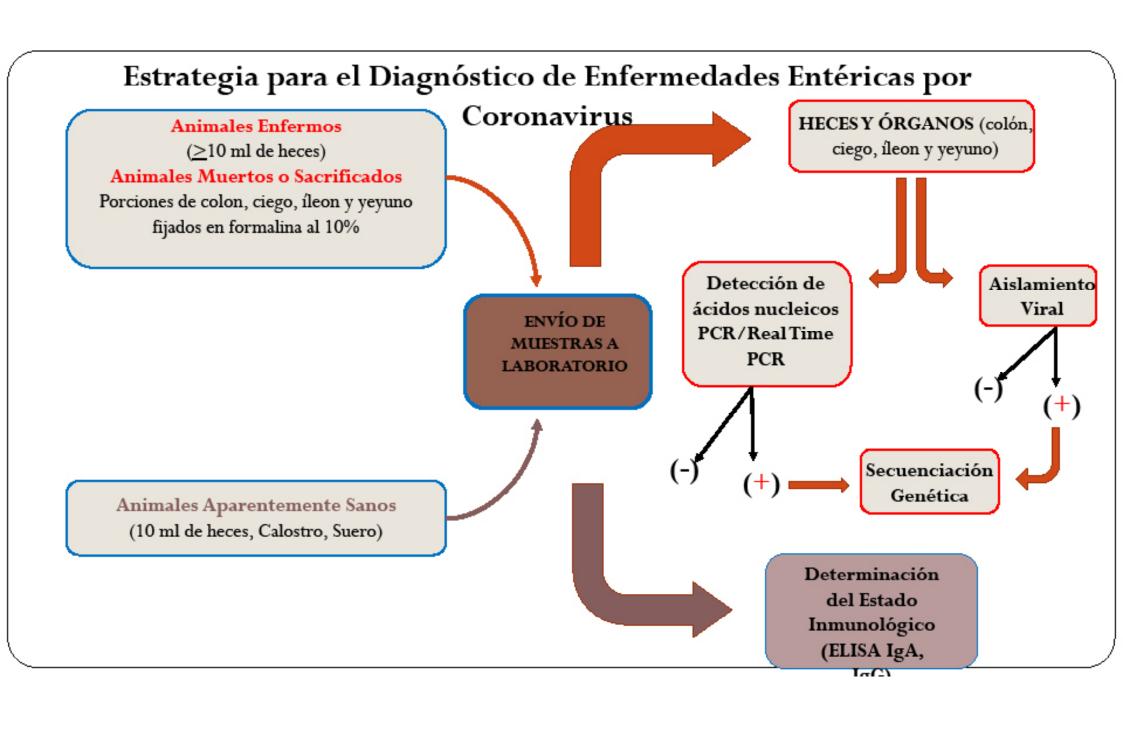
Nombre Comercial KIT	Laboratorio	¿Qué detecta?	Tipo de Muestra	Tipo de Prueba	Caract. Del Kit
VetPCR PEDV Kit	Bioingentech	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	PCR	
Genesig Standard Kit	Primerdesign	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	Gen M
ViroReal Kit PEDV	Ingenetix	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	Nucleocápside
RealPCR DEP RNA	IDEXX	RNA Viral	Fluidos Orales, Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	

### Pruebas de Diagnóstico para GET

Nombre Comercial KIT	Laboratorio	¿Qué detecta?	Tipo de Muestra	Tipo de Prueba	Caract. Del Kit
Swinecheck TGEV	Biovet	IgG	Suero	ELISA Cualitativo	Proteína S
Rapid TGEAg	BIONET	Antígeno	Heces, Contenido Intestinal	ELISA Prueba Rápida (Campo)	
ELISA SVANOVIR TGEV	Boehringer	IgG	Suero	ELISA Bloqueo (Competitivo)	
RealPCR TGEV RNA	IDEXX	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	

### Pruebas de Diagnóstico Molecular para PDCoV

Nombre Comercial KIT	Laboratorio	¿Qué detecta?	Tipo de Muestra	Tipo de Prueba	Caract. Del Kit
ViroReal SDCV	Ingenetrix	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	3'UTR de Delta Coronavirus
POCKIT PDC <sub>o</sub> V	GeneReach	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	PCR punto final	Gene M
RealPCR PDCoV RNA	IDEXX	RNA Viral	Heces, Contenidos Intestinales	Real-Time PCR	



#### Granjas de Maternidad

¿Madres o lechones con diarrea?

SI - Diagnóstico diferencial Virus PED

Hato reproductor: colectar heces de lechones o madres agudamente afectadas con diarrea

Mínimo: 3 Pool de heces para PCR: Cada Pool fecal compuesto de 5 cerdos diarreicos de diferentes camadas o ubicaciones

<u>Opcional:</u> Envió a laboratorio tejidos de cerdo, junto con muestras de fosas de fermentación

NO o no mucha → El Dx de "PED positivo" puede ser difícil de realizar

Hato reproductor: Colectar heces de cualquier cerdo con diarrea y de cerdos viejos con heces blandas

Mínimo: 3 Pool de heces:

Cada Pool compuesto de 5 muestras de diferentes camadas y salas de parto <u>Opcional (recomendable):</u> Suero de al menos 10 madres para serología Granjas Engorda

¿Los Cerdos presentan Diarrea?

SI 

Diagnóstico diferencial Virus PED

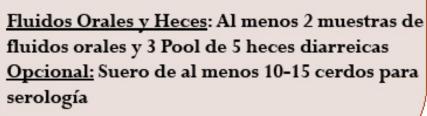
Destetados, Crecimiento, Finalizados

<u>Fluidos Orales y Heces</u>: Al menos 2 muestras de fluidos orales y 3 Pool de 5 heces diarreicas

Opcional: Enviar a laboratorio tejidos de cerdos

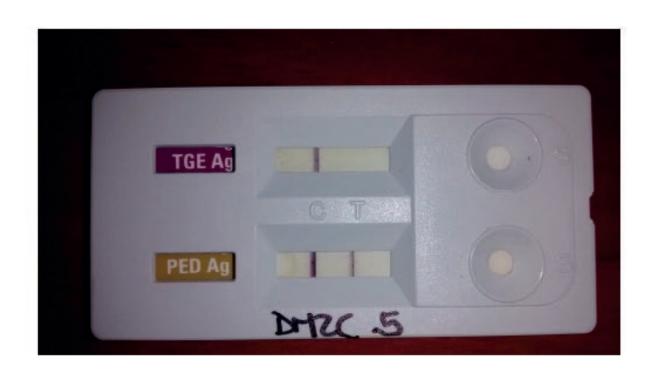
No o no mucha El virus de PED puede ser endémico/ Crónico o difícil de detectar

Destetados, Crecimiento, Finalizados

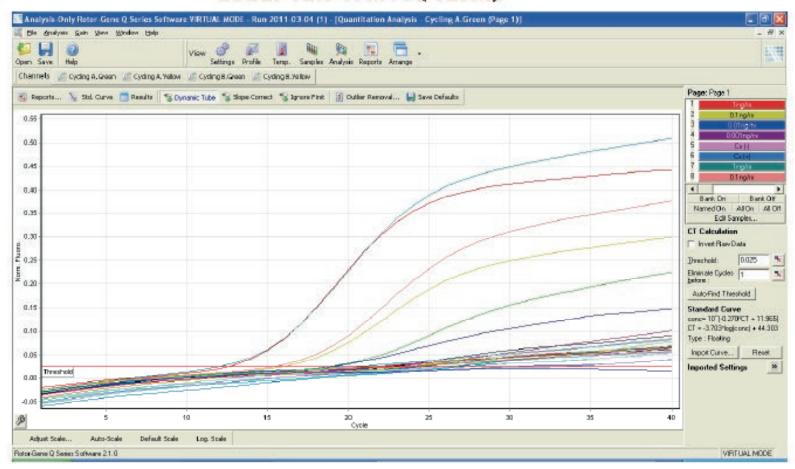




#### PRUEBA RÁPIDA SENSIBILIDAD BAJA (100,000 PV) ESPECIFICIDAD (>90%)



#### PCRTIEMPO REAL SENSIBILIDAD ALTA (>95% PV) ESPECIFICIDAD (>95%)



Valor CT
15
20
28
30
32
34
38

#### CONCLUSIONES

- 1.- ELISA (IgA)
- 2.- PCR (Anidado o tiempo real)
- 3.- La cromatografía solo usarla en lechones con diarrea.
- 4.- Es necesario usar PCR tiempo real para detectar la concentración.
- ¿Con cuanto virus estoy inmunizando (FB)?
- Las muestras de la granja evaluada, fueron positivas, excepto la orina y el vómito de una hembra gestante.
- 6. La secuenciación permite identificar si existe alguna variante viral en la granja.
- Urge el ingreso de KITS para las enfermedades entéricas generadas por coronavirus.



### Diarrea Epidémica Porcina



### "Conversatorio sobre Coronavirus Digestivos Porcinos"

Síndrome Diarreico Asociado a la presencia de Coronavirus



### Diagnóstico en México

MVZ, MM, Cert. Jesús Horacio Lara Puente horacio.lara@avimex.com.mx









Debido al incremento en el último siglo de la producción porcina enfocada a la producción de carne, el diagnóstico rápido y certero de sus enfermedades se ha integrado a la línea de producción; esto enfocado a la economía global y a la seguridad del consumidor final.

### Diarrea Epidémica Porcina



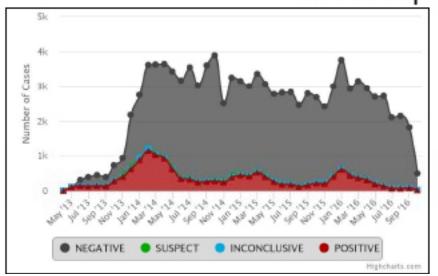
Matt Billman/DeviantArt

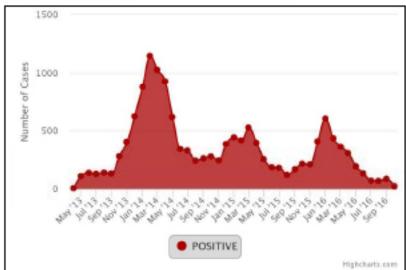
# ¡2013...2014...2015...2016...!

#### Situación en EUA



### Diarrea Epidémica Porcina





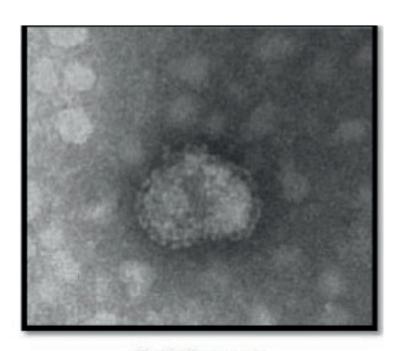
#### Deltacoronavirus



#### El virus



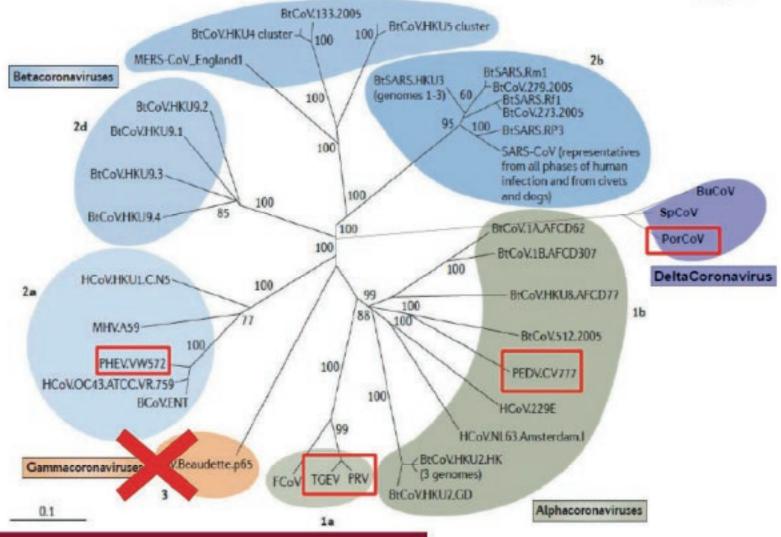
- Virus envuelto
- RNA SS +
- 7 ORFs
- 4 proteínas estructurales
  - Spike (S1/S2)
  - Membrana
  - Envoltura
  - Nucleoproteína



Dr. E. Burrough

#### El virus





Graham Rt., et al. Nat Rev Microbiol. 2013 Dec;11(12):836-48. doi: 10.1038/nrmicro3143. Epub 2013 Nov 11. Review. PubMed PMID: 24217413.

PEDV Diagnostics and Immunity SECD International Meeting September 25th, 2014

### Patogénesis



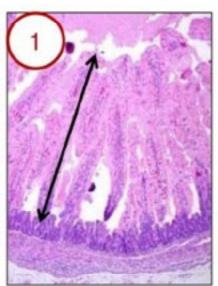
Edad	Morbilidad %	Mortalidad %		
≤ 7 días	100	100		
8 – 14 días	50 – 100	50		
15 – 21 días	40 – 100	20		
Destete	50 – 100	*		
Crecimiento/Finalización	50 – 100	*		
Píe de Cría	50 – 100	*		

La  $DMI_{50\%}$  para lechones de 5 días es de entre  $5.6x10^2 - 5.6x10^{-2}$  en un inoculo de 10 mL, pero es altamente edad dependiente.

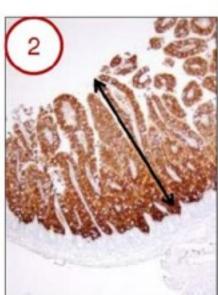
### Patogénesis

# 7

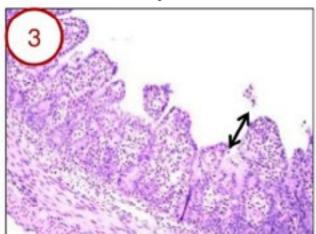
#### Histopatología/Inmunohistoquímica



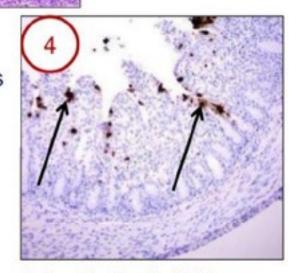
Neonatal normal Vellosidades intestinales sanas



Infección temprana (8 horas PD) IPx



Infección tardía(36 horas PD) Atrofia severa de vellosidades y pérdida de epitelio absorbente.



Infección tardía(36 horas PD) pocas células infectadas (Ipx)

Schwartz, Madson, Magstad; et al.



El diagnóstico de cualquier enfermedad, requiere de una estrecha cooperación entre el <u>Médico</u> <u>Veterinario</u> de la granja y el <u>Profesional</u> del laboratorio de diagnóstico.

- Manifestaciones clínicas (Diagnóstico clínico).
- Lesiones características de la enfermedad (Diagnóstico anatomopatológico).
- Evidencias del patógeno (Diagnóstico de laboratorio).
- La experiencia y criterio de los involucrados en el proceso del diagnóstico.

### Diagnóstico



La detección del agente etiológico puede realizarse por medio de diferentes maneras como:

- Histopatología/Inmunohistoquímica.
- Inmunofluorescencia directa.
- Aislamiento viral.
- Detección molecular (PCR)
  - Secuenciación
- ELISA/IPX
  - IgA
  - IgG



















































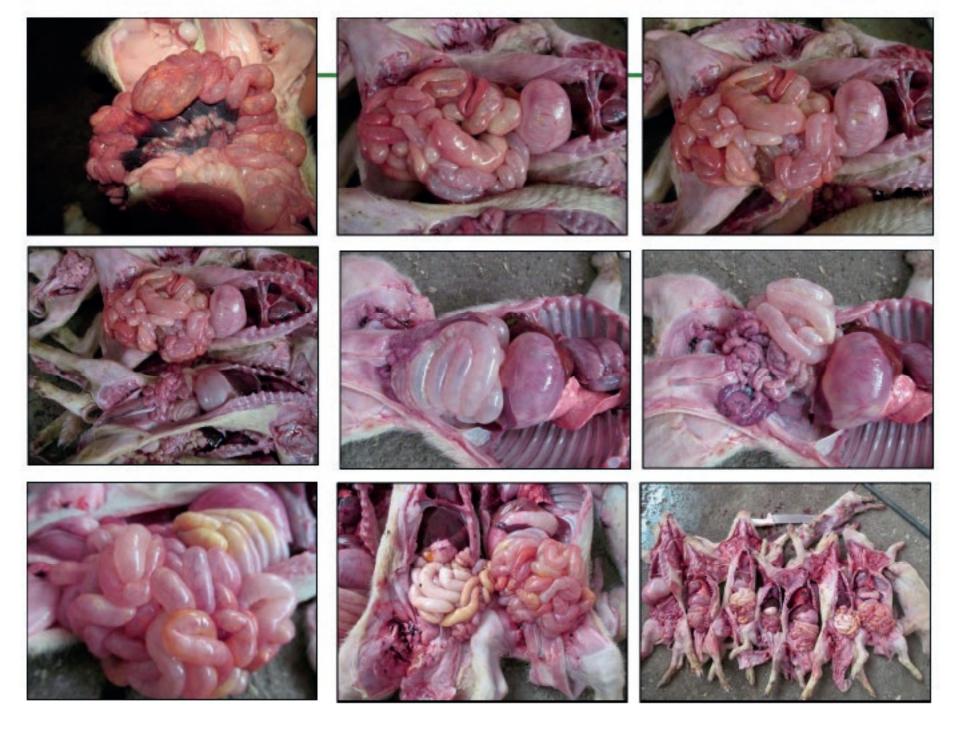


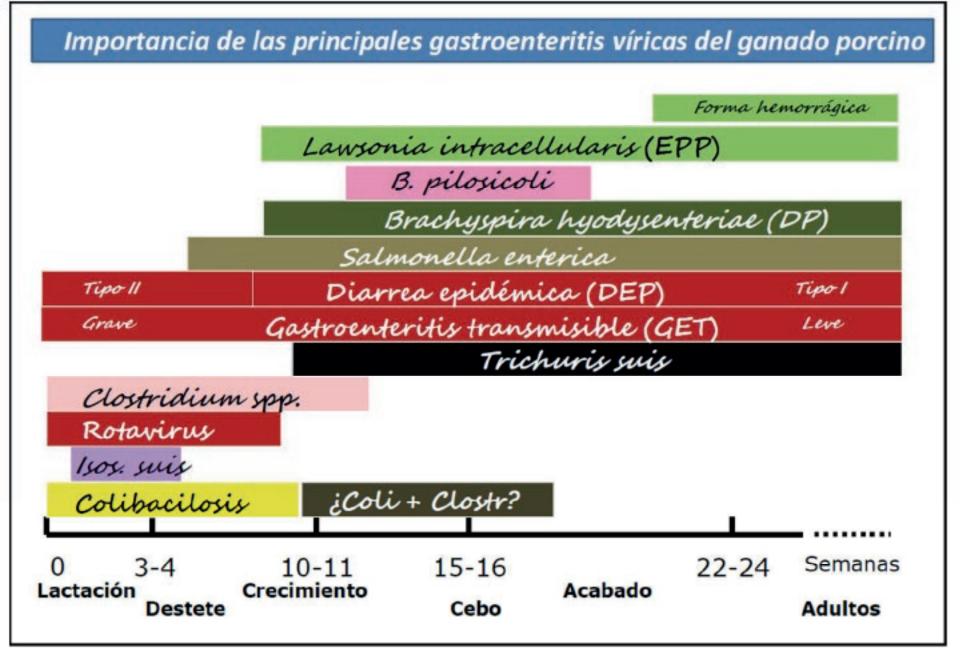










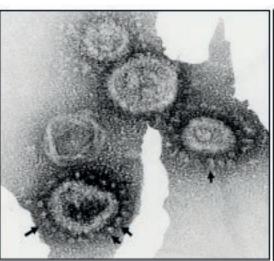


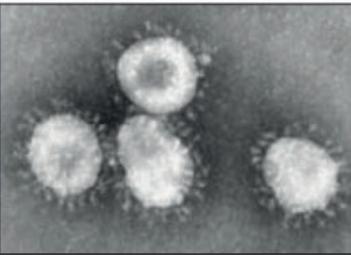
Adaptado de Patología Porcina Digestiva Asociada a virus. Carvajal 2012

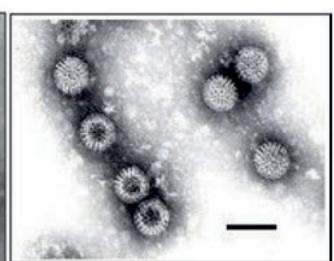


### Problema gastroentérico de posible origen viral

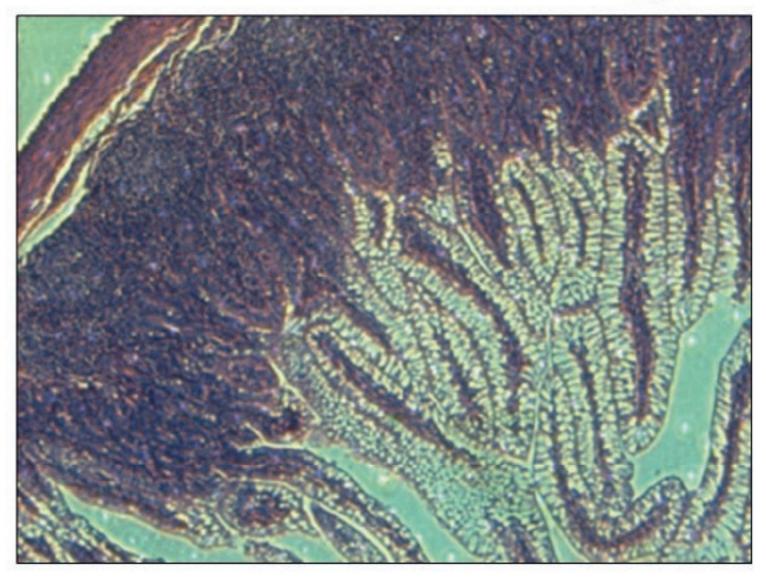
- Gastroenteritis Transmisible del Cerdo
- 2. Rotavirosis
- 3. Diarrea Epidémica Porcina
- 4. Deltacoronavirus







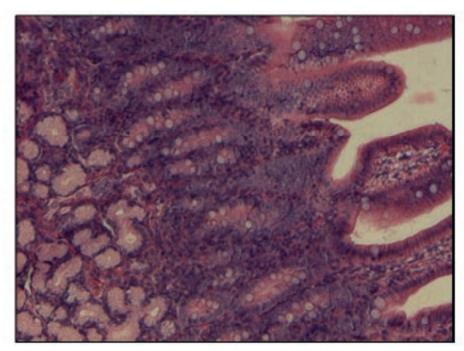






Lesiones preponderantes: acortamiento de vellosidades, Infiltración linfocitaria.











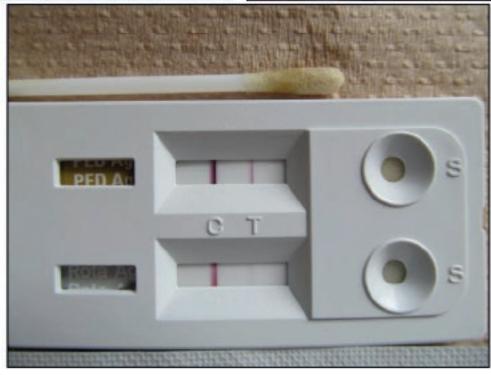
















#### Prueba tamiz

Alta especificidad Sensibilidad (+) >10<sup>5.0</sup>

Se pueden presentar FALSOS NEGATIVOS Si no hacemos una correcta interpretación del resultado/prueba

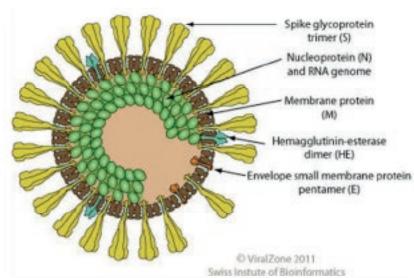


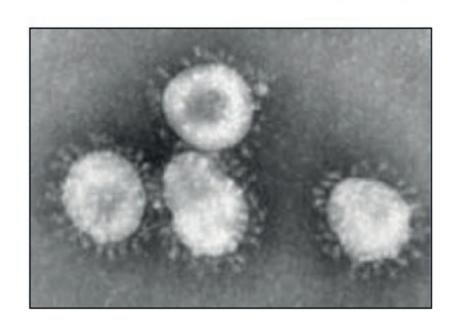
### RT-PCR DEP

- Punto final
  - "S", S1 y S2
  - "N"
  - "M"

### RT-PCRtrq DEP

- "N"
  - Ct
  - tro







		Carga Viral pv/mL*	Ct
1	Identificación: Cuarentena Pool 1	5.88 x 10 <sup>4</sup>	34.0
2	Identificación: Cuarentena Pool 2	5.61 x 10 <sup>4</sup>	34.1
3	Identificación: Cuarentena Pool 3	9.37 x 10 <sup>6</sup>	25.0
4	Identificación: Cuarentena Pool 4	2.51 x 10 <sup>8</sup>	19.2
5	Identificación: Cuarentena Pool 5	4.46 x 10 <sup>4</sup>	34.5
1	Identificación: Pool 1 Hembras	2.21 x 10 <sup>5</sup>	31.7
2	Identificación: Pool 2 Hembras	2.15 x 10 <sup>5</sup>	31.7
3	Identificación: Pool 3 Hembras	1.51 x 10 <sup>5</sup>	32.3
4	Identificación: Pool 4 Hembras	1.83 x 10 <sup>5</sup>	32.0
5	Identificación: Pool 5 Hembras	2.94 x 10 <sup>5</sup>	31.2
6	Identificación: Pool 1 Lechones 13-15 días	3.61 x 10 <sup>5</sup>	30.8
7	Identificación: Pool 2 Lechones 13-15 días	9.59 x 10 <sup>9</sup>	12.8
8	Identificación: Pool 1 Lechones 16-20 días	3.33 x 10 <sup>8</sup>	18.7
9	Identificación: Pool 2 Lechones 16-20 días	1.85 x 10 <sup>9</sup>	15.7



Identificación: Diarrea 1	Negativo
Identificación: Diarrea 2	Negativo
Identificación: Diarrea 3	Negativo
Identificación: Hembras 1	Negativo
Identificación: Hembras 2	Negativo
Identificación: Diarrea 1	Negativo
Identificación: Diarrea 2	Negativo
Identificación: Hembras 1	Negativo
Identificación: Hembras 2	Negativo
Identificación: Diarrea 1	Negativo
Identificación: Diarrea 2	Negativo
Identificación: Diarrea 3	Negativo
Identificación: Hembras 1	Negativo
Identificación: Hembras 2	Negativo
Identificación: Diarrea 1	Negativo
Identificación: Diarrea 2	Negativo
Identificación: Diarrea 3	Negativo
Identificación: Hembras 1	Negativo
Identificación: Hembras 2	Negativo
Identificación: Hembras 3	Negativo
Identificación: Hembras 4	Negativo
Identificación: Hembras 5	Negativo
	Identificación: Diarrea 2 Identificación: Hembras 1 Identificación: Hembras 2 Identificación: Diarrea 1 Identificación: Diarrea 2 Identificación: Hembras 1 Identificación: Hembras 1 Identificación: Hembras 2 Identificación: Diarrea 1 Identificación: Diarrea 3 Identificación: Diarrea 3 Identificación: Hembras 1 Identificación: Hembras 2 Identificación: Diarrea 3 Identificación: Hembras 1 Identificación: Hembras 3 Identificación: Hembras 3 Identificación: Hembras 3 Identificación: Hembras 3 Identificación: Hembras 4



#### 18 de Octubre de 2016

1	Edad: 10 dias,Identificacion: Pool 7	5 Hisopos	5.43 x 10°
2	Edad: 8 días, Identificacion: Pool 10	5 Hisopos	1.08 x 10 <sup>11</sup>
3	Edad: 6 dias, Identificacion: Pool 11	5 Hisopos	6.83 x 10 <sup>11</sup>
4	Edad: 5 dias, Identificacion: Pool 12	5 Hisopos	3.46 x 10 <sup>11</sup>
5	Edad: 3 dias, Identificacion: Pool 13	5 Hisopos	3.89 x 10 <sup>12</sup>

#### 18 de Octubre de 2016

Identificacion: Intestino 3 días -
Identificacion: Intestino 5 días -
Identificacion: Intestino 5 días -
Identificacion: Intestino 3 días -
Identificacion: Intestino 2 días -
Identificacion: Intestino 2 días -

8 Intestinos	7.83 x 10 <sup>11</sup>
6 Intestinos	1.27 x 10 <sup>11</sup>
6 Intestinos	1.38 x 10 <sup>14</sup>
6 Intestinos	4.65 x 10 <sup>9</sup>
6 Intestinos	1.42 x 10 <sup>14</sup>
6 Intestinos	3.71 x 10 <sup>13</sup>

18 de Octubre de 2016



1	Identificacion: Sin Sala Piso 1	22 Toallitas de Limpieza	1.04 x 105
2	Identificacion: Sin Sala Piso 2	22 Toallitas de Limpieza	2.93 x 10 <sup>4</sup>
3	Identificacion: Sin Sala Piso 3,	22 Toallitas de Limpieza	7.43 x 10 <sup>3</sup>
4	Identificacion: Sin Sala Jaula 1.	22 Toallitas de Limpieza	5.86 x 10 <sup>4</sup>
5	Identificacion: Sin Sala Jaula 2	22 Toallitas de Limpieza	1.78 x 10°
6	Identificacion: Sin Sala Jaula 3.	22 Toallitas de Limpieza	2.87 x 10 <sup>4</sup>
7	Identificacion: Sala 6 Piso 1,	22 Toallitas de Limpieza	1.98 x 10 <sup>4</sup>
8	Identificacion: Sala 6 Piso 2	22 Toallitas de Limpieza	4.47 x 104
9	Identificacion: Sala 6 Piso 3,	22 Toallitas de Limpieza	4.88 x 10 <sup>4</sup>
10	Identificacion: Sala 6 Jaula 1.	22 Toallitas de Limpieza	5.82 x 10 <sup>4</sup>
11	Identificacion: Sala 6 Jaula 2	22 Toallitas de Limpieza	1.18 x 10 <sup>4</sup>
12	Identificacion: Sala 6 Jaula 3	22 Toallitas de Limpieza	2.13 x 10 <sup>4</sup>
13	Identificacion: Trailer 3 Prueba 1 Piso	22 Toallitas de Limpieza	2.61 x 10 <sup>4</sup>
14	Identificacion: Trailer 3 Prueba 1 Piso	22 Toallitas de Limpieza	1.10 x 10 <sup>4</sup>
15	Identificacion: Trailer 3 Prueba 1 Pared	22 Toallitas de Limpieza	1.11 × 10 <sup>4</sup>
16	Identificacion: Trailer 3 Prueba 1 Pared	22 Toallitas de Limpieza	Negativo
17	Identificacion: Trailer 3 Prueba 1 Chasis	22 Toallitas de Limpieza	8.01 x 10 <sup>3</sup>
18	Identificacion: Trailer 3 Prueba 2 Piso	22 Toallitas de Limpieza	Negativo
19	Identificacion: Trailer 3 Prueba 2 Piso	22 Toallitas de Limpieza	Negativo
20	Identificacion: Trailer 3 Prueba 2 Pared	22 Toallitas de Limpieza	2.18 x 10 <sup>4</sup>
21	Identificacion: Trailer 3 Prueba 2 Pared	22 Toallitas de Limpieza	1.38 x 10 <sup>4</sup>
22	Identificacion: Trailer 3 Prueba 2 Chasis	22 Toallitas de Limpieza	3.49 x 10 <sup>3</sup>



#### 4 de Noviembre de 2016

1	Identificacion: Agua de Laguna 1,	6 Agua	5.44 x 10 <sup>4</sup>
2	Identificacion: Agua de Laguna 2,	6 Agua	4.35 x 10 <sup>4</sup>
3	Identificacion: Agua de Laguna 3,	6 Agua	2.28 x 10 <sup>4</sup>
4	Identificacion: Agua de Biodigestor 1,	6 Agua	Negativo
5	Identificacion: Agua de Biodigestor 2,	6 Agua	2.62 x 10 <sup>4</sup>
6	Identificacion: Agua de Biodigestor 3.	6 Agua	Negativo



Se utilizó parte de la región S1 del vDEP.

Se realizó Blast para verificar que la región S1 amplificada y secuenciada, correspondía al vDEP.

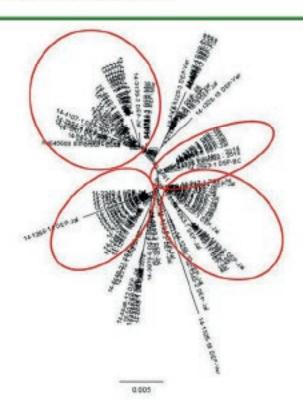
Porcentajes Genéticos con relación a datos de Blast.

Análisis de 98 virus presentes del 2013 a 2015.

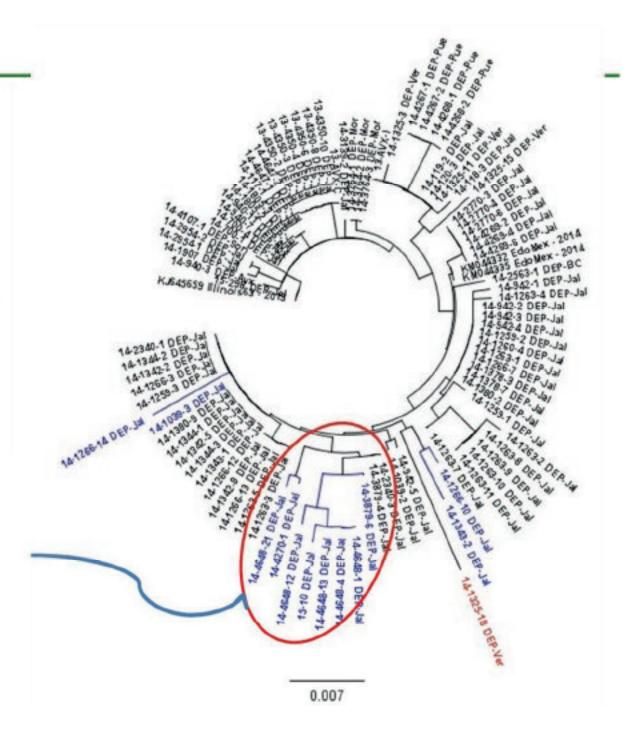
### Blast

Description	Max score	Total score	Query	E value	Ident	Accession
Porcine epidemic diarrhea virus strain USA/Indiana/17846/2013, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF452323.1
Porcine epidemic diarrhea virus strain USA/Iowa/16465/2013, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF452322.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate USA/lowa/18984/2013, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF804028.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate ISU13-19338E-IN-passage9, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF650372.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate ISU13-19338E-IN-passage3, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF650371.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate ISU13-19338E-IN-homogenate, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF650370.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate IA2, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF488754.1
Porcine epidemic diarrhea virus isolate IA1, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF468753.1
Porcine epidemic diarrhea virus strain USA/Colorado/2013, complete genome	1256	1256	100%	0.0	99%	KF272920.1

### Distribución



Ultimas muestras positivas secuenciadas, presentando el 1.5% de diferencia genética con los demás.







# Epidemiología Molecular de la Diarrea Epidémica Porcina (DEP) en México 2014 - 2015

Echeveste G. de A. R., Quezada M. F., Cortes F. R., Lozano D. B., Sarfati M. D., Soto P. E., Lara P., J. H. Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V. (Avimex®)



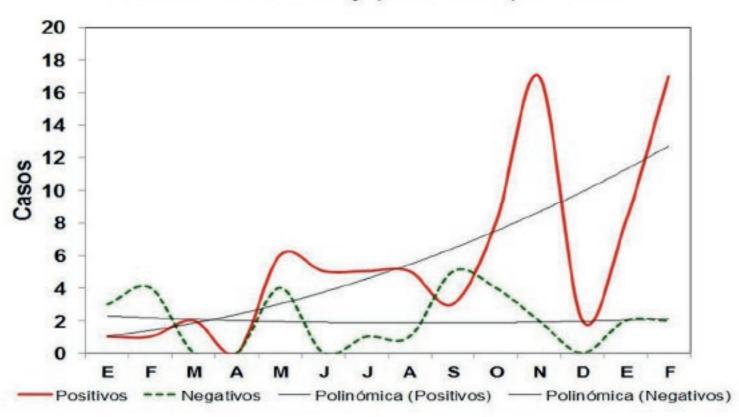
#### Distribución



1.- Se encontró una prevalencia del 37.65% de resultados positivos a la detección del vDEP en las 1,094 muestras analizadas.

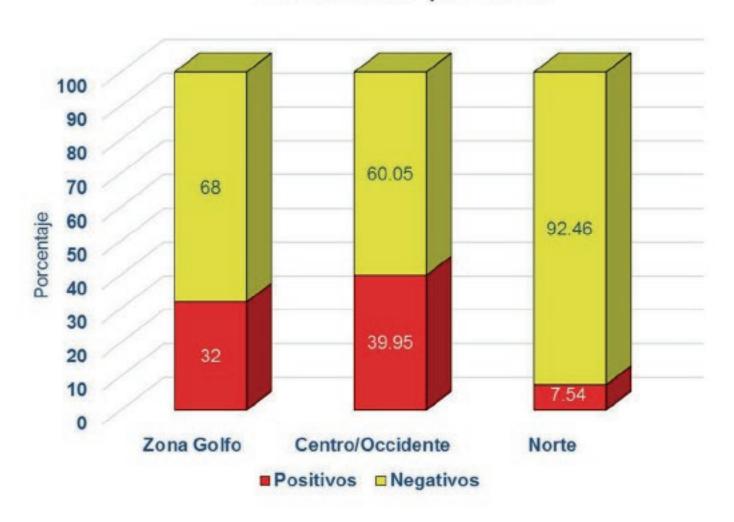


## Casos remitidos y positivos por mes





## Prevalencia por zona







# Análisis genético del virus de la Diarrea Epidémica Porcina (PED) en México 2013 - 2015

Echeveste G. de A. R., Quezada M. F., Cortés F. R., Lozano D. B., Sarfati M. D., Soto P. E., Lara P., J. H. Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V. (Avimex®)



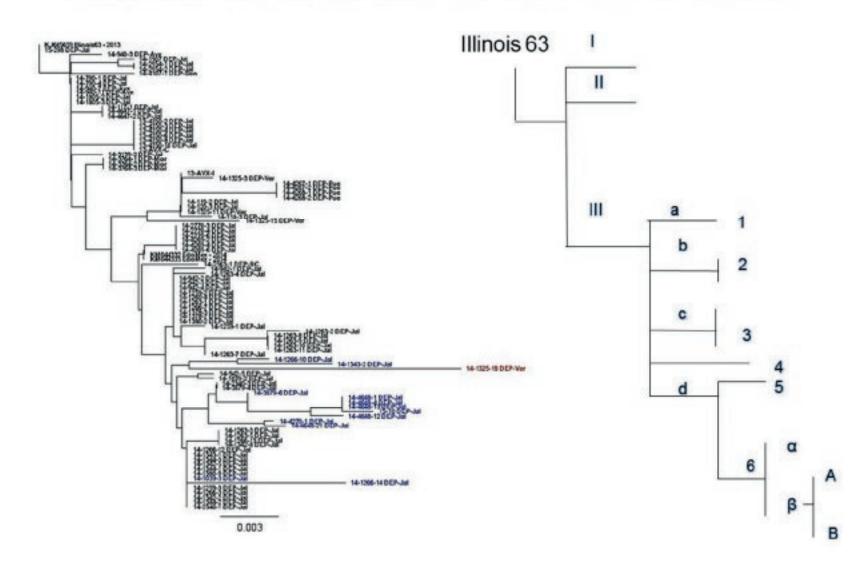
#### Distribución



- 98 Secuencias de casos positivos; región S1
- 6 estados de la República Mexicana
  - Sonora
  - Jalisco
  - Puebla
  - Veracruz
  - Estado de México
  - Morelos
- 2013 2015
- Vector NTI ver. 11.0

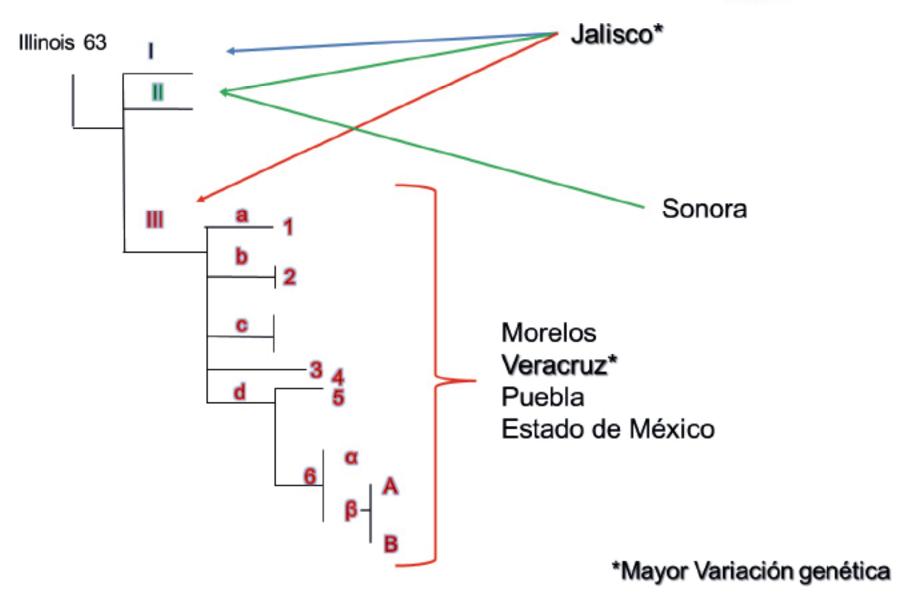


#### Esquema 1, Dendograma del virus PED en México



#### Distribución





#### Distribución



- 1.- La secuencia de una muestra proveniente de Jalisco tiene un 100% de homología genética con el VDEP "Illinois 63, 2013".
- Se determinó que las 98 secuencias analizadas presentan una alta homología genética (98.5%) entre ellas.
- 3.- Pese a que en el 2015 se encontraron ya secuencias con un 1.5% de variación genética no se ha detectado variación antigénica.

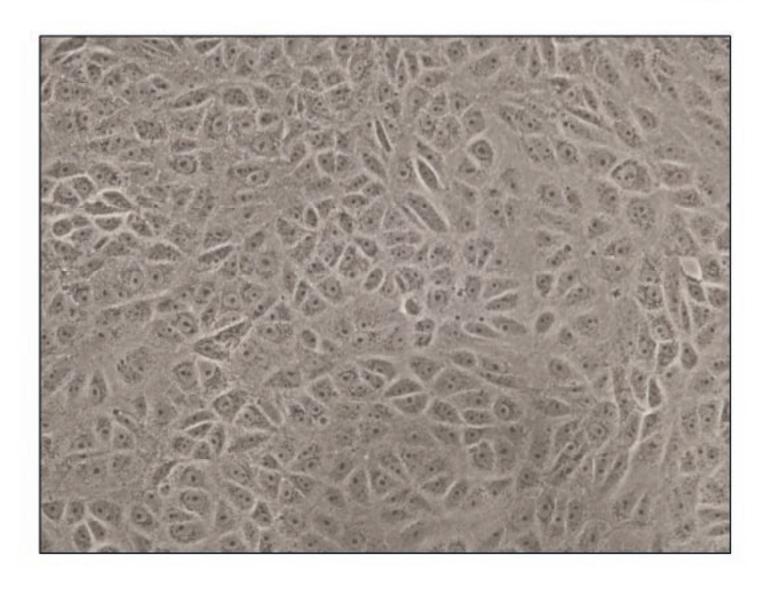
#### Aislamiento viral



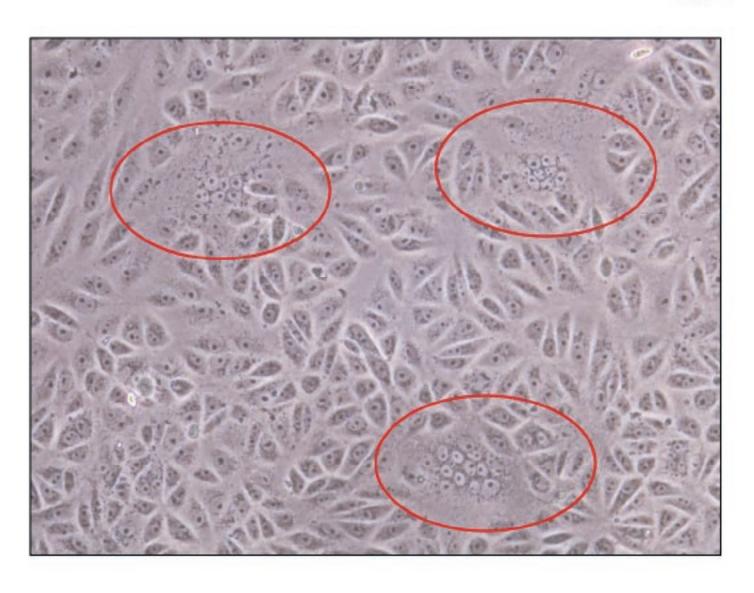
- No es sencillo y es tardado
- Las muestras deben de ser impecables
- Existen varios sustratos biológicos donde se puede replicar el virus: "VERO + tripsina"
- Produce un claro ECP no diferenciable de GET
- Es necesario confirmar la identidad por medio de:

- IPX
- IF
- RT-PCR

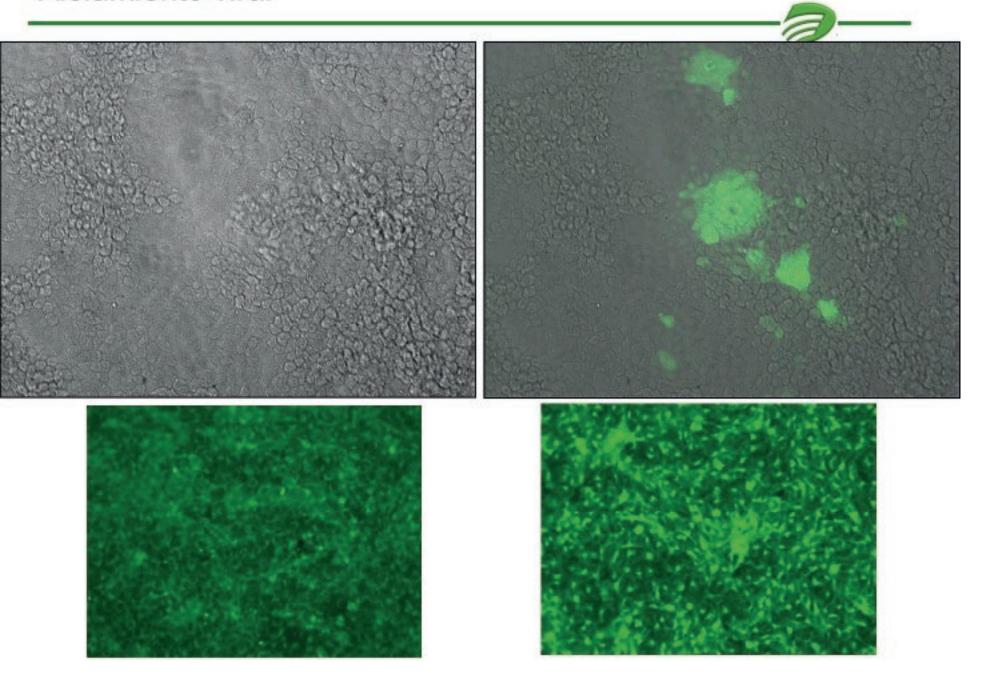








# Aislamiento viral

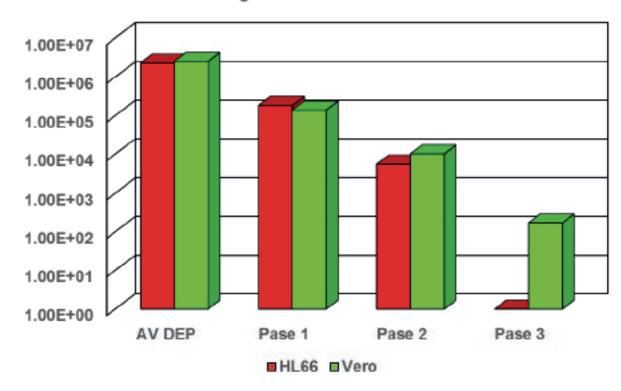




Identificación	Pases	ciegos	Pases titulados			
Identificación	1er. 2do.		3er.	4to.		
AV "A"	-	-	8.5 x 10 <sup>5.0</sup>	1.02 x 10 <sup>5.0</sup>		
AV "B"	-	-	6.9 x 10 <sup>3.0</sup>	Positivo		



Cargas virales Virus DEP





#### Material/Método

19 lechones SPF de entre 48 y 72 horas de nacidos divididos en 2 grupos, A ( 9 lechones) y B (10 lechones).

#### Inóculo:

- A) Cultivo celular infectado con el vPED (AV CC FQ)
- B) Cultivo celular infectado con vPED (AV CC 2FQ)

Se administraron 2.0 mL de este material a cada lechón vía oral.



#### Resultados PCR punto final

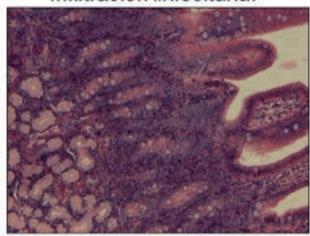
1	Identificación	Grupo A	24 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
2	Identificación	Grupo A	24 horas PD	Duodeno	POSITIVO
3	Identificación	Grupo A	24 horas PD	İleon	POSITIVO
4	Identificación	Grupo B	24 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
5	Identificación	Grupo B	24 horas PD	Duodeno	POSITIVO
6	Identificación	Grupo B	24 horas PD	İleon	POSITIVO
7	Identificación	Grupo A	48 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
8	Identificación	Grupo A	48 horas PD	Duodeno	POSITIVO
9	Identificación	Grupo A	48 horas PD	İleon	POSITIVO
10	Identificación	Grupo B	48 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
11	Identificación	Grupo B	48 horas PD	Duodeno	POSITIVO
12	Identificación	Grupo B	48 horas PD	İleon	POSITIVO
13	Identificación	Grupo A	72 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
14	Identificación	Grupo A	72 horas PD	Duodeno	POSITIVO
15	Identificación	Grupo A	72 horas PD	İleon	POSITIVO
16	Identificación	Grupo B	72 horas PD	Yeyuno	POSITIVO
17	Identificación	Grupo B	72 horas PD	Duodeno	POSITIVO
18	Identificación	Grupo B	72 horas PD	Íleon	POSITIVO

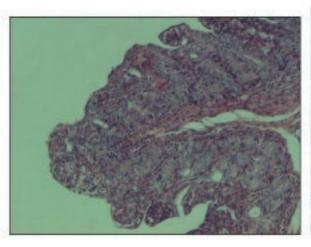


Histopatología 48 horas

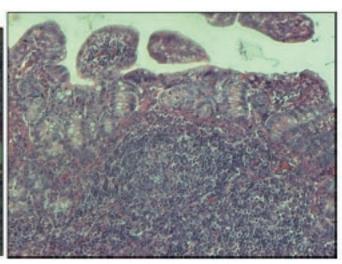


Lesiones preponderantes: acortamiento de vellosidades, Infiltración linfocitaria.











#### Evaluación Global

Cruno	Detección del antígeno		ción del echone		Sign	ologia	Clinica	100000	esiones opatolo		Dete	cción	PCR
Grupo	en inoculo ICFS	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
A	+/-	+	+	+	+	++	++	++	+	++	+	+	+
В	-/-	+	+	+	++	++	+++	+++	+	+	+	+	+

#### Serología



#### Porcine Epidemic Diarrhea Virus antibody test kit, ELISA

Biovet is proud to announce a NEW ELISA test kit for detecting antibodies to Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) is now available!

#### Major advantages of Swinecheck® PED indirect

• Excellent sensitivity • High specificity • First PEDV ab ELISA kit in America, Europe, and Australia

Kit components	Quantity	Storage temperature
6 strips of 16 wells coated with PEDV antigen	2	2-7°C
Ready-to-use positive control	2.5 mL	2-7°C
Ready-to-use negative control	2.5 mL	2-710
Concentrated conjugate A	100 pt.	-20°C
Concentrated conjugate B	500 µL	-20°C
Ready-to-use dilution buffer	300 mL	2-7°C
Concentrated wash solution (100)	2 x 200 mL	2-710
Ready-to-use substrate	25 mL	2-710
Ready-to-use stop solution	25 mL	2-7°C

The materials provided are sufficient for testing up 184 samples.

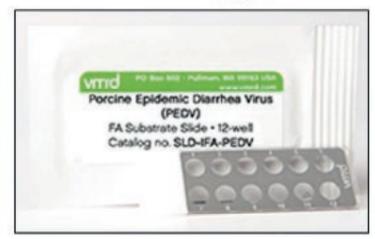
IMPORTANT: requires a permit from USDA in the US and a permit from CFIA in Canada.

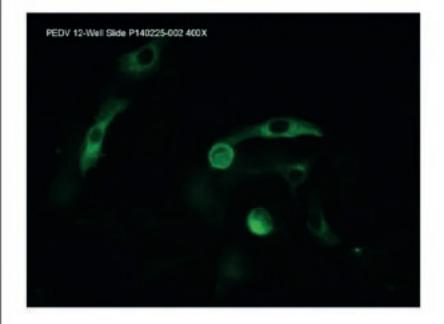
Please contact customer service for further information:

4375, av. Beaudry, Saint-Hyacinthe QC J25 BW2 Phone 450 771-7251 • Fax 450 771-4158

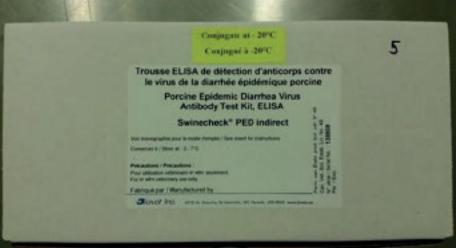








# Serología





Muestra.		PLACA S		Contract of	PLACAG	411111111111111111111111111111111111111	20.00	PLACA?	- transmission
1	0,276	0,47	Fostive	0,23	0,34	Negativo	0,191	0,23	Megative
3	0,211	0,29	Negativo	0,207	0,27	Negativo	0,197	0,25	Negativ
3	0,179	0,20	Regativo	0,231	0,34	Negativo	0,176	0.19	Megative
4	0,135	0,08	Negativo	0,113	0,01	Negativo	0,128	0,06	Megativ
5	0.114	0,02	Negativo	0.37	0,03	Negativo	0,107	0,00	Megative
6	0,18	0,06	Negativo	0,313	0,01	Negativo	0,096	-0,08	Megative
7	0,14	0.09	Megativo	0,124	0,04	Negativo	0,122	0,04	Magativ
8	0.114	0.02	Negativo	0.098	-0,03	Negativo	0,091	-0,05	Negative
9	0,128	0,06	Negativo	0,33	0,06	Negativo	0,106	-0,01	Negative
10	0.312	0,01	Negativo	0,098	-0,03	Negativo	0,102	-0,02	Negotto
22	1,345	2,87	Positive	1,037	2,57	Positivo	1,047	2,60	Positivo
12	2,066	5,42	Positivo	2,019	5,29	Positive	2,078	5,45	Positivo
13	1,048	2,60	Positive	0,733	1,73	Positivo	3,168	2,99	Positivo
14	0,895	2,18	Positive	0,848	2,05	Positivo	0.77	1,83	Positivo
15	1,969	5,12	Positive	1,711	4,44	Positivo	1,783	4,64	Positive
16	1,133	2,84	Positive .	1,077	2,68	Positivo	0,921	2,25	Positive
17	0,838	2,02	Positivo	0,614	1,40	Positivo	0.56	1,25	Positivo
38	1,095	2,73	Positivo	0,679	2,13	Positivo	0,645	1,49	Positive
. 19	0,515	1,18	Positive	0,455	0,96	Positivo	0,431	0.89	Pesitivo
20	0,689	1,61	Positive	0,681	1,59	Positivo	0,595	1,35	Pasitive
HL	0,11	0,01	Regativo	0,097	-0,03	Hegatiyo	0,091	-0,05	Megatiy
HŽ.	0,119	0,08	Negativo	0,0%	-0,09	Negativo	0,091	-0,05	Negativ
HII	0,018	-0,03	Negativo	0,09	-0,05	Negotivo	0,084	0,07	Megativ
1111	0,017	-0,03	Megativo	0,092	-0,04	Negativo	0,086	-0,06	Regatte
HS	0,112	0,01	flegativo.	0,087	-0,06	Negativo	0,087	-0,06	Negativ
CI	0,092	-0,04	Negativo	0,091	-0,05	Negativo	0,092	-0,04	Negativ
CZ	0,089	-0,05	Negativo	0,089	-0,05	Negativo.	0,087	-0,06	Negative
CI	0,084	-0,07	Negativo	0,088	-0,06	Negativo	0,176	0,19	Negative
C4	0,107	0,00	Negativo	0,091	-0,05	Negativo	0,099	-0,02	Hirgathy
CS	0,106	-0,01	Negativo	0,09	-0,05	Negativo	0,089	-0,05	Hegative
PREL	0,115	0,02	Negativo:	0,101	-0,01	Negativo	0,096	-0,03	Negative
PREZ	0,106	-0,05	Negativo	0,099	-0,02	Negativo	0,101	-0,02	Negetive
PRE3.	0.107	0,00	Megallyo	0,094	-0,04	Negativo	0,097	-0,03	Negative
PRE4	0,117	0,03	Negativo	0,097	-0,03	Negativo	0,103	-0,01	Negative
PRES	0.101	-0,02	Regativo	0,099	-0,02	Negativo	0,100	-0,02	Negative
PRES	0,1	-0,02	Negativo	0,095	-0,04	Negativo	0.094	-0,04	Hegativ

#### Serología

Se realizaron 3

con sueros con

repeticiones

resultado

conocido

ld Valor S/P Muestra

1	Negativo	0.47	0.34	0.23
2	Negativo	0.29	0.27	0.25
3	Negativo	0.2	0.34	0.19
4	Negativo	0.08	0.01	0.06
5	Negativo	0.02	0.03	0
6	Negativo	0.06	0.01	-0.03
7	Negativo	0.09	0.04	0.04
8	Negativo	0.02	-0.03	-0.05
9	Negativo	0.06	0.06	-0.01
10	Negativo	0.01	-0.03	-0.02
11	Positivo	2.87	2.57	2.6
12	Positivo	5.42	5.29	5.45
13	Positivo	2.6	1.73	2.93
14	Positivo	2.18	2.05	1.83
15	Positivo	5.12	4.44	4.64
16	Positivo	2.84	2.68	2.25
17	Positivo	2.02	1.4	1.25
18	Positivo	2.73	2.13	1.49
19	Positivo	1.18	0.96	0.89
20	Positivo	1.161	1.59	1.35
21	H1	0.01	-0.03	-0.05
22	H2	0.03	-0.03	-0.05
23	H3	-0.03	-0.05	-0.07
24	H4	-0.03	-0.04	-0.06
25	H5	0.01	-0.06	-0.06
26	C1	-0.04	-0.05	-0.04
27	C2	-0.05	-0.05	-0.06
28	C3	-0.07	-0.06	0.19
29	C4	0	-0.05	-0.02
30	C5	-0.01	-0.05	-0.05
31	PRE1	0.02	-0.01	-0.03
32	PRE2	-0.01	-0.02	-0.02
33	PRE3	0	-0.04	-0.03

0.03

-0.02

-0.02

-0.03

-0.02

-0.04

-0.01

-0.02

-0.04

PRE4

PRE5

PRE6

34

35

36





# Valores predictivos del kit

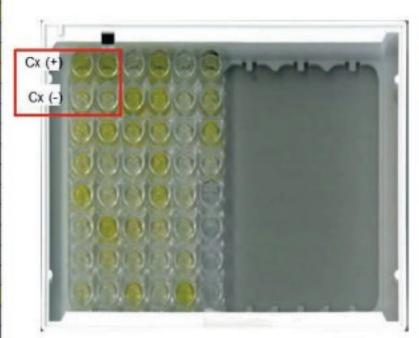
	V	F	
Р	30	0	30
N	77	1	78
	107	1	n = 108

Sensibilidad	100.00%
Especificidad	97.46%
VPP	96.77%
VPN	98.7%
Eficiencia	99.07%



# Sueros de campo

Muestra	OD	S/P	Resultado	Muestra	OD	S/P	Resultado
1	0.37	0.397	Negativo	21	1.012	1.570	Positivo
2	0.331	0.326	Negativo	22	0.694	0.989	Positivo
3	0.584	0.788	Positivo	23	0.306	0.280	Negativo
4	0.104	-0.089	Negativo	24	0.494	0.624	Positivo
5	0.108	-0.081	Negativo	25	0.43	0.507	Positivo
6	0.217	0.118	Negativo	26	0.224	0.131	Negativo
7	0.588	0.795	Positivo	27	0.103	-0.090	Negativo
8	0.138	-0.026	Negativo	28	0.147	-0.010	Negativo
9	0.169	0.030	Negativo	29	0.131	-0.039	Negativo
10	2.216	3.769	Positivo	30	0.147	-0.010	Negativo
11	0.22	0.123	Negativo	31	0.092	-0.111	Negativo
12	0.11	-0.078	Negativo	32	0.083	-0.127	Negativo
13	0.139	-0.025	Negativo	33	0.173	0.037	Negativo
14	2.338	3.992	Positivo	34	0.166	0.025	Negativo
15	0.29	0.251	Negativo	35	0.195	0.078	Negativo
16	0.087	-0.120	Negativo	36	1.179	1.875	Positivo
17	0.176	0.043	Negativo	37	0.278	0.229	Negativo
18	0.285	0.242	Negativo	38	0.329	0.322	Negativo
19	0.16	0.014	Negativo	39	0.462	0.565	Positivo
20	0.438	0.521	Positivo	40	0.105	-0.087	Negativo



Punto de corte: S/P > 0.4 es Positivo S/P < 0.4 es Negativo

# Diagnóstico integral



El diagnóstico de cualquier enfermedad, requiere de una estrecha cooperación entre el <u>Médico</u> <u>Veterinario</u> de la granja y el <u>Profesional</u> del laboratorio de diagnóstico.

- Manifestaciones clínicas (Diagnóstico clínico).
- Lesiones características de la enfermedad (Diagnóstico anatomopatológico).
- Evidencias del patógeno (Diagnóstico de laboratorio).
- 4. La experiencia y criterio de los involucrados en el proceso del diagnóstico.



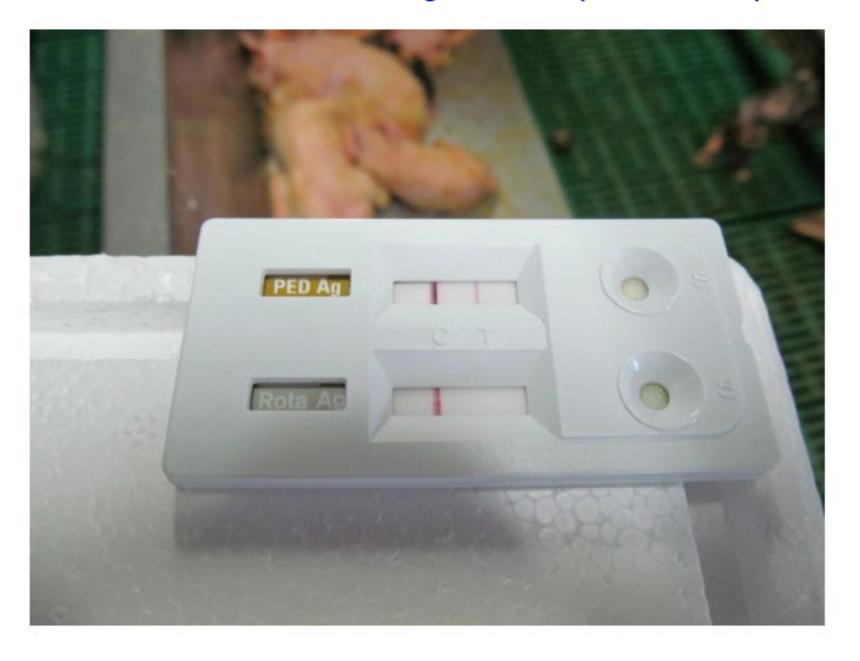
# "Los pasos para el control y prevención de DEP".

MVZ ALFREDO BECERRA FLORES

# Primer paso: Diagnostico de la enfermedad



# Podemos iniciar con el diagnostico rápido en campo.

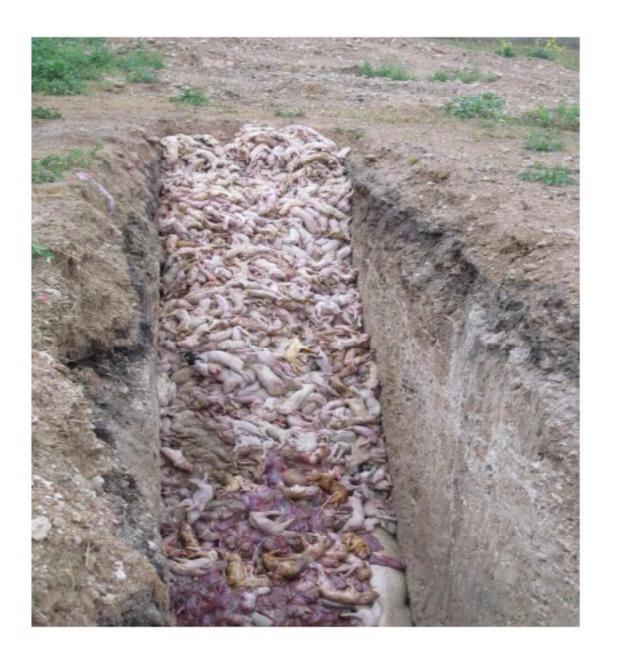


# Confirmar el diagnostico clínico, enviando material adecuado al laboratorio.



## Si no lo haces.... el tiempo te lo dirá.(24 hr)





Requerimos del apoyo total de nuestras autoridades (SAGARPA-SENASICA) para realizar de manera rápida y completa el diagnostico en los laboratorios particulares aprobados/autorizados.

# "Conocer a fondo al enemigo"

- Esta disponible la suficiente información con sustento científico y la experiencia en campo como para dar pasos seguros y tomar decisiones correctas para el control de esta enfermedad y dejar de estar inventando e imaginando.
- "Recomendaciones para control de la Diarrea Epidémica Porcina y el Síndrome Diarreico Porcino Asociado delta Coronavirus" www.amvec.com.mx

# Segundo paso: destetar todos los lechones mayores de 10 días de edad. Grandes productores de virus.



# Eliminación de todos los lechones enfermos y susceptibles menores de 10 días de edad.(?)



Tercer paso: colectar diarrea o intestinos <u>con virus</u> de los lechones enfermos para realizar el inoculo. feed-back.









## Enviar muestras al laboratorio de la diarrea colectada para medir la carga viral por ml.



# Puntos importantes que debemos tener en cuenta durante la inoculación.

- Retirar todo tipo de desinfectante en el agua de bebida.
- Hacer suficiente colecta de material, para asegurar que el 100% de las hembras reciban suficientes virus en una toma. (10 a la 11 de virus por cada hembra de la granja).
- Mantener la diarrea colectada en congelación en viales y en porciones pequeñas.(-21°C o menos.)
- Asegurar que el inoculo no lleve otros virus. (PRRS, EOA, PCV-2,otros)
- La inoculación es vía oral.
- ¿vísceras o diarrea?..... VIRUS DE DEP suficiente para provocar una inmunización y generación de anticuerpos.

### Cuarto paso: inocular la diarrea de los lechones al 100% de las hembras de la granja.



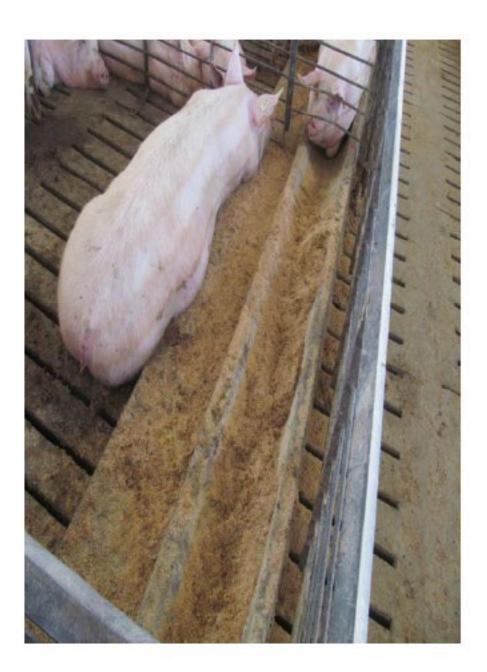






### Verificar que las hembras después de ser inoculadas, presenten signos clínicos de la enfermedad







## Quinto Paso: eliminación total de los lechones al nacer, por las siguientes 2 semanas.;?



#### Sexto paso: "Operación heces"

- Eliminar todo residuo de heces (virus) en toda la granja.
- Limpieza y desinfección y encalado de todo las superficies. (MATERNIDADES esterilizadas)
- Clorar o uso de desinfectantes en agua de bebida en todas las línea de agua, en caso de haber hecho el inoculo vía bebederos.
- Que las heces de las hembras inoculadas se eliminen en su misma jaula o caseta.













#### Séptimo paso: monitoreo de la presencia o ausencia del virus en las instalaciones y heces de las hembras.

- Monitoreo semanal post inoculación en las heces de las hembras, hacer 10 pool de 3 para RT-PCR durante 4 semanas mínimo.
- Monitoreo con hisopos de arrastre en las maternidades después de la desinfección y descanso.
- Necesitamos tener la certeza de que el virus no este en ningún material, objeto, de la granja.
- Las salas de maternidad deberán permanecer por lo menos 3 días descansando después de la desinfección, secado y la encalada.

### Octavo paso: evitar que el lechón al nacer tenga contacto con las heces de su madre.

- Vigilancia continua las 24hr. Para retirar las heces producidas por la hembra y desinfectar o "encalar" la parte trasera de las jaulas de maternidad durante el tiempo del parto.
- Evitar el contacto del lechón con heces de su madre antes de calostrarse (auto inoculación).
- Limpieza y desinfección de tetas, ubres y traseros de las hembras, preparto.
- Calostrar inmediatamente al 100% de los recién nacidos.









#### No contacto con heces al nacer.



# Atender al 100% de los lechones al nacer para evitar que se auto inoculen.





Calostrar la mas pronto posible y que todos los cerditos tengan una teta con leche, toda la lactancia. (asegurar la inmunidad lactogenica)



Noveno paso: NO mover, NO reacomodar, NO manipular, SOLO tocar



## Sacrificar los cerditos y si es necesario las camadas que presenten diarrea.





# Décimo paso: manejo y control de las excretas y aguas residuales de granja.



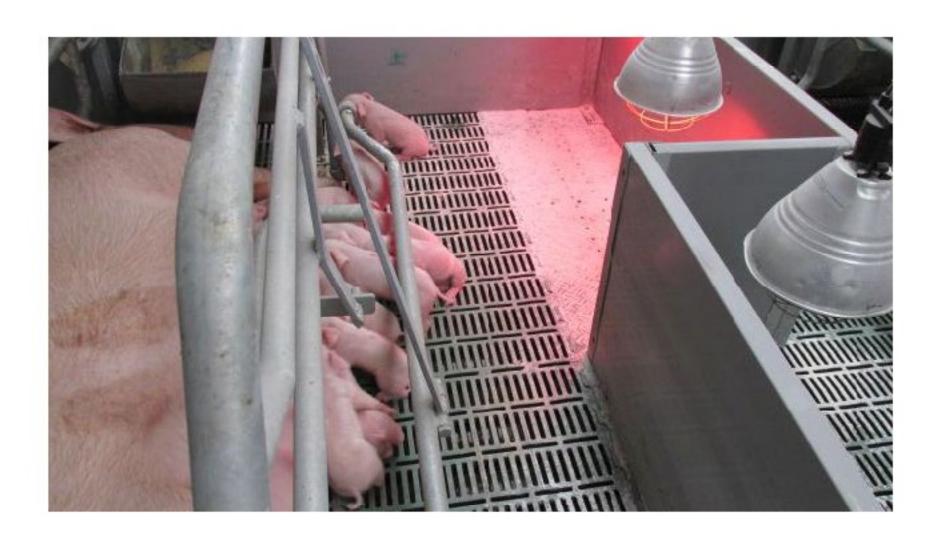


La heces deben permanecer en el trasero de las hembras o en los drenajes. Nunca en los pasillos, el calzado, la ropa, etc.



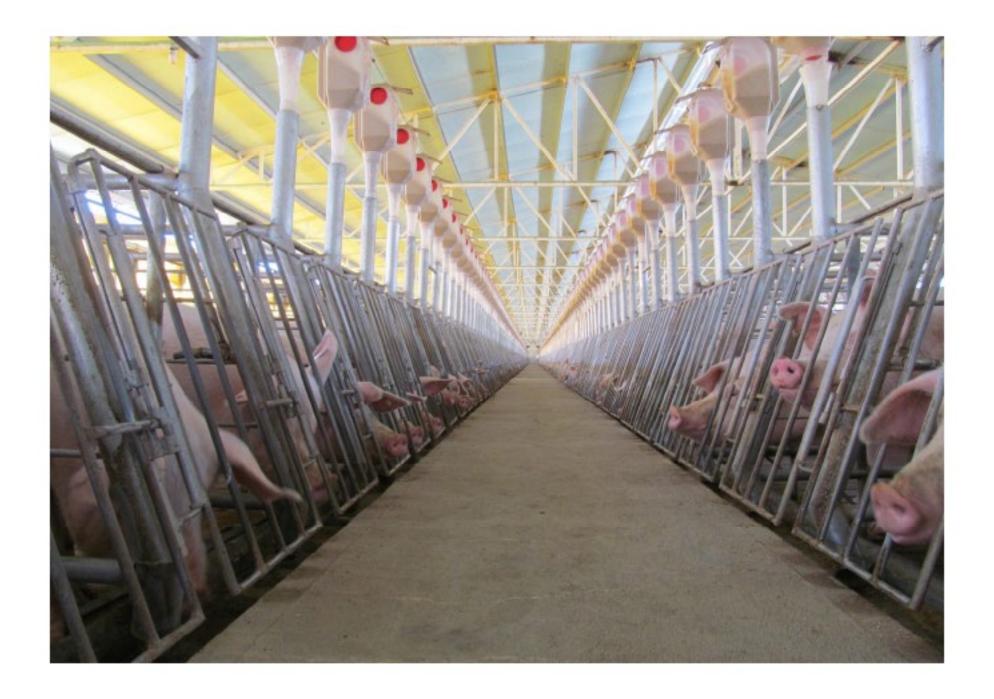












# Prevención del ingreso de nuevos virus.



### Limpieza, desinfección y secado de todos los vehículos y todo lo tengan contacto con la granja y los cerdos.













#### Eliminación del virus de los diferentes vectores.



















#### Resumen y Conclusiones.

- Diagnostico continuo. (kits de campo y en laboratorio)
- Exposición del virus al 100% de las hembras.(una sola vez) para generar inmunidad.
- Exposición controlada con DEP a las hembras de reemplazo en la infectena externa.
- Eliminación del virus en toda la granja. (operación heces)
- Sacrificio de lechones al nacer mientras se genera la inmunidad materna. (2 semanas)????
- Evitar el reacomodo y todo tipo de manejo de lechones en maternidades, con todos los cuidados manipularlos para calostrarlos. No tocar hocicos con manos contaminadas con heces.(mcrebel)
- Limpieza, desinfección y secado de la toda la granja SIEMPRE.
- Evitar la reintroducción de heces y nuevos virus en las granjas. (vehículos, zapatos, ropa, uñas, utensilios, etc.)
- Manejo adecuado de las heces que se producen en la granja. (drenajes, lagunas, biodigestores, etc.)
- No existe varita mágica hasta hoy (VACUNAS y tratamientos) que solucione el problema en su totalidad.

#### "GRACIAS"

