



Facultad de Veterinaria  
**Universidad Zaragoza**



# Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

---

## ÍNDICE

1. <b>Resumen / Abstract</b> .....	2
2. <b>Introducción</b> .....	4
2.1. Diarrea neonatal porcina.....	4
2.2. Agentes implicados.....	6
Coccidiosis.....	6
Rotavirus.....	11
Virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV).....	13
Gastroenteritis Transmisible (TGE).....	15
<i>Clostridium perfringens</i> .....	18
<i>Clostridioides difficile</i> .....	19
3. <b>Justificación y objetivos</b> .....	20
4. <b>Material y métodos</b> .....	21
5. <b>Resultados</b> .....	22
6. <b>Discusión</b> .....	27
7. <b>Conclusiones / Conclusions</b> .....	30
8. <b>Valoración personal</b> .....	32
9. <b>Bibliografía</b> .....	32

## 1. Resumen

La diarrea neonatal constituye una de las patologías con repercusiones económicas más importantes en la producción porcina. Su etiología se considera multifactorial, aunque la contribución de diversos enteropatógenos resulta incuestionable. En el presente estudio se analizaron los resultados de 472 brotes de diarrea en lechones a partir de muestras remitidas a un laboratorio de diagnóstico veterinario (Exopol, S.L.) entre enero y diciembre de 2020. Los brotes de diarrea acontecieron en 315 explotaciones ubicadas en 35 provincias de España, junto con dos brotes en granjas de Portugal. Las muestras fueron analizadas según el “panel digestivo lactante” que incluye el diagnóstico de Rotavirus A, Rotavirus C, virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile*, *Eimeria* spp. y *Cystoisospora suis* utilizando una técnica de PCR en tiempo real.

Los resultados revelan que más del 98% de los brotes resultaron positivos a alguno de los enteropatógenos y en la mayoría se observaron infecciones mixtas. *C. perfringens* y *Cl. difficile* fueron los microorganismos más prevalentes, identificados en más del 90% y 60% de los brotes, respectivamente, aunque la prevalencia de *Cl. difficile* se reduce considerablemente cuando los lechones superan las dos semanas de vida. Entre los virus destaca la presencia de RVA y RVC (40% y 30% de los brotes, respectivamente), si bien la prevalencia de estos últimos también se reduce significativamente en lechones mayores de 15 días. Por el contrario, el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), cuya relevancia es escasa en los lechones más jóvenes, se identifica en más de un quinto de los brotes cuando los animales superan las dos semanas de edad. La mayoría de casos de diarrea de etiología parasitaria fueron ocasionados por *C. suis* (> 20% de los brotes). El conjunto de estos hallazgos revela la importancia de estos microorganismos en la etiología de la diarrea en lechones.

## 1. Abstract

Neonatal diarrhea is one of the main pathologies of economic significance in pork production. Diarrhea in piglets can be considered a multifactorial disease caused by several enteropathogens. In the present study, diagnostic results of 472 outbreaks of neonatal diarrhea in piglets submitted to a veterinary laboratory (Exopol, S.L.) from January to December 2020 were analyzed. Fecal samples were submitted from 315 farms located in 35 provinces throughout in Spain; two diarrheic outbreaks from farms in Portugal were also included in this study. Fecal samples were analyzed using real-time PCR (qPCR) techniques according to a diagnosis panel of the laboratory including the detection of Rotavirus A (RVA), Rotavirus C (RVC), porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile*, *Eimeria* sp. and *Cystoisospora suis*.

Most diarrheic outbreaks (>98%) were positive to at least one of the enteropathogens investigated and most of them tested positive for mixed infections. *C. perfringens* and *Cl. difficile* were the most common microorganisms (> 90% and > 60% of diarrheic outbreaks, respectively), followed by RVA and RVC (> 40% and > 30% of outbreaks, respectively). Nevertheless, the prevalence of *Cl. difficile* and RVC significantly reduced in piglets older than 2 weeks. In contrast, the prevalence of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), which was hardly identified in piglets younger than 15 days, was identified in more than a fifth of diarrheic outbreaks in piglets older than two weeks. Most outbreaks caused by coccidia were due to *C. suis* (> 20% of outbreaks). These findings reveal the importance of these microorganisms in the etiology of suckling pig diarrhea.

## 2. INTRODUCCIÓN

El sector porcino en España tiene una gran importancia económica. Según el informe de los principales indicadores del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPAMA) de 2020, supone en torno al 16,4% de la Producción Final Agraria y hasta un 42,8% de la Producción Final Ganadera. Se trata de un sector con tendencia al crecimiento durante los últimos años. En el año 2020 la producción ha aumentado en torno a un 8,2% en toneladas y un 6,5% en número de cabezas. En el ámbito de la Unión Europea, España ocupa la segunda posición en cuanto a datos de producción, suponiendo el 21,8% de la producción comunitaria y mantiene un crecimiento considerable por encima de la media europea. De hecho, la producción de carne en la UE en los últimos 5 años ha descendido un 5%, mientras que en España ha crecido un 15% en el mismo periodo (MAPAMA, 2021).

Centrándonos en la producción de lechones, uno de los problemas que ha cobrado más importancia en los cerdos neonatos desde el inicio de la producción intensiva en los años 50-60 es la aparición de diarrea, siendo uno de los síndromes más frecuentes durante la fase de lactación (Alexander, cit. en Larsson, 2016).

### 2.1. Diarrea neonatal porcina

La diarrea neonatal es una de las enfermedades más frecuentes en la producción porcina actual, aumentando significativamente la mortalidad pre-destete y el número de lechones destetados por debajo del peso esperable (Holland, 1990). En el origen de los brotes de diarrea podemos encontrar factores no infecciosos como el estrés, mal manejo y la nutrición, que pueden aumentar la receptividad del animal. Por otra parte, dentro de los factores infecciosos podemos encontrar virus, bacterias o coccidios, aunque la presencia de alguno de estos patógenos no determina por sí sola la aparición de la diarrea (Ruiz *et al.*, 2016). Los patógenos implicados pueden actuar como agentes únicos de la diarrea, pero son más comunes los casos en los que aparecen co-infecciones (Kongsted *et al.*, 2018; Mesonero-Escuredo *et al.*, 2018).

En un estudio reciente (Sjölund, Zoric y Wallgren, 2014) se estimó el coste que supone la diarrea neonatal en 134€ por cerda y año, teniendo en cuenta las pérdidas debidas a la menor ganancia de peso, costes de tratamiento y mortalidad. En Suecia y Dinamarca se realizaron estudios en los que la reducción de la ganancia media diaria fue estimada en 8-14 gramos al día en la primera semana de vida (Johansen *et al.*, 2004; Kongsted *et al.*, 2014). Uno de los puntos más importantes respecto a la diarrea neonatal es que se trata de un problema complejo y multifactorial que se complica debido a la posibilidad de interacción de múltiples agentes

causales, la inmunidad del animal, el ambiente, la nutrición y las condiciones de manejo (Holland, 1990).

#### Fisiología neonatal

El lechón recién nacido es inmunológicamente inmaduro que entra en contacto con antígenos del entorno desde el momento del nacimiento (Rooke y Bland, 2002). Se considera que el intestino del cerdo no desarrolla inmunidad hasta las 4-7 semanas de edad, periodo durante el cual experimenta una serie de cambios de estructura y funcionalidad que dependen de la ingesta de calostro. Este contiene altas concentraciones de IgG además de IgA, IgM, células inmunes y sustancias antimicrobianas como la lactoferrina (Hurley, 2015).

#### Fisiopatología de la diarrea

El término diarrea se ha definido como la excreción de heces con exceso de agua en relación con la materia seca fecal, lo cual suele darse por aumento de la excreción de agua, pero también si la fracción de materia seca fecal se ve notablemente reducida (Uzal, Plattner y Hostetter, 2015). Para definir las heces como diarreicas se considera que el contenido en agua debe ser igual o superior al 80% (Pedersen, Stege y Nielsen, 2011). La diarrea puede producirse por medio de mecanismos que suelen clasificarse en malabsorción, aumento de la permeabilidad intestinal y trastornos de la motilidad, los cuales no son mutuamente excluyentes y por tanto pueden darse de forma simultánea (Uzal, Plattner y Hostetter, 2015).

Los enteropatógenos causan diarrea mediante diferentes acciones en el organismo y entre las más importantes respecto a la diarrea neonatal porcina se incluyen los efectos tóxicos sobre las células epiteliales, causando pérdida de líquido hacia la luz intestinal, destrucción directa del epitelio intestinal y efectos necrotizantes sobre el epitelio, lámina propia o tejidos subyacentes, con invasión de organismos en la lámina propia y tejidos subyacentes (Cooper, 2000).

Los signos clínicos y el resultado de la enfermedad entérica en el lechón recién nacido varían en función del agente implicado, así como según la receptividad del individuo. Sin embargo, las consecuencias básicas de la diarrea profusa y acuosa serán, independientemente de la causa, una pérdida rápida de agua, electrolitos y nutrientes. Teniendo en cuenta las limitadas reservas del lechón recién nacido, la diarrea puede derivar tempranamente en un estado grave y el lechón morir en cuestión de horas. Por todo ello, se considera que la diarrea aguda en el lechón debe recibir una atención inmediata (Larsson, 2016).

## 2.2. Agentes implicados

En lechones de menos de 3 semanas de edad se han identificado como causantes frecuentes de diarrea diversas cepas de *Escherichia coli* [(*E. coli* enterotoxigénico (ETEC) y *E. coli* enteropatógeno (EPEC)], coronavirus, rotavirus y *Cystoisospora suis*. En este grupo de agentes se incluyen también algunos clostridios como *Clostridium perfringens* tipo C, *Clostridium perfringens* tipo A y *Clostridioides* (anteriormente *Clostridium*) *difficile* (Uzal, Plattner y Hostetter, 2015).

### Coccidiosis

#### Etiología

Los coccidios son protozoos parásitos intracelulares obligados. En el ganado porcino están reconocidos dos géneros de coccidios intestinales, *Eimeria* e *Cystoisospora*. El género *Eimeria* comprende 8 especies que infectan al ganado porcino, aunque el coccidio más importante tanto por su prevalencia como por las consecuencias clínicas de la infección en esta especie animal pertenece al género *Cystoisospora* (*C. suis*). Esta última se considera una de las causas más frecuente de diarrea neonatal porcina, muy relacionada con la producción intensiva de esta especie en todo el mundo (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019; Joachim y Shrestha, 2020).

*C. suis* fue descrita por primera vez en 1934 por Biester y Murray, pero no es hasta finales de los años 1970 cuando se demostró que causa enfermedad en ganado porcino en condiciones naturales (Stuart y Lindsay, 1986). Esta especie fue descrita inicialmente como *Isospora suis*, pero en 2005 se redefine como perteneciente al género *Cystoisospora*, aunque ambas denominaciones se encuentran en la literatura como sinónimos (Barta *et al.*, 2005). Sus ooquistes se caracterizan por la ausencia de cuerpo de Stieda y por su forma esférica. Una vez esporulados, la presencia de 2 esporocistos en su interior, portadores cada uno de 4 esporozoítos, permiten una fácil diferenciación respecto a las especies de *Eimeria*, cuyo patrón de esporulación es opuesto (4 x 2) (Joachim y Shrestha, 2020).

#### Ciclo de vida

El ciclo biológico de los coccidios comprende 3 fases de multiplicación: esporogonia, esquizogonia (merogonia) y gametogonia (Frontera y Serrano, 2009). La esporogonia comprende el proceso mediante el cual el ooquiste (estadio resistente al medio ambiente) se desarrolla de estadio no infeccioso y no esporulado que se excreta en las heces hasta el estadio infeccioso (ooquiste esporulado) (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019). Para que se produzca

la esporulación deben darse las condiciones de temperatura y humedad adecuadas. Experimentalmente se ha comprobado que esporulan en 56 horas a 20°C, 40 horas a 25°C, 16 horas a 30°C y en tan sólo 12 horas a 37°C. Esto es importante ya que en la paridera se suele buscar una temperatura para los lechones de entre 32 y 35°C, lo que favorece y acelera el desarrollo de los ooquistes (Lindsay, Current y Ernst, 1982).

Los animales se infectan al ingerir los ooquistes esporulados del medio ambiente. En su paso por el estómago, se altera la pared de los ooquistes liberando los esporocistos con los esporozoítos gracias a la acción de sales biliares y enzimas digestivas. Comienza así la fase de esquizogonia, en la cual los esporozoítos penetran en los enterocitos intestinales y comienzan a multiplicarse de forma asexual (Frontera y Serrano, 2009; Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019).

Las fases endógenas de *C. suis* y *Eimeria* spp. se desarrollan en el citoplasma de los enterocitos, la mayoría en yeyuno e íleon. Los estadios suelen localizarse en las porciones distales de las vellosidades dentro de una vacuola parasitófora (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019). *C. suis* desarrolla merontes de dos tipos, mientras que en las fases asexuales de *Eimeria* se producen varias generaciones de merontes. Posteriormente se dará la diferenciación de los merozoítos en gamontes, lo que da inicio a la fase sexual, que se completa al fusionarse microgametos y macrogametos para formar un ooquiste. Los ooquistes no esporulados se excretarán por medio de las heces y esporularán en el entorno (Joachim y Schwarz, 2015). La excreción ooquistica se inicia a los 5 días post-infección (pi.) y se prolonga hasta el día 14 pi. en la mayoría de los animales (Harleman y Meyer, 1984; Mundt *et al.*, 2006).

### Signos clínicos y lesiones

Las especies del género *Eimeria* spp. pueden aparecer en cualquier grupo de edad, aunque son más frecuentes en las cerdas. Las especies más patógenas son *E. deblickei*, *E. scabra*, *E. polita*, y *E. spinosa*. Normalmente no aparecen signos clínicos en los animales afectados pero algunos factores como condiciones higiénicas deficientes en combinación con el estrés (por ejemplo, en el destete) puede llevar a desarrollar una eimeriosis clínica con diarrea y excreción de ooquistes en gran cantidad (Joachim y Schwarz, 2015).

En el caso de *Cystoisospora suis*, se trata del parásito más común en lechones lactantes, grupo de edad al que se restringe casi exclusivamente (Ruiz *et al.*, 2016). Esto es debido a que se adquiere una importante resistencia con la edad, provocando que la capacidad del parásito para multiplicarse y causar enfermedad disminuya rápidamente a medida que el animal madura. Los lechones de una semana de edad son los más afectados, mientras que a partir de las 3 semanas de edad las infecciones empiezan a ser subclínicas (Joachim y Shrestha, 2020).

Los signos de enfermedad aparecen generalmente entre los 7 y 11 días de edad. El signo clínico principal es una diarrea de color gris amarillento que no responde a antibióticos. Las heces pueden ser pastosas o algo líquidas al principio, pero se van volviendo más fluidas (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019). Los lechones suelen seguir amamantando, pero el pelaje se torna áspero, se deshidratan y tienen un menor aumento de peso. Las camadas varían en el grado de aparición de los signos clínicos, aunque todos los lechones de una misma camada están afectados en igual medida (Stuart y Lindsay, 1986).

La mortalidad suele ser baja, pero debido a que la absorción de nutrientes se ve reducida en una etapa clave para el crecimiento de los lechones se produce reducción de la ganancia de peso o incluso una pérdida de peso durante el periodo de diarrea, lo que termina dando lugar a pesos reducidos y desiguales de destete (Mundt *et al.*, 2007).

### Diagnóstico

Hay que tener en cuenta que ni el cuadro clínico ni las lesiones producidas por la coccidiosis van a ser determinantes para llegar a un diagnóstico asertivo de esta enfermedad, ya que otros procesos entéricos en lechones tienen una presentación similar. Por ello, se deben utilizar técnicas diagnósticas que permitan un correcto diagnóstico etiológico (Frontera y Serrano, 2009). El método más utilizado y rápido consiste en identificar la presencia de ooquistes en las heces. Las especies de *Eimeria* pueden diferenciarse fácilmente por su morfología y se distinguen de *C. suis* una vez esporulados los ooquistes. Las características específicas de cada especie sirvieron para desarrollar un algoritmo de detección y diferenciación semiautomática (Dauguschies, Imarom y Bollwahn, 1999; Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019).

Es importante elegir correctamente el momento para la toma de muestras, ya que la excreción de ooquistes se inicia más tarde que la aparición de signos clínicos y en muchas ocasiones se pasa por alto y no se diagnostica correctamente (Niestrath *et al.*, 2002). Este retraso entre la aparición de la diarrea y la excreción de ooquistes es de aproximadamente un día y el máximo de eliminación de ooquistes se da 2-3 días después de la aparición de los signos clínicos (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019). Además, se recomienda analizar un pool (mezcla) de heces de varios lechones de una camada y de varias camadas, obteniendo así una muestra representativa (Frontera y Serrano, 2009). En ocasiones, el alto contenido en grasa de las heces puede dificultar la detección de ooquistes mediante la formación de tapones de grasa en la flotación (Joachim y Shrestha, 2020).

Las técnicas de flotación y frotis directos pueden resultar negativas en caso de excretarse un escaso número de ooquistes en las heces, aunque son de elección en el caso de diagnósticos

rutinarios, debido a su rapidez y coste (Dauguschies *et al.*, 2001). Según un estudio reciente, el umbral de sensibilidad del método con cámara de McMaster modificado es de 333 ooquistes/gramo de heces (OpG), frente a los frotis fecales con autofluoresceína (10 OpG) o la tinción con carbolfucsina (límite inferior de detección: 100 OpG) (Joachim, Ruttkowski y Sperling, 2018). Por lo tanto, entre estos métodos el más sensible es la autofluorescencia, basado en las propiedades de la pared del ooquiste para emitir luz al ser excitada. En los exámenes postmortem pueden encontrarse estadios de *Eimeria spp* o *C. suis* en cortes histológicos de intestino delgado o frotis teñidos (Andrews *et al.*, 1986).

Dentro de las técnicas de biología molecular, el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha ido cobrando importancia para el diagnóstico de protozoos en la medicina humana y veterinaria debido a que ofrece una detección de alta especificidad y sensibilidad (Joachim *et al.*, 2004). Ruttkowski, Joachim y Daugschies (2001) realizaron un estudio en el que desarrollaron cebadores para detectar *C. suis* y se utilizaron para la amplificación específica del ADN de ooquistes purificados de muestras fecales.

#### Tratamiento y prevención

El tratamiento de la coccidiosis una vez han aparecido los signos clínicos no siempre resulta de utilidad, ya que los daños en el epitelio intestinal son ya un hecho, por lo que la prevención y control son de gran importancia para minimizar el impacto de la coccidiosis en las explotaciones. Para un control efectivo es necesario minimizar la fuente de infección mediante el uso de químicos y siguiendo unas correctas pautas en limpieza y desinfección (Stuart y Lindsay, 1986).

En el caso de la coccidiosis producida por *Eimeria spp.* en lechones destetados y cerdas jóvenes hay muy pocos estudios sobre el tratamiento en condiciones naturales y experimentales. Sin embargo, dado que la infección por *Eimeria* rara vez es problemática, no suele estar justificado el uso de terapéuticos (Lindsay, Blagburn y Boosinger, 1987; Daugschies *et al.*, 2004). Para el control de la cistosisporosis en lechones, las opciones de tratamiento son limitadas. La principal fuente de infección son las propias parideras previamente contaminadas con ooquistes de las camadas anteriores. Desde los años 70, se han estudiado numerosos fármacos para el tratamiento de la coccidiosis. Estos deben ser rentables y tener una frecuencia de tratamiento reducida para que sea una práctica viable en las explotaciones. Además, para que sean efectivos, normalmente es necesario administrarlos en el momento de la exposición o poco después (Joachim y Shrestha, 2020).

Hay que tener en cuenta que los estudios que demuestran una actividad anticoccidial en cerdos ya destetados o durante el periodo de cebo no se pueden extrapolar para predecir el efecto de

los mismos en lechones lactantes (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019). Actualmente el fármaco de elección para la metafilaxis de la cistisosporosis en lechones es el toltrazuril (Joachim y Mundt, 2011). Se trata de un fármaco derivado de las triazinas que tiene actividad de amplio espectro contra coccidios y otros protozoos. Su mecanismo de acción no está del todo claro, se cree que actúa tanto frente a los estadios sexuales como asexuales del coccidio inhibiendo la división nuclear de los esquizontes y microgamontes y los cuerpos formadores de las paredes de los macrogamontes (Riviere y Papich, 2018). El toltrazuril se administra generalmente por vía oral pero también hay formulaciones inyectables (Joachim *et al.*, 2018).

En un estudio en 2007, Mundt *et al.*, demostraron el efecto del toltrazuril como metafiláctico en reproductoras y lechones infectados experimentalmente, que actúa reduciendo la aparición de diarrea y excreción de ooquistes y consiguiendo así una mayor ganancia de peso. Dos estudios posteriores evaluaron el efecto del tratamiento con toltrazuril en condiciones de campo, con lechones infectados de forma natural y confirmaron la eficacia del tratamiento. Una única dosis oral de 20 mg/kg de peso corporal fue suficiente para conseguir suprimir la excreción de ooquistes y la aparición de diarrea (Scala *et al.*, 2009; Skampardonis *et al.*, 2010).

Los estudios realizados hasta la fecha no han identificado otros coccidiostáticos eficaces. Se probó la eficacia de tres compuestos en el mismo estudio: toltrazuril, diclazuril (otro compuesto derivado de las triazinas) y la sulfadimidina (antibacteriano de sulfonamida). Los resultados mostraron que ni el diclazuril ni la sulfadimidina fueron eficaces para evitar la aparición de signos clínicos y la excreción de ooquistes (Mundt *et al.*, 2007).

Debido a que no existen otras alternativas para el tratamiento de la coccidiosis porcina, la principal amenaza es el desarrollo de resistencias al tratamiento. Un uso continuado del fármaco durante periodos prolongados de tiempo, unido a la subdosificación y al tratamiento de los lechones en el momento inadecuado favorecen en gran medida la aparición de genes resistentes. El alto potencial reproductivo de *C. suis* y su consiguiente variación genética pueden aumentar la probabilidad de aparición de cepas resistentes. Como consecuencia, se ha descrito en Holanda un caso de *C. suis* resistente al toltrazuril, incluso con dosis terapéuticas aumentadas (Shrestha *et al.*, 2017). La aparición de cepas resistentes supone una potencial amenaza para la ganadería porcina, al no haber otras alternativas eficaces y económicamente viables. Por lo que es de gran importancia monitorizar la resistencia en explotaciones además de llevar a cabo un estricto saneamiento para evitar la propagación (Joachim y Shrestha, 2020).

En un estudio no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la infección por *C. suis* entre las explotaciones tratadas con toltrazuril y las no tratadas, lo que supone un resultado

sorprendente, dada la efectividad confirmada en numerosas ocasiones. Se relaciona con la posibilidad de resistencias desarrolladas, mala gestión higiénica y/o un tratamiento incorrecto con el toltrazuril (Hinney *et al.*, 2020).

Dadas las limitaciones de tratamiento que existen, es muy importante llevar a cabo una buena gestión higiénica y sanitaria de la explotación con el objetivo de reducir la presión de la infección en el entorno y facilitar así el tratamiento de la enfermedad clínica y disminuir las pérdidas de producción (Sotiraki *et al.*, 2008). Algunas medidas efectivas son la eliminación diaria del estiércol y de los materiales de la cama, junto con una limpieza con vapor a alta presión de la paridera entre camadas y el uso de desinfectantes eficaces (Joachim y Srestha, 2020).

Se deben cumplir estrictas medidas de bioseguridad, limitando el acceso de los trabajadores a las parideras para evitar la posible diseminación de ooquistes por medio de las botas y la ropa. También es importante que no haya acceso para los animales domésticos, que pueden propagar ooquistes, además de controlar las poblaciones de roedores en la explotación. Se debe tener en cuenta que aunque la enfermedad clínica esté bajo control, el potencial de aparición de futuros brotes está siempre presente (Lindsay, Dubey y Santín-Durán, 2019).

## Rotavirus

### Etiología

Los rotavirus son virus ARN segmentados de doble cadena, sin envoltura, pertenecientes a la familia *Reoviridae* y causantes de diarrea en animales jóvenes y en humanos (Ramig, 2004). Los rotavirus que afectan al ganado porcino están divididos en cuatro grupos A, B, C y E, siendo el RVA el de aparición más frecuente y el que afecta a mayor número de especies, incluyendo el hombre, estando presente en todos los continentes (Janke *et al.*, 1990; Will *et al.*, 1994; Shepherd *et al.*, 2019). El RVC es una causa importante de diarrea en lechones neonatos en Estados Unidos, sobre todo en los tres primeros días tras el nacimiento (Marthaler *et al.*, 2013). Asimismo, cabe destacar que es común la aparición de coinfecciones por distintos virus, sobre todo en cerdos de mayor edad (Homwong *et al.*, 2016).

### Epidemiología

Los rotavirus son una de las principales causas de diarrea en lechones neonatos. La edad es uno de los factores determinantes en la gravedad de la enfermedad. Los cerdos más receptivos a la infección son aquellos que no han recibido la inmunidad pasiva adecuada y los animales jóvenes que aún no han desarrollado su inmunidad, aunque dado su carácter ubicuo muchos lechones adquieren inmunidad materna durante las primeras semanas de vida (Ward, Rich y Besser, 1996;

Shepherd *et al.*, 2019)). Las heces son un material altamente contagioso. Las estimaciones de Payment and Morin (1990) indican que cada gramo contiene hasta  $1 \times 10^{10}$  partículas y solo 90 partículas son suficientes para iniciar la enfermedad (Meleg *et al.*, 2008).

### Patogenia

La replicación de los rotavirus se da mayormente en las células de las vellosidades del intestino delgado, sobre todo en yeyuno e íleon y en menor medida intestino grueso (Shepherd *et al.*, 2019). Aunque no existe evidencia de replicación extraintestinal, hay presencia transitoria de antígenos de RV en otros tejidos como el pulmón, hígado y bazo (Zijlstra *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2013). El mecanismo que causa la diarrea en el caso de la infección por RV es la atrofia y pérdida de vellosidades intestinales, lo que conlleva a alteraciones en la absorción de líquidos y a una diarrea por malabsorción (Ramig, 2004).

### Signos clínicos y lesiones

La presentación clínica de la enfermedad es muy variable, pudiendo darse desde un curso subclínico a grave, dependiendo de numerosos factores relacionados con la cepa del virus, existencia de infecciones concomitantes y la edad o estado inmune del hospedador (Shepherd *et al.*, 2019). El periodo de incubación en lechones es de 1 a 4 días. Los signos clínicos incluyen diarrea acuosa profusa, vómitos, letargia y anorexia. La mortalidad experimentalmente se estableció en menos del 20%, pero se han dado casos de mayores porcentajes (Tzipori y Williams, 1978). En lechones menores de 7 días la recuperación puede tardar de 1 a 10 días, recuperando también el peso corporal adecuado (Tzipori y Williams, 1978), aunque los síntomas se agravan en caso de infecciones bacterianas concurrentes (Neog *et al.*, 2011). En la necropsia se observa la dilatación del intestino por contenido excesivo y amarillento. Las paredes intestinales son más delgadas y las vellosidades intestinales se encuentran acortadas (Neog *et al.*, 2011).

### Diagnóstico

Se pueden tomar muestras fecales e intestinales para la detección del antígeno del RV, siendo la PCR en tiempo real (RT-PCR) el método más utilizado. Desarrollando pruebas de PCR múltiple se pueden evaluar varios virus causantes de diarrea con la misma muestra (Ogawa *et al.*, 2009). Existen numerosos métodos alternativos como inmunocromatografía, kits ELISA, inmunofluorescencia de cultivos celulares y pruebas de inhibición de la hemaglutinación (Shepherd *et al.*, 2019).

## Tratamiento y prevención

No hay hasta la fecha antivirales para tratar las infecciones por RV. Las medidas de prevención se centran en conseguir que los lechones adquieran una adecuada inmunidad pasiva a partir de la cerda. Actualmente, la única vacuna disponible en España para la prevención de la diarrea por RV es importada, especialmente de los Estados Unidos (ProSystem Rota; Intervet Inc./Merck Animal Health, Madison, NJ, USA) y se autoriza su administración tanto a las cerdas gestantes como a los lechones. La erradicación de la explotación no es una opción práctica dada la naturaleza ubicua del virus, siendo el principal objetivo minimizar el impacto de las infecciones reduciendo la mortalidad y los signos clínicos (Shepherd *et al.*, 2019). El uso de desinfectantes específicos como los halógenos y fenólicos puede ayudar a controlar la propagación del RV (Chandler-Bostock y Mellits, 2015). Los desinfectantes más eficaces para eliminar el virus en la ropa de trabajo son el cloro y el glutaraldehído (Yeargin *et al.*, 2016).

## Virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV)

### Etiología

Se trata de un virus de ARN monocatenario que pertenece a la familia *Coronaviridae* y género *Alphacoronavirus*. Actualmente, las cepas mundiales de PEDV se dividen en dos grupos: cepas clásicas de PEDV que surgieron por primera vez en la década de los 70 y las cepas emergentes aparecidas a partir de 2010 (Lin *et al.*, 2016). Las cepas emergentes se dividen a su vez en cepas “no S INDEL” y “S INDEL” término asignado en base a la presencia de “inserciones” y “delecciones” de aminoácidos en la proteína S y en su virulencia en lechones (Liu y Gerdt, 2021). Un dato relevante es que no presenta inmunidad cruzada con otros coronavirus entéricos porcinos como el causante de la gastroenteritis transmisible porcina, que se analiza más adelante.

### Patogenia

Los principales factores relacionados con la patogenia del virus PEDV son la edad de los cerdos en el momento de la infección, la virulencia de la cepa, la vía de entrada y la dosis (Saif *et al.*, 2019). Los primeros estudios sobre la patogenia del PEDV se realizaron inoculando por vía oral la cepa clásica CV777 en lechones de 3 días de edad. Los signos clínicos aparecieron a las 22-36 horas tras la inoculación. Se produjo replicación viral en el citoplasma de las células de las vellosidades de todo el intestino delgado a partir de las 12-18 horas de la inoculación, con un máximo a las 24-36 horas. La principal alteración fue la degeneración de enterocitos, que provocó una reducción de la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas (Debouck, Pensaert y Coussement, 1981; Coussement *et al.*, 1982). También se observó

replicación en el epitelio del colon, con ligera degeneración celular resultante (Ducatelle *et al.*, 1982). La consecuencia de estas alteraciones es el desarrollo de diarrea por maldigestión y malabsorción. En un estudio reciente se comparó la dosis infectante de una cepa emergente “no S INDEL” en cerdos de 5 días y en los de 3 semanas de edad, concluyendo que para infectar el 100% de estos últimos se necesitaron dosis 100 veces mayores que en el caso de los lechones neonatos (Thomas *et al.*, 2015),

La lenta regeneración celular (5-7 días) de los enterocitos de lechones neonatos en comparación con la de lechones destetados a las tres semanas de edad (2-3 días), unidos al retraso del aumento de células madre intestinales y la proliferación de las células de la cripta (hasta 3 días) contribuye a que la mortalidad sea muy superior en los primeros, así como los signos clínicos más graves y la recuperación más lenta (Jung *et al.*, 2015; Jung, Saif y Wang, 2020).

### Signos clínicos y lesiones

En un brote por PEDV pueden enfermar cerdos de todas las edades, con una morbilidad cercana al 100% en lechones. Los signos clínicos más frecuentes son diarrea acuosa, vómitos, anorexia, y depresión. La mortalidad en lechones de menos de una semana de edad está entre el 50 y el 100%, mientras que la recuperación tiene lugar en aproximadamente siete días en los mayores de dicha edad (Saif *et al.*, 2019). Los brotes asociados a esta enfermedad se prolongan durante aproximadamente tres a cuatro semanas, aunque este periodo puede ser más amplio en grandes explotaciones. Una vez terminado el brote agudo pueden persistir casos de diarrea y convertirse en recurrente (Martelli *et al.*, 2008).

Hay numerosos estudios de las lesiones producidas en lechones infectados experimentalmente. Tanto de las cepas clásicas de PEDV (Coussement *et al.*, 1982; Kim y Chae, 2003) como de las cepas emergentes (Jung *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016). Las lesiones macroscópicas se localizan en el intestino delgado, el cual se encuentra distendido por la presencia de líquido acuoso y amarillento. Microscópicamente se observa disminución de la longitud de las vellosidades del intestino delgado debido a la afectación de los enterocitos que las conforman. Además, se produce una reducción marcada de la actividad enzimática del intestino (Saif *et al.*, 2019).

### Diagnóstico

Debido a la similitud de los signos clínicos e histopatológicos del PEDV con los producidos por la TGE (Gastroenteritis transmisible) es necesario demostrar la presencia del PEDV y/o sus antígenos con pruebas laboratoriales (Liu y Gerds, 2021). Se han utilizado diversos métodos de diagnóstico que incluyen pruebas de inmunofluorescencia (IF) o inmunohistoquímica (IHC),

hibridación in situ, microscopía electrónica, aislamiento del virus, ensayos serológicos (ELISA) y técnicas diversas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Lee, 2015). Para la detección del ARN, el método de diagnóstico laboratorial más usado es la RT-PCR (Ishikawa *et al.*, 1997; Liu y Wang, 2016).

### Tratamiento y prevención

Hasta la fecha no existen antivirales específicos para la infección por PEDV por lo que el tratamiento se basa en paliar en la medida de lo posible la diarrea (Vlasova *et al.*, 2020; Liu y Gerdt, 2021). Los protocolos de bioseguridad de la explotación como la descontaminación y desinfección de vehículos y otros fómites potencialmente contaminados, así como el control de los suministros de pienso y aditivos tienen un papel importante a la hora de evitar la entrada del PEDV en la explotación (Gordon *et al.*, 2019; Jung, Saif y Wang, 2020). Los desinfectantes más efectivos para la inactivación del PEDV en las heces son el Virkon S al 0.5% y Clorox al 2.06% (Bowman *et al.*, 2015).

El uso de vacunas atenuadas o inactivadas está principalmente extendido por los países asiáticos. Su eficacia se ha demostrado experimentalmente, pero sobre el terreno sigue habiendo debate sobre las ventajas y desventajas de su uso (Lee, 2015). En ocasiones, se ha valorado como estrategia de inmunización la exposición deliberada de las cerdas gestantes a intestinos y heces de animales afectados de forma aguda. Este método tiene como objetivo estimular la posterior inmunidad pasiva de los lechones, para reducir los signos clínicos y acortar los brotes. También se ha valorado la misma estrategia en cerdos de cebo, pero hay que tener en cuenta el riesgo de transmisión de otros patógenos (Saif *et al.*, 2019).

## Gastroenteritis Transmisible (TGE)

### Etiología

La gastroenteritis transmisible está causada por el virus *Alphacoronavirus 1*, provisto de ARN monocatenario, pertenece a la familia *Coronaviridae* (Carstens, 2010). Fue descrito por primera vez en 1946 por Doyle y Hutchings en Estados Unidos, más tarde se informó de su presencia generalizada por todo el mundo (Helke *et al.*, 2015). El virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) es estable a temperaturas de congelación, pero lábil a temperaturas elevadas. En el estiércol líquido mantiene la viabilidad durante más de 8 semanas a 5°C, 2 semanas a 20°C y 24 horas a 35°C (Haas *et al.*, 1995).

## Epidemiología

La TGE fue una de las principales causas de enfermedad entérica y mortalidad en lechones en todo el mundo entre los años 1960 y 1980. A partir de la década de 1980, la rápida propagación del coronavirus respiratorio porcino (PRCV) que proporciona inmunidad cruzada, provocó que se minimizara el impacto clínico y económico del TGEV (Yaeger, Funk y Hoffman, 2002; Vlasova *et al.*, 2020). La enfermedad se puede manifestar de forma epidémica o endémica. La primera se produce en explotaciones donde la mayoría de los animales son seronegativos al TGEV/PRCV y por lo tanto susceptibles. En ese caso, la enfermedad tiene una propagación rápida entre los cerdos de todas las edades, sobre todo en invierno. Los animales más afectados son los lechones lactantes, que desarrollan signos clínicos marcados y se deshidratan rápidamente. En consecuencia, la mortalidad en cerdos de menos de 2 semanas es muy elevada. Las cerdas lactantes pueden desarrollar anorexia y agalaxia, produciendo menos leche, contribuyendo así a la mortalidad de los lechones (Saif *et al.*, 2019).

La TGE endémica se manifiesta en explotaciones donde la presencia de TGEV es persistente. Puede darse como secuela después de un brote agudo o en explotaciones seropositivas con partos frecuentes. En este caso, las cerdas suelen ser inmunes y asintomáticas y se da una transferencia de inmunidad pasiva a los lechones de grado variable. Las diarreas causadas serán leves y la mortalidad en lechones más baja (10-20%). No está claro si la fuente del virus es la reactivación de excreción en cerdos portadores ó bien las reintroducciones desde fuentes externas a la explotación (Saif *et al.*, 2019).

## Patogenia

El TGEV ocasiona necrosis masiva de enterocitos del yeyuno entre 12 y 24 horas después de la infección, lo que produce reducción de la actividad enzimática en el intestino delgado. En consecuencia, se interrumpe la digestión y el transporte de nutrientes y electrolitos, acumulándose líquido en la luz intestinal y provocando diarrea aguda por malabsorción, que puede ocasionar deshidratación y muerte de los lechones (Vlasova *et al.*, 2020).

La edad de los animales infectados es un factor importante en el desarrollo de la enfermedad. Los lechones neonatos son más susceptibles que los de 3 semanas a la infección por TGEV ya que en ellos se produce una atrofia más grave de las vellosidades intestinales. Como en el caso del PDEV, este hecho se atribuye a una regeneración más lenta de las células en el caso de los neonatos (Saif *et al.*, 2019). El TGEV también tiene multiplicación extraintestinal en los macrófagos alveolares y en el tejido mamario. En un estudio, Kemeny y Woods (citado en Vlasova *et al.*, 2020) informaron de que el virus se elimina en la leche de las cerdas infectadas.

## Signos clínicos y lesiones

El desarrollo de los signos clínicos de la enfermedad dependerá si se trata de la denominada TGE endémica o epidémica. En la primera (lechones seronegativos) se manifiestan vómitos y diarrea profusa de consistencia acuosa y color amarillento. Esto provoca en los lechones neonatos una rápida deshidratación y reducción de peso, traducándose en una elevada mortalidad. La gravedad de la enfermedad esta inversamente relacionada con la edad del cerdo. Así, en los cerdos de mayor edad se dará inapetencia y diarrea transitoria (Saif *et al.*, 2019). En la TGE endémica, los signos clínicos suelen ser menos graves y la mortalidad menor. En este caso, los signos clínicos en lechones lactantes pueden asimilarse a los ocasionados por rotavirus y PEDV (Wang, Byrum y Zhang, 2014).

Las lesiones macroscópicas se limitan al tracto gastrointestinal. El estómago, distendido, puede presentar hemorragias petequiales. En el intestino, la pared es delgada debido a la atrofia de las vellosidades, y se encuentra distendido y lleno de líquido amarillento. El acortamiento de las vellosidades del yeyuno e íleon es una de las principales alteraciones (Debouck, Pensaert y Coussement, 1981).

## Diagnóstico

La adecuada toma de muestras y su correcto mantenimiento son necesarios para conseguir un diagnóstico fiable. Los signos clínicos y la atrofia intestinal pueden darse en otros procesos entéricos (rotavirus, PEDV y coccidiosis) por lo que es necesario el uso de técnicas laboratoriales específicas: detección del antígeno viral o de los ácidos nucleicos en las heces o en las lesiones, así como aislamiento del virus o detección de anticuerpos (Vlasova *et al.*, 2020).

Para la detección del antígeno del TEGV en los enterocitos pueden realizarse técnicas de inmunofluorescencia (IF) o inmunohistoquímicas (IHC) (Enjuanes y van der Zeijst, 1995). Actualmente, los métodos diagnósticos utilizados para diagnosticar y diferenciar el TGEV de otros coronavirus similares son la RT-PCR (Kim, Song y Park, 2001; Costantini *et al.*, 2004). En el año 2009, (Ogawa *et al.*) desarrollaron una RT-PCR múltiple que permite la detección simultánea de los principales virus que producen diarrea en el ganado porcino.

## Tratamiento y prevención

No existen hasta la fecha antivirales para la infección por TGEV (Liu y Gerdt, 2021). La única opción por lo tanto es el tratamiento de los signos clínicos. Para ello se recomiendan algunas medidas como facilitar un ambiente cálido, evitando corrientes de aire y suministrar agua a los cerdos infectados (Saif *et al.*, 2019). Para la prevención, es necesario mantener medidas de

bioseguridad adecuadas que eviten la introducción en la explotación de animales infectados y vehículos contaminados. Hay que tener en cuenta que los tejidos no procesados de animales infectados por TGEV pueden propagar el virus (Forman, 1991).

## *Clostridium perfringens*

### Etiología

*Clostridium perfringens* es una bacteria anaerobia, gram positiva y formadora de esporas, que pertenece a la familia *Clostridiaceae*. Se divide en 7 grupos (A-G) según la producción de toxinas. Las más significativas son Alpha, Beta, Beta 2, Épsilon e Iota. *C. perfringens* tipo C es una causa importante de diarrea neonatal porcina, puesto que provoca enteritis necrótica hemorrágica. Por el contrario, no hay evidencia científica contrastada que señale como causante de diarrea neonatal en lechones a *C. perfringens* tipo A (Uzal y Songer, 2019).

### Patogenia

La principal fuente de infección para los lechones neonatos son las heces de las madres. *C. perfringens* tipo C se multiplica rápidamente en el intestino, aunque el mecanismo de adhesión al epitelio intestinal no está claro (Petit, Gibert y Popoff, 1999). La toxina Beta es su principal factor de virulencia, que ocasiona daños en los enterocitos. Esta bacteria es muy sensible a la tripsina, por lo que la mayor susceptibilidad de los lechones neonatos se asocia con la inhibición de la tripsina por la toma de calostro (Uzal *et al.*, 2016). La patogenia de *C. perfringens* tipo A no está clara, tal como se ha comentado anteriormente. Su toxina principal es la Alpha y se considera que forma parte de la microbiota intestinal de los lechones (Petri, Hill y Van Kessel, 2010).

### Signos clínicos y lesiones

El desarrollo clínico de la enfermedad depende del estado inmunitario de los lechones y de su edad. En explotaciones con baja inmunidad frente a *C. perfringens* tipo C se producen brotes graves en los que la morbilidad es cercana al 100% y la mortalidad muy alta. Los lechones desarrollan diarrea hemorrágica y en 12-36 horas están muy débiles. La zona del abdomen se oscurece tras la muerte. Los lechones afectados de forma aguda pueden sobrevivir 1-2 días, presentando diarrea marrón rojiza y deshidratación y finalmente mueren. Los lechones afectados más levemente presentan diarrea intermitente de color amarillo grisáceo durante una semana (Uzal y Songer, 2019). Las lesiones macroscópicas de la enfermedad aguda incluyen principalmente hemorragia intestinal y exudado fibrino-necrótico en la mucosa.

Microscópicamente, se observa necrosis hemorrágica de la pared intestinal que suele progresar hacia todas las capas del intestino (Uzal *et al.*, 2016).

#### Diagnóstico

La presencia de diarrea hemorrágica en lechones, junto con la rápida mortalidad y lesiones macroscópicas indicativas de enteritis por *C. perfringens* son muy relevantes de cara al diagnóstico, pero es necesario confirmar su presencia mediante la detección de la toxina Beta en el contenido intestinal o en las heces. El genotipado de los aislados mediante PCR múltiple permite identificar la presencia de toxinas y determinar el tipo de *C. perfringens* (Uzal y Songer, 2019).

#### Tratamiento y prevención

El tratamiento clínico no tiene utilidad debido al curso rápido de la enfermedad, aunque existen vacunas comerciales que permiten la eliminación en un ciclo de paridera (Uzal *et al.*, 2016).

### *Clostridioides difficile*

#### Etiología

*Clostridioides difficile* es una bacteria anaerobia estricta, gram positiva y formadora de esporas, perteneciente a la familia *Peptostreptococcaceae* y anteriormente asignada al género *Clostridium*. En lechones de 1 a 7 días de edad produce diarrea y en ocasiones dificultad respiratoria o muerte súbita (Larsson, 2016).

#### Patogenia

El mecanismo patógeno de la diarrea asociada a *Cl. difficile* está asociado a la producción de toxinas A y B (Steele, Parry y Tzipori, 2013). Ambas actúan sobre el citoesqueleto de las células, afectando al desarrollo de las funciones celulares y pudiendo causar muerte celular. También pueden provocar inflamación intestinal (Janoir, 2016).

#### Signos clínicos y lesiones

En el desarrollo clínico de la enfermedad pueden aparecer heces blandas y pérdida de la condición corporal. Las lesiones, que suelen ser leves, se localizan en ciego y colon e incluyen erosiones multifocales en la mucosa con efusión de fibrina (Yaeger, Funk y Hoffman, 2002). En la mayoría de lechones hay colitis y tiflocolitis (Uzal y Songer, 2019).

## Diagnóstico

Dado que *Cl. difficile* es frecuente en lechones sanos, es necesario confirmar la presencia de las toxinas A y B junto con el aislamiento de la bacteria a partir de las heces o el colon (Uzal *et al.*, 2016).

## Tratamiento y prevención

No se ha estudiado inmunoprolaxis en la diarrea neonatal producida por *Cl. difficile* en lechones (Uzal y Songer, 2019).

## 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La diarrea neonatal es uno de los problemas más frecuentes en la producción porcina intensiva. Su importancia radica en las pérdidas económicas derivadas del aumento de mortalidad y retraso del crecimiento de los lechones, junto con los costes del tratamiento de la enfermedad (Sjölund, Zoric y Wallgren, 2014). La etiología de este síndrome es multifactorial, aunque entre las causas desencadenantes se incluyen numerosos microorganismos de etiología bacteriana, vírica o parasitaria. Entre ellos destacan *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *Clostridium perfringens* C, virus de la diarrea epidémica porcina (PDEV), virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV), rotavirus y *Cystoisospora suis*, aunque en los últimos años la aparición de diarreas asociadas a *Clostridium perfringens* A y *Clostridioides difficile* han ido en aumento (Larsson, 2016). Entre los diferentes métodos diagnósticos, la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) ha demostrado ser una de las técnicas más fiables y útiles al permitir detectar simultáneamente varios agentes a partir de la misma muestra clínica (Shi *et al.*, 2016). Teniendo en cuenta estos antecedentes, en el presente trabajo fin de grado nos hemos planteado los siguientes objetivos.

### Objetivos

Determinar la prevalencia de distintos enteropatógenos en brotes de diarrea neonatal porcina de diversas provincias de España a partir de los diagnósticos de un laboratorio veterinario mediante RT-PCR, durante el periodo enero 2020- diciembre 2020.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### Revisión bibliográfica

La revisión bibliográfica se ha llevado a cabo mediante la búsqueda de literatura especializada (libros, artículos científicos) en diversas plataformas como ScienceDirect, PubMed, Web of Science y Google Académico. El algoritmo de palabras clave utilizado ha sido el siguiente: “neonatal diarrea in suckling piglets”, “coccidia in swine”, “*Cystoisospora suis*”, “swine pathology”, “RT-PCR”, “*Clostridium*”, “rotavirus in swine”, “*Clostridioides difficile*”, “PEDV”. Las citas y referencias bibliográficas se han gestionado con la plataforma Mendeley.

### Estudio de la prevalencia de enteropatógenos

El análisis de datos para determinar la prevalencia de enteropatógenos en casos de diarrea neonatal porcina se ha desarrollado sobre la base de datos cedida por EXOPOL S.L., laboratorio especializado en diagnóstico veterinario ubicado en la provincia de Zaragoza. En dicha base se dispone de los datos diagnósticos resultantes del “panel digestivo lactante”, en el cual se ofrece la detección simultánea de diferentes agentes causantes de enfermedad en lechones neonatos mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) sobre muestras procedentes de animales con diarrea.

En concreto el panel digestivo lactante que se ofrece a las explotaciones porcinas incluye la detección de Rotavirus tipo A, Rotavirus tipo C, PEDV, *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile*, *Eimeria spp.* y *Cystoisospora suis*. No se han incluido en el análisis los resultados sobre factores de virulencia de *E. coli* (*E. coli* gen eae, F4, F5, F6, F41, F18, STa, STb, LT, STX2e, AIDA, EAST, *Escherichia coli* total) o diversos toxinotipos de *Clostridium perfringens* (toxinas Beta, Epsilon, Iota, Enterotoxina, Beta 2), que también se pueden analizar a criterio veterinario en determinadas ocasiones, pero que no se investigaron en la totalidad de las muestras sujetas al presente estudio y por tanto fueron excluidos.

Para el análisis de datos se ha utilizado la plataforma Excel, investigando la prevalencia global de los distintos enteropatógenos en brotes de diarrea neonatal de las explotaciones que remitieron muestras durante el periodo de estudio (enero a diciembre de 2020), así como las diferencias observadas en función de la ubicación de las explotaciones o la edad de los animales. En este sentido, las muestras analizadas se han filtrado según la variable “edad” en dos grupos,

atendiendo al criterio utilizado por el laboratorio, como muestras procedentes de los lechones de una edad menor o igual a 15 días y mayores de 15 días.

La prevalencia de enteropatógenos no se ha determinado de forma individual, sino conjuntamente a partir de todas las muestras que fueron remitidas de las explotaciones en cada uno de los brotes de diarrea. En aquellas granjas que remitieron muestras de forma sucesiva a lo largo del periodo de estudio, se han considerado brotes diferentes cuando el tiempo transcurrido entre un envío y el siguiente fue de 1 mes como mínimo. La práctica totalidad de las muestras fueron remitidas de explotaciones ubicadas en distintas provincias españolas, aunque también se incluyeron en el estudio 2 brotes de granjas ubicadas en Portugal. No obstante, para comparar la prevalencia de cada enteropatógeno en las diferentes provincias únicamente se consideraron aquéllas más representativas, concretamente 4 provincias (Zaragoza, Barcelona, Huesca y Lleida) en cada una de las cuales se diagnosticaron más de 30 brotes, que suponen más del 50% del total de las muestras estudiadas.

#### Análisis estadístico

Para comparar la prevalencia de los diferentes enteropatógenos y las diferencias en función de la edad o la provincia de origen de los brotes se han realizado pruebas de Chi-cuadrado utilizando la aplicación Win Episcope 2.0 (<http://www.winepi.net/>). Se tomó un valor  $p < 0.05$  para considerar la diferencia estadísticamente significativa.

## 5. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se analizaron en el laboratorio muestras fecales de cerdos lactantes pertenecientes a 472 brotes de diarrea neonatal acontecidos en 315 explotaciones de 35 provincias de España, junto con dos brotes de granjas situadas en Portugal. Casi el 80% de los brotes se registraron en 10 provincias, con un mínimo de 10 brotes en la provincia de Ávila y un máximo de 102 brotes en la provincia de Zaragoza, donde se ubica el laboratorio diagnóstico. Cabe destacar las provincias Zaragoza, Barcelona, Huesca, Girona, donde se concentraron más de la mitad de los brotes analizados (n: 257). En las 25 provincias restantes, el número de brotes analizados osciló entre 1 y 8, junto con dos brotes analizados en Portugal de distinta procedencia (Tabla 1, Figura 1).



brotos y explotaciones). Entre los virus destaca la presencia de Rotavirus A (RVA) y rotavirus C (RVC), que fueron identificados en aproximadamente el 40% y 30% de los brotes, respectivamente, mientras que el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) tuvo una presencia más esporádica (aprox. 6% de los brotes). En relación con la prevalencia de coccidios, la mayoría de casos de diarrea neonatal de etiología parasitaria fueron ocasionados por *Cystoisospora suis*, responsable de casi el 20% de los brotes, mientras que en tan sólo cuatro se obtuvo un resultado positivo para *Eimeria* sp. El estudio estadístico reveló diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de los distintos enteropatógenos ( $p$ : 0.0218 entre RVA y RVC;  $p$  < 0.0001 para el resto de enteropatógenos).

Las infecciones mixtas por varios microorganismos fue la norma habitual en la etiología de los brotes de diarrea, ya que en más del 88% de los mismos (n: 416) se identificaron al menos dos patógenos diferentes. En 50 brotes (10.6%) se identificó un único microorganismo y sólo 6 brotes (1.3%) fueron negativos a la totalidad de enteropatógenos analizados.

**Tabla 2: Prevalencia de diversos enteropatógenos en brotes diarreicos en lechones lactantes de distintas explotaciones de la península ibérica**

Enteropatógeno	Número de brotes (n=472)	Número de granjas (n=315)
<i>Clostridium perfringens</i>	439 (93%)	304 (96.5%)
<i>Clostridioides difficile</i>	284 (60.2%)	216 (68.6%)
<i>Eimeria</i> sp.	4 (0.9%)	3 (1%)
<i>Cystoisospora suis</i>	88 (18.6%)	67 (21.3%)
PEDV	28 (5.9%)	22 (7%)
Rotavirus A	191 (40.5%)	146 (46.4%)
Rotavirus C	157 (33.3%)	123 (39.1%)
No detectado	6 (1.3%)	6 (1.9%)

En las Tablas 3 y 4 y en la Figura 2 se muestran los resultados del análisis de brotes diarreicos en función de la edad. La mayoría de brotes analizados (n: 435) correspondían a lechones menores de 15 días, en los cuales apenas se observaron diferencias en la distribución de los distintos enteropatógenos en comparación con los datos globales anteriormente indicados. Concretamente, en este grupo de edad y por orden decreciente de prevalencia se identificaron *C. perfringens*, *Cl. difficile*, RVA, RVC, *C. suis*, PEDV y *Eimeria* spp. El estudio estadístico reveló diferencias significativas entre la prevalencia de los distintos enteropatógenos en los lechones menores de 15 días ( $p$  < 0.0010), exceptuando la prevalencia de RVA respecto a RVC ( $p$ : 0.2057).

**Tabla 3: Prevalencia de diversos enteropatógenos en brotes diarreicos en lechones menores de 15 días de distintas explotaciones de la península ibérica**

Enteropatógeno	Número de brotes (n=435)	Número de granjas (n=305)
<i>Clostridium perfringens</i>	408 (93.8%)	293 (96.1%)
<i>Clostridioides difficile</i>	277 (63.7%)	214 (70.2%)
<i>Eimeria</i> sp.	4 (0.9%)	3 (1%)
<i>Cystoisospora suis</i>	74 (17%)	62 (20.3%)
PEDV	20 (4.6%)	18 (5.9%)
Rotavirus A	169 (38.9%)	136 (44.6%)
Rotavirus C	151 (34.7%)	120 (39.3%)
No detectado	6 (1.4%)	6 (2%)

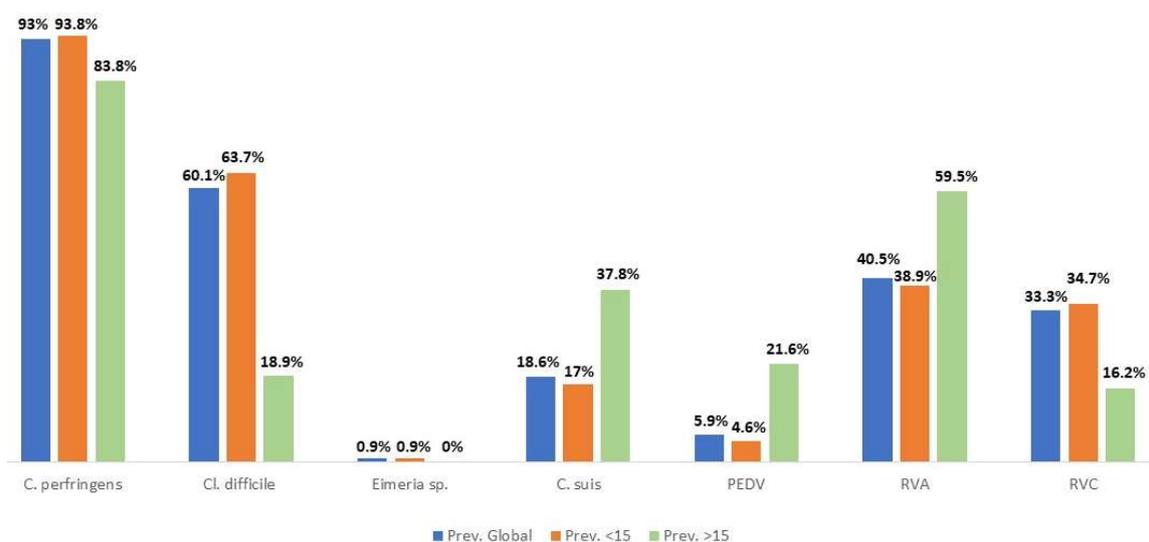
La distribución de enteropatógenos fue sin embargo muy diferente en los lechones mayores de 15 días, en los que nuevamente se observa un claro predominio de *C. perfringens* en la etiología de la mayoría de los brotes, pero en este caso aparecen RVA e *C. suis* como segundo y tercer microorganismo más prevalentes. También destaca en este grupo de edad la presencia de PEDV, que se identificó en más del 20% de los brotes, mientras que *Cl. difficile* y RVC fueron mucho menos prevalentes que en lechones más jóvenes. El estudio estadístico revela como datos más destacables la existencia de diferencias significativas entre la prevalencia de *C. perfringens* y el resto de patógenos ( $p < 0.05$ ), así como entre RVA y RVC, con un porcentaje significativamente superior en el caso de los primeros ( $p < 0.0001$ ).

**Tabla 4: Prevalencia de diversos enteropatógenos en brotes diarreicos en lechones mayores de 15 días de distintas explotaciones de la península ibérica**

Enteropatógeno	Número de brotes (n=37)	Numero de granjas (n=29)
<i>Clostridium perfringens</i>	31 (83.8%)	26 (89.7%)
<i>Clostridioides difficile</i>	7 (18.9%)	6 (20.7%)
<i>Eimeria</i> sp.	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<i>Cystoisospora suis</i>	14 (37.8%)	10 (34.5%)
PEDV	8 (21.6%)	5 (17.2%)
Rotavirus A	22 (59.5%)	19 (65.5%)
Rotavirus C	6 (16.2%)	5 (17.2%)
No detectado	-	-

El estudio estadístico también revela diferencias significativas en la prevalencia de cada enteropatógeno cuando se comparan los lechones mayores y menores de 15 días, exceptuando el porcentaje de parasitados por *Eimeria* sp. que fue muy bajo en ambos casos ( $p < 0.05$ ).

**Figura 2: Diagrama comparativo de las prevalencias de los distintos enteropatógenos tanto globales como separadas por grupos de edad (% positivos).**



Tal como se ha señalado anteriormente, la comparativa de prevalencia de enteropatógenos en función de la procedencia de las muestras únicamente se hizo en las cuatro provincias más representativas, concretamente aquellas donde se registraron al menos 30 brotes de diarrea (Tabla 5). En las explotaciones de Zaragoza, Barcelona y Girona fueron *C. perfringens*, *Cl. difficile* y RVA los microorganismos más prevalentes, mientras que en los brotes de la provincia de Huesca se identificaron con más frecuencia RVC que RVA.

En cuanto a las diferentes prevalencias de un mismo patógeno en cada provincia, el análisis indicó que la diferencia de *C. perfringens* en las distintas provincias no era significativa ( $p > 0.05$ ), así como en el caso de la prevalencia de *Cl. Difficile* en las provincias de Barcelona-Huesca ( $p: 0.6626$ ) y Zaragoza-Girona ( $p: 0.4275$ ). En el caso de *C. suis*, solo la diferencia entre las prevalencias en Zaragoza y Barcelona resultó ser estadísticamente significativa ( $p: 0.0311$ ), el resto de comparaciones no mostraron significancia estadística ( $p: >0.05$ ). Las distintas prevalencias de RVC en las diferentes provincias no resultaron ser significativas ( $p > 0.05$ ) y en el caso de RVA solo entre Zaragoza-Huesca y Huesca-Girona se demostró significancia estadística ( $p < 0.02$ ).

**Tabla 5: Prevalencia de diversos enteropatógenos en lechones con diarrea en las cuatro provincias donde se analizaron al menos 30 brotes diarreicos**

	<b>Zaragoza</b>		<b>Barcelona</b>		<b>Huesca</b>		<b>Girona</b>	
	(n=102)		(n=70)		(n=53)		(n=34)	
	Brotos	%	Brotos	%	Brotos	%	Brotos	%
<i>C. perfringens</i>	90	88.24	66	94.29	52	98.11	32	94.12
<i>Cl. Difficile</i>	56	54.90	49	70.00	39	73.58	16	47.06
<i>Eimeria</i> sp.	2	1.96	0	0.00	0	0.00	2	5.88
<i>C. suis</i>	27	26.47	9	12.86	10	18.87	9	26.47
PEDV	12	11.76	3	4.29	0	0.00	0	0.00
Rotavirus A	46	45.10	26	37.14	14	26.42	18	52.94
Rotavirus C	34	33.33	24	34.29	20	37.74	7	20.59

## 6. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se trabajó con los resultados procedentes de análisis mediante PCR a tiempo real, una herramienta molecular altamente sensible para diagnosticar las causas infecciosas de la diarrea neonatal porcina. De hecho, en un 98.7% de los brotes investigados se detectó al menos uno de los siete patógenos estudiados, lo cual también demuestra que son microorganismos comúnmente relacionados con la etiología de la diarrea en lechones. Por otra parte, cabe destacar que en casi el 90% de los brotes se detectaron dos o más patógenos, lo cual revela que las infecciones mixtas son habituales en el origen de la diarrea neonatal, hallazgo ya destacado en estudios previos realizados en nuestro país (Mesonero-Escuredo *et al.*, 2018; Vidal *et al.*, 2019; Monteagudo *et al.*, 2022).

*Clostridium perfringens* fue el enteropatógeno más prevalente, apareciendo en el 93% de los brotes analizados y 96.5% de las explotaciones, destacando especialmente su presencia en lechones menores de 15 días. No obstante, la implicación de este patógeno en la etiología de la diarrea en el presente estudio no está clara, ya que la prueba de PCR utilizada detecta la toxina Alpha, que es producida por todos los toxinotipos de *C. perfringens*. Algunos de ellos, como *C. perfringens* tipo C están claramente reconocidos como causa importante de enteritis en lechones, pero esta circunstancia no es tan evidente en otros como *C. perfringens* tipo A, que se consideran parte de la microbiota intestinal de los lechones (Kongsted *et al.*, 2018).

El segundo microorganismo más frecuente fue *Cl. difficile*, considerado un patógeno potencial en lechones durante la primera semana de vida (Larsson, 2016). El porcentaje de brotes y explotaciones positivas fue en este caso superior al 60%, siendo mucho más común en lechones menores de 15 días (63.7% de los brotes) en comparación con lechones mayores de esa edad (18.9%). La implicación de esta bacteria en la etiología de las diarreas en lechones es de nuevo controvertida, ya que algunos estudios revelan que *Cl. difficile* es tan frecuente en animales enfermos como en los sanos (Vidal *et al.*, 2019). No obstante, parece que la dosis infectante y la edad de los animales desempeñan un papel fundamental en la evolución de las infecciones por este microorganismo (Arruda *et al.*, 2013). Un estudio reciente en España indica prevalencias similares a la del presente estudio para *C. perfringens* y *C. difficile*, 89.4% y 64.4% respectivamente (Monteagudo *et al.*, 2022).

En un número muy representativo de brotes se identificó la presencia de rotavirus, tanto RVA (40.5% de brotes positivos) como RVC (33.3%). Los RVA fueron frecuentes en ambos grupos de edad, pero su presencia destacó de manera muy significativa en lechones mayores de 15 días en comparación con los más jóvenes (59.5% *versus* 38.9%), La implicación de RVA en la etiología de la diarrea en lechones es incuestionable (Kongsted *et al.*, 2018). Estudios previos realizados en nuestro país señalan valores de prevalencia en lechones con diarrea que oscilan entre 43.1% y 61,4% y la comparación con los porcentajes de infección en lechones sanos lo confirman como el único enteropatógeno estadísticamente correlacionado con la etiología de la diarrea (Mesonero-Escuredo *et al.*, 2018; Vidal *et al.*, 2019). Los RVC se pueden considerar microorganismos emergentes, ya que son detectados cada vez con más frecuencia en lechones con diarrea en diversos países (Vlasova *et al.*, 2017). La información sobre su presencia en nuestro país es muy limitada, habiéndose indicado porcentajes de aparición que oscilan entre 13,9% y 33,6% (Zhou *et al.*, 2016; Vidal *et al.*, 2019).

Los resultados de este estudio mostraron PEDV como el agente vírico menos prevalente y extendido de los analizados en el conjunto de muestras analizadas, siendo detectado en un 5.9% de brotes. Estos valores son similares a los registrados en otros estudios realizados en nuestro país, con cifras que oscilan entre 3,7% y 5% (Mesonero-Escudero *et al.*, 2018; Monteagudo *et al.*, 2022). No obstante, nuestros datos revelan que la presencia de estos virus se incrementa considerablemente en lechones mayores de 15 días, con una prevalencia que en este grupo asciende a 21.6% y supera la de otros microorganismos habituales como *Cl. difficile* o RVC, lo que indica que PEDV no tiene un papel tan secundario en la diarrea neonatal porcina de las explotaciones españolas cuando los lechones superan las dos semanas de vida.

En este estudio también se investigó la prevalencia de coccidios, *Cystoisospora suis* y *Eimeria* sp., considerados los principales parásitos causantes de diarrea en lechones. Las especies del género *Eimeria* pueden aparecer en cualquier grupo de edad, pero son más frecuentes en las cerdas (Joachim y Schwarz, 2015). Nuestros hallazgos así lo constatan, ya que su presencia fue confirmada en menos del 1% de los brotes de diarrea. Por el contrario, *C. suis* aparece más comúnmente en lechones lactantes, debido a que se adquiere una importante resistencia con la edad y a partir de las 3 semanas son más comunes las infecciones subclínicas (Joachim y Shrestha, 2020). Los resultados del estudio también constatan esta circunstancia y su presencia en más del 18% de los brotes de diarrea permiten considerarlo un enteropatógeno relevante, incluyendo animales que han superado las dos semanas de vida. De hecho, la prevalencia en este grupo de edad (37.8%) duplica la observada en lechones menores de 15 días (17%).

## 7. CONCLUSIONES

**Primera.** Los microorganismos investigados en el presente trabajo (*C. perfringens*, *Cl. difficile*, RVA, RVC, PEDV, coccidios) se pueden considerar los más relevantes a incluir en un panel diagnóstico de diarrea neonatal porcina, ya que en prácticamente el 100% de los brotes analizados se confirmó la presencia de alguno de ellos.

**Segunda.** En la gran mayoría de los brotes investigados se identifican infecciones mixtas por al menos dos microorganismos, lo que indica la etiología multifactorial de la diarrea neonatal en lechones.

**Tercera.** *Clostridium perfringens* y *Clostridioides difficile* son los microorganismos más frecuentemente identificados en lechones con diarrea, aunque la prevalencia de este último se reduce de forma muy significativa cuando los animales superan los 15 días de vida.

**Cuarta.** En más de un tercio de los brotes de diarrea se puede identificar la presencia de rotavirus A y/o rotavirus C, aunque en lechones mayores de 15 días se incrementa considerablemente la frecuencia con la que aparecen los RVA, superando más de la mitad de los brotes, en detrimento de los RVC cuya prevalencia se reduce.

**Quinta.** El virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) tiene escasa relevancia en la etiología de la diarrea en lechones menores de 15 días de vida, pero esta circunstancia se invierte en lechones que superan esta edad, en los que se identifica en más de un quinto de los brotes de diarrea, superando la frecuencia con la que aparecen otros microorganismos habituales como *Cl. difficile* o RVC.

**Sexta.** *Cystoisospora suis* es el principal coccidio diagnosticado en casos de diarrea neonatal en lechones, siendo destacable su presencia en lechones mayores de dos semanas de vida, en los que la prevalencia duplica la observada en los menores de esta edad.

## 7. CONCLUSIONS

**First.** The microorganisms analyzed in the present study (*C. perfringens*, *Cl. difficile*, RVA, RVC, PEDV, coccidia) can be considered the most relevant enteropathogens to be included in a diagnostic panel for suckling pig diarrhea. The presence of at least one of these microorganisms was identified in almost 100% of diarrheic outbreaks.

**Second.** Diarrhea in suckling piglets can be considered a multifactorial pathology, since two or more microorganisms were identified in most diarrheic outbreaks analyzed in this study.

**Third.** *Clostridium perfringens* and *Clostridioides difficile* are the most common microorganisms identified in diarrheic piglets; nevertheless, the prevalence of *Cl. difficile* is significantly reduced in piglets older than 15 days.

**Fourth.** Rotavirus A and/or Rotavirus C were found in most than one third of diarrheic outbreaks. In piglets older than 15 days, the prevalence of RVA significantly increased to reach more than a half of diarrheic outbreaks, while the prevalence of RVC significantly decreased as compared to piglets younger than 15 days.

**Fifth.** The porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) can be considered a minor enteropathogen in diarrheic piglets younger than 15 days. In contrast, this virus was reported in more than a fifth of diarrheic outbreaks in piglets older than 15 days, exceeding the prevalence of other common enteropathogens such as *Cl. difficile* o RVC.

**Sixth.** *Cystoisospora suis* can be considered the main coccidia in neonatal piglet diarrhea. The prevalence of this protozoan in piglets older than two weeks doubles the infection rates reported in younger piglets.

## 8. VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este trabajo me ha permitido conocer más a fondo uno de los principales problemas de la producción porcina, así como el desarrollo de competencias en el ámbito de investigación mediante la búsqueda de artículos científicos de calidad y el procesado y análisis de datos posterior.

En segundo lugar, dar las gracias a mis tutores Joaquín Quílez Cinca y Alfredo Benito Zúñiga por su implicación, inagotable paciencia y orientación durante la realización del presente trabajo. Agradecer enormemente a Exopol S.L. haber hecho posible la elaboración de este estudio mediante la cesión de los resultados analíticos, así como por el excelente trato recibido en la visita a sus instalaciones.

Por último, agradecer a mi familia y amigos todo el apoyo recibido durante toda mi etapa en la Universidad de Zaragoza, especialmente en este último año.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

Ruiz, V. L., Bersano, J. G., Carvalho, A. F., Catroxo, M. H., Chiebao, D. P., Gregori, F., Miyashiro, S., Nassar, A. F., Oliveira, T. M., Ogata, R. A., Scarcelli, E. P. y Tonietti, P. O. (2016). "Case-control study of pathogens involved in piglet diarrhea". *BMC Research Notes*. DOI: 10.1186/s13104-015-1751-2

Alexander, T. J. L. (1981). "Piglet Diarrhoea: A Guide to Diagnosis and Control". *British Veterinary Journal*, 137(6), pp. 651–662. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(17\)31546-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)31546-4)

Andrews, J. J., Holter, J. A., Daniels, G.N., Larson, D. J., Van Alstine, W. C., Miskimins, D. W. y Schwartz, K. J. (1986). "Diagnostic necropsy of suckling swine". *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 2(1), pp. 159–172. DOI: 10.1016/S0749-0720(15)31275-5

Arruda, P. H., Madson, D. M., Ramirez, A., Rowe, E., Lizer, J. T., y Songer, J. G. (2013). "Effect of age, dose and antibiotic therapy on the development of *Clostridium difficile* infection in neonatal piglets". *Anaerobe*, 22, pp. 104–110. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.010

Barta, J. R., Schrenzel, M. D., Carreno, R. y Rideout, B. A. (2005). "The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the Genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting Mammals". *Journal of Parasitology*, 91(3), pp. 726–727. DOI: 10.1645/GE-3341.1

Bowman, A. S., Nolting, J. M., Nelson, S. W., Bliss, N., Stull, J. W., Wang, Q. y Premanandan, C. (2015). "Effects of disinfection on the molecular detection of porcine epidemic diarrhea virus". *Veterinary Microbiology*, 179(3–4), pp. 213–218. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.05.027

- Carstens, E. B. (2010). "Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009)". *Archives of Virology*, 155(1), pp. 133–146. DOI: 10.1007/s00705-009-0547-x
- Chandler-Bostock, R. y Mellits, K. H. (2015). "Efficacy of disinfectants against porcine rotavirus in the presence and absence of organic matter".. *Letters in Applied Microbiology*, 61(6), pp. 538–543. DOI: 10.1111/lam.12502
- Chen, Q., Gauger, P. C., Stafne, M.R., Thomas, J. T., Madson, D. M., Huang, H., Zheng, Y., Li, G. y Zhang, J.(2016). "Pathogenesis comparison between the United States porcine epidemic diarrhoea virus prototype and S-INDEL-variant strains in conventional neonatal piglets".. *Journal of General Virology*, 97(5), pp. 1107–1121. DOI: 10.1099/jgv.0.000419
- Cooper, V. L. (2000). "Diagnosis of neonatal pig diarrhea". *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 16(1), pp. 117–133. DOI: 10.1016/S0749-0720(15)30139-0
- Costantini, V., Lewis, P., Alsop, J., Templeton, C. y Saif, L. J. (2004). "Respiratory and fecal shedding of Porcine respiratory coronavirus (PRCV) in sentinel weaned pigs and sequence of the partial S-gene of the PRCV isolates".. *Archives of Virology*, 149(5), pp. 957–974. DOI: 10.1007/s00705-003-0245-z
- Coussement, W., Ducatelle, R., Debouck, P. y Hoorens, J. (1982). "Pathology of Experimental CV777 Coronavirus Enteritis in Piglets. I. Histological and Histochemical Study". *Veterinary Pathology*, 19(1), pp. 46–56. DOI: 10.1177/030098588201900108
- Dauguschies, A., Bialek, R., Joachim, A. y Mundt, H. C. (2001). "Autofluorescence microscopy for the detection of nematode eggs and protozoa, in particular *Isospora suis*, in swine faeces". *Parasitology Research*, 87(5), pp. 409–412. DOI: 10.1007/s004360100378
- Dauguschies, A., Imarom, S., Ganter, M., y Bollwahn, W. (2004). "Prevalence of *Eimeria* spp. in sows at piglet-producing farms in Germany". *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 51(3), pp. 135–139. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2004.00734.x
- Dauguschies, A., Imarom, S. y Bollwahn, W. (1999). "Differentiation of porcine *Eimeria* spp. by morphologic algorithms". *Veterinary Parasitology*, 81(3), pp. 201–210. DOI: 10.1016/S0304-4017(98)00246-5
- Debouck, P., Pensaert, M. y Coussement, W. (1981). "The pathogenesis of an enteric infection in pigs, experimentally induced by the coronavirus-like agent, CV 777". *Veterinary Microbiology*, 6(2), pp. 157–165. DOI: 10.1016/0378-1135(81)90007-9
- Joachim, A. y Shrestha, A. (2020). "Coccidiosis of pigs". En: Dubey, J. P. (Coord.) *Coccidiosis in Livestock, Poultry, Companion Animals, and Humans*. Boca Ratón: CRC Press, pp. 125-145.

- Dubreuil, J. D., Isaacson, R. E. y Schifferli, D. M. (2016). "Animal Enterotoxigenic Escherichia coli". *EcoSal Plus.*, 7(1). DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2016
- Ducatelle, R. et al. (1982). "Pathology of Experimental CV777 Coronavirus Enteritis in Piglets. II. Electron Microscopic Study". *Veterinary Pathology*, 19, pp. 57–66. DOI: 10.1177/030098588201900109
- Enjuanes, L. y van der Zeijst, B. A. M. (1995). "Molecular Basis of Transmissible Gastroenteritis Virus Epidemiology". En: Siddell, S. G. (Coord.) *The Coronaviridae*. Boston: Springer pp. 337–376.
- Fairbrother, J. M. y Nadeau, É. (2019). "Colibacillosis". En: Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, F. J., Stevenson, G. W. y Zhang, J. *Diseases of Swine*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, pp. 807–834.
- Forman, A. J. (1991). "Infection of pigs with transmissible gastroenteritis virus from contaminated carcasses". *Australian veterinary journal*, 68(1), pp. 25–27. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1991.tb09838.x
- Frontera, E. M. y Serrano, F. J. (2009). "Coccidiosis". En: Frontera, E. M., Perez, J. E., Alcaide, M. y Reine, D. *Patología parasitaria porcina en imágenes*. Zaragoza: Servet editorial-Grupo Asís Biomedica S.L., pp. 3–16.
- Gordon, R. K., Kotowski, I. K., Coulson, K. F., Link, D., MacKenzie, A. y Bowling-Heyward, J. (2019). "The Role of Non-animal Origin Feed Ingredients in Transmission of Viral Pathogens of Swine: A Review of Scientific Literature". *Frontiers in Veterinary Science*, 6. DOI: 10.3389/fvets.2019.00273
- Haas, B., Ahl, R., Böhm, R., y Strauch, D. (1995). "Inactivation of viruses in liquid manure". *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 14(2), pp. 435–445. DOI: 10.20506/rst.14.2.844
- Harleman, J. H. y Meyer, R. C. (1984). "Life cycle of *Isospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets". *Veterinary Parasitology*, 17(1), pp. 27-39. DOI: 10.1016/0304-4017(84)90062-1
- Helke, K. L., Ezell, P. C., Duran-Struuck, R. y Swindle, M. M. (2015). "Chapter 16 - Biology and Diseases of Swine". En: Fox, J. G. (Coord.). *Laboratory Animal Medicine*. London: Elsevier Inc, 695-769.
- Hinney, B., Cvjetković, V., Espigares, D., Vanhara, J., Waehner, C., Ruttkowski, B., Selista, R., Sperling, D., y Joachim, A. (2020). "Cystoisospora suis Control in Europe Is Not Always Effective". *Frontiers in Veterinary Science*, 7(March), pp. 1–8. DOI: 10.3389/fvets.2020.00113
- Holland, R. E. (1990). "Some infectious causes of diarrhea in young farm animals". *Clinical Microbiology Reviews*, 3(4), pp. 345–375. DOI: 10.1128/CMR.3.4.345

- Homwong, N., Diaz, A., Rossow, S., Ciarlet, M., y Marthaler, D. (2016). "Three-level mixed-effects logistic regression analysis reveals complex epidemiology of swine rotaviruses in diagnostic samples from North America". *PLoS ONE*, 11(5), pp. 1–12. DOI: 10.1371/journal.pone.0154734
- Hurley, W. L. (2015). "Composition of sow colostrum and milk". En: Farmer, C. (Coord.). *The Gestating and Lactating Sow*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, pp 193-230.
- Ishikawa, K., Sekiguchi, H., Ogino, T., y Suzuki, S. (1997). "Direct and rapid detection of porcine epidemic diarrhea virus by RT-PCR". *Journal of Virological Methods*, 69(1–2), pp. 191–195. DOI: 10.1016/S0166-0934(97)00157-2
- Janke, B. H., Nelson, J. K., Benfield, D. A., y Nelson, E. A. (1990). "Relative prevalence of typical and atypical strains among rotaviruses from diarrheic pigs in conventional swine herds". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(4), pp. 308–311. DOI: 10.1177/104063879000200410
- Janoir, C. (2016). "Virulence factors of *Clostridium difficile* and their role during infection". *Anaerobe*, 37, pp. 13–24. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.009
- Joachim, A., Ruttkowski, B., Zimmermann, M., Dauschies, A., y Mundt, H. C. (2004). "Detection of *Isospora suis* (Biester and Murray 1934) in piglet faeces - Comparison of microscopy and PCR". *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 51(3), pp. 140–142. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2004.00736.x
- Joachim, A., Shrestha, A., Freudenschuss, B., Palmieri, N., Hinney, B., Karembe, H., y Sperling, D. (2018). "Comparison of an injectable toltrazuril-gleptoferron (Forceris®) and an oral toltrazuril (Baycox®) + injectable iron dextran for the control of experimentally induced piglet cystoisosporosis". *Parasites and Vectors*, 11(1), pp. 1–7. DOI: 10.1186/s13071-018-2797-5
- Joachim, A. y Mundt, H. C. (2011). "Efficacy of sulfonamides and Baycox® against *Isospora suis* in experimental infections of suckling piglets". *Parasitology Research*, 109(6), pp. 1653–1659. DOI: 10.1007/s00436-011-2438-9
- Joachim, A., Ruttkowski, B. y Sperling, D. (2018). "Detection of *Cystoisospora suis* in faeces of suckling piglets - when and how? A comparison of methods". *Porcine Health Management*, 4(1), pp. 1–11. DOI: 10.1186/s40813-018-0097-2
- Joachim, A. y Schwarz, L. (2015). "Coccidia of Swine: *Eimeria* Species, *Cystoisospora* (syn. *Isospora*) *suis*". En: Heinz, M. (Coord.) *Encyclopedia of Parasitology*. Berlin: Springer, 537-541.
- Johansen, M., Alban, L., Kjaersgård, H. D., y Baekbo, P. (2004). "Factors associated with suckling piglet average daily gain". *Preventive Veterinary Medicine*, 63(1–2), pp. 91–102. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2004.01.011

- Jung, K., Annamalai, T., Lu, Z., y Saif, L. J. (2015). "Comparative pathogenesis of US porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain PC21A in conventional 9-day-old nursing piglets vs. 26-day-old weaned pigs". *Veterinary Microbiology*, 178(1–2), pp. 31–40. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.04.022
- Jung, K., Saif, L. J. and Wang, Q. (2020). "Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): An update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control". *Virus Research*, 286. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198045
- Kaper, J. B., Nataro, J. P. and Mobley, H. L. T. (2004). "Pathogenic Escherichia coli". *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), pp. 123–140. DOI: 10.1038/nrmicro818
- Kim, H. H., Park, J. G., Matthijnsens, J., Kim, H. J., Kwon, H. J., Son, K. Y., Ryu, E. H., Kim, D. S., Lee, W. S., Kang, M. I., Yang, D. K., Lee, J. H., Park, S. J., y Cho, K. O. (2013). "Pathogenicity of porcine G9P[23] and G9P[7] rotaviruses in piglets". *Veterinary Microbiology*, 166(1–2), pp. 123–137. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.05.024
- Kim, O. y Chae, C. (2003). "Experimental infection of piglets with a Korean strain of porcine epidemic diarrhoea virus". *Journal of Comparative Pathology*, 129(1), pp. 55–60. DOI: 10.1016/S0021-9975(02)00170-6
- Kim, S. Y., Song, D. S. y Park, B. K. (2001). "Differential detection of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus by duplex RT-PCR". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13(6), pp. 516–520. DOI: 10.1177/104063870101300611
- Kongsted, H., Stege, H., Toft, N. y Nielsen, J. P. (2014). "The effect of new neonatal porcine diarrhoea syndrome (NNPDS) on average daily gain and mortality in 4 Danish pig herds". *BMC Veterinary Research*, 10(1), pp. 1–7. DOI: 10.1186/1746-6148-10-90
- Kongsted, H., Pedersen, K., Hjulsager, C. K., Larsen, L. E., Pedersen, K. S., Jorsal, S. E. y Baekbo, P. (2018). "Diarrhoea in neonatal piglets: A case control study on microbiological findings". *Porcine Health Management*, 4(1), pp. 1–7. DOI: 10.1186/s40813-018-0094-5
- Larsson, J. (2016). Neonatal Porcine Diarrhoea. Aspects on Aetiology and Pathology. Doctoral Thesis. Swedish University Of Agricultural sciences. Disponible en: [http://pub.epsilon.slu.se/13024/1/larsson\\_j\\_160205.pdf](http://pub.epsilon.slu.se/13024/1/larsson_j_160205.pdf).
- Lecce, J. G., King, M. W. y Dorsey, W. E. (1978). "Rearing Regimen Producing Piglet Diarrhea (Rotavirus) and Its Relevance to Acute Infantile Diarrhea". *Science*, 199, pp. 776–778. DOI: 10.1126/science.203032
- Lee, C. (2015). "Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus". *Virology Journal*, 12(1), pp. 1–16. DOI: 10.1186/s12985-015-0421-2

- Lin, C. M., Saif, L. J., Marthaler, D., y Wang, Q. (2016). "Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains". *Virus Research*, 226, pp. 20–39. DOI: 10.1016/j.virusres.2016.05.023
- Lindsay, D. S., Current, W. L. y Ernst, J. V. (1982). "SPOROLOGY OF ISOSPORA SUI BIESTER, 1934 OF SWINE". *The Journal of Parasitology*. 68(5), pp. 861–865. DOI: 10.2307/3280994
- Lindsay, D. S., Blagburn, B. L. y Boosinger, T. R. (1987). "Experimental Eimeria deblickei infections in nursing and weaned pigs". *Veterinary Parasitology*, 25(1), pp. 39–45. DOI: 10.1016/0304-4017(87)90063-X
- Lindsay, D. S., Dubey, J. P. y Santín-Durán, M. (2019). "Coccidia and Other Protozoa". En: Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, F. J., Stevenson, G. W. y Zhang, J. *Diseases of Swine*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, pp. 1015–1027.
- Liu, Q. y Gerdts, V. (2021). "Transmissible Gastroenteritis Virus of Pigs and Porcine Epidemic Diarrhea Virus (Coronaviridae)". En: Bramford, D. and Zuckerman, M. *Encyclopedia of Virology*. Amsterdam: Elsevier Ltd., pp 850-853
- Liu, X. y Wang, Q. (2016). "Reverse transcription-PCR assays for the differentiation of various US porcine epidemic diarrhea virus strains". *Journal of Virological Methods*, 234, pp. 137–141. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.04.018
- Luppi, A. (2017). "Swine enteric colibacillosis: diagnosis, therapy and antimicrobial resistance". *Porcine Health Management*, 3(1), p. 16. DOI: 10.1186/s40813-017-0063-4.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2021). "El sector de la carne de cerdo en cifras". pp. 1–11. Disponible en: [https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/indicadoreseconomicossectorporcino2020\\_tcm30-379728.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/indicadoreseconomicossectorporcino2020_tcm30-379728.pdf).
- Martelli, P., Lavazza, A., Nigrelli, A. D., Merialdi, G., Alborali, L. G., y Pensaert, M. B. (2008). "Epidemic of diarrhoea caused by porcine epidemic diarrhoea virus in Italy". *Veterinary Record*, 162(10), pp. 307–310. DOI: 10.1136/vr.162.10.30
- Marthaler, D., Rossow, K., Culhane, M., Collins, J., Goyal, S., Ciarlet, M., y Matthijssens, J. (2013). "Identification, phylogenetic analysis and classification of porcine group C rotavirus VP7 sequences from the United States and Canada". *Virology*, 446(1–2), pp. 189–198. DOI: 10.1016/j.virol.2013.08.001
- Meleg, E., Bányai, K., Martella, V., Jiang, B., Kocsis, B., Kisfali, P., Melegh, B., y Szucs, G. (2008). "Detection and quantification of group C rotaviruses in communal sewage", *Applied and Environmental Microbiology*, 74(11), pp. 3394–3399. DOI: 10.1128/AEM.02895-07

- Mesonero-Escuredo, S., Strutzberg-Minder, K., Casanovas, C., y Segalés, J. (2018). "Viral and bacterial investigations on the aetiology of recurrent pig neonatal diarrhoea cases in Spain". *Porcine Health Management*, 4, pp. 1–6. DOI: 10.1186/s40813-018-0083-8
- Monteagudo, L. V., Benito, A. A., Lázaro-Gaspar, S., Arnal, J. L., Martín-Jurado, D., Menjon, R., y Quílez, J. (2022). "Occurrence of Rotavirus A Genotypes and Other Enteric Pathogens in Diarrheic Suckling Piglets from Spanish Swine Farms". *Animals*, 12(3), pp. 251. DOI: 10.3390/ani12030251
- Mundt, H. C., Joachim, A., Becka, M. y Dausgschies, A. (2006). "Isospora suis: an experimental model for mammalian intestinal coccidiosis". *Parasitology Research*, 98(2), pp. 167–175. DOI: 10.1007/s00436-005-0030-x
- Mundt, H. C., Mundt-Wüstenberg, S., Dausgschies, A., y Joachim, A. (2007). "Efficacy of various anticoccidials against experimental porcine neonatal isosporosis". *Parasitology Research*, 100(2), pp. 401–411. DOI: 10.1007/s00436-006-0314-9
- Nagy, B. y Fekete, P. Z. (2005). "Enterotoxigenic Escherichia coli in veterinary medicine". *International Journal of Medical Microbiology*, 295(6–7), pp. 443–454. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.07.003
- Nataro, J. P. y Kaper, J. B. (1998). "Diarrheagenic Escherichia coli". *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), pp. 142–201. DOI: 10.1128/cmr.11.1.142
- Neog, B. K., Barman, N. N., Bora, D. P., Dey, S. C. y Chakraborty, A. (2011). "Experimental infection of pigs with group a rotavirus and enterotoxigenic escherichia coli in India: Gross, histopathological and immunopathological study". *Veterinaria Italiana*, 47(2), pp. 117–128. Disponible en: [https://www.izs.it/vet\\_italiana/2011/47\\_2/117.htm](https://www.izs.it/vet_italiana/2011/47_2/117.htm)
- Niestrath, M., Takla, M., Joachim, A. y Dausgschies, A. (2002). "The role of Isospora suis as a pathogen in conventional piglet production in Germany". *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 49(4), pp. 176–180. DOI: 10.1046/j.1439-0450.2002.00459.x
- Ogawa, H., Taira, O., Hirai, T., Takeuchi, H., Nagao, A., Ishikawa, Y., Tuchiya, K., Nunoya, T., y Ueda, S. (2009). "Multiplex PCR and multiplex RT-PCR for inclusive detection of major swine DNA and RNA viruses in pigs with multiple infections". *Journal of Virological Methods*, 160(1–2), pp. 210–214. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.010
- Payment, P. y Morin, E. (1990). "Minimal infective dose of the OSU strain of porcine rotavirus". *Archives of Virology*, pp. 277 – 282. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01323172>
- Pedersen, K. S., Stege, H. y Nielsen, J. P. (2011). "Evaluation of a microwave method for dry matter determination in faecal samples from weaned pigs with or without clinical diarrhoea". *Preventive Veterinary Medicine*, 100(3–4), pp. 163–170. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.04.014

- Pensaert, M. B. y de Bouck, P. (1978). "A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine". *Archives of Virology*, 58(3), pp. 243–247. DOI: 10.1007/BF01317606
- Petit, L., Gibert, M. y Popoff, M. R. (1999). "Clostridium perfringens: Toxinotype and genotype". *Trends in Microbiology*, 7(3), pp. 104–110. DOI: 10.1016/S0966-842X(98)01430-9
- Petri, D., Hill, J. E. y Van Kessel, A. G. (2010). "Microbial succession in the gastrointestinal tract (GIT) of the preweaned pig". *Livestock Science*, 133(1–3), pp. 107–109. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.06.037
- Ramig, R. F. (2004). "Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection". *Journal of Virology*, 78(19), pp. 10213–10220. DOI: 10.1128/jvi.78.19.10213-10220.2004
- Davis, J. L. y Gookin, J. L. (2018). "Antiprotozoan drugs". En: Riviere, J. E. y Papich, M. G. (eds) *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Hoboken: JohnWiley & Sons, Inc, pp. 1128-1166.
- Rooke, J. A. y Bland, I. M. (2002). "The acquisition of passive immunity in the new-born piglet". *Livestock Production Science*, 78(1), pp. 13–23. DOI: 10.1016/S0301-6226(02)00182-3
- Ruttkowski, B., Joachim, A. y Dauschies, A. (2001). "PCR-based differentiation of three porcine Eimeria species and Isospora suis". *Veterinary Parasitology*, 95(1), pp. 17–23. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00408-8
- Saif, L. J., Wang, Q., Vlasova, A. N., Jung, K. y Xiao, S. (2019). "Coronaviruses". En: Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, F. J., Stevenson, G. W. y Zhang, J. *Diseases of Swine*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, pp.488–523.
- Scala, A., Demontis, F., Varcasia, A., Pipia, A. P., Poglayen, G., Ferrari, N. y Genchi, M. (2009). "Toltrazuril and sulphonamide treatment against naturally Isospora suis infected suckling piglets: Is there an actual profit?". *Veterinary Parasitology*, 163(4), pp. 362–365. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.04.028
- Shepherd, F. K., Freeman, M. J., Culhane, M. R. y Marthaler, D. G. (2019). "Reoviruses (rotaviruses and reoviruses)". En: Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, F. J., Stevenson, G. W. y Zhang, J. *Diseases of Swine*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, pp. 715–727.
- Shi, X., Liu, X., Wang, Q., Das, A., Ma, G., Xu, L., Sun, Q., Peddireddi, L., Jia, W., Liu, Y., Anderson, G., Bai, J., y Shi, J. (2016). "A multiplex real-time PCR panel assay for simultaneous detection and differentiation of 12 common swine viruses". *Journal of Virological Methods*, 236(January), pp. 258–265. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.08.005
- Shrestha, A., Freudenschuss, B., Jansen, R., Hinney, B., Ruttkowski, B., y Joachim, A. (2017). "Experimentally confirmed toltrazuril resistance in a field isolate of Cystoisospora suis". *Parasites and Vectors*, 10(1), pp. 1–9. DOI: 10.1186/s13071-017-2257-7

- Sjölund, M., Zoric, M. y Wallgren, P. (2014). "Financial impact of disease on pig production. Part III. Gastrointestinal disorders". 6th European Symposium of Porcine Health Management, (May 2014), p. 1. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/301289965\\_Financial\\_impact\\_on\\_pig\\_production\\_III\\_Gastrointestinal\\_disorders](https://www.researchgate.net/publication/301289965_Financial_impact_on_pig_production_III_Gastrointestinal_disorders)
- Skampardonis, V., Sotiraki, S., Kostoulas, P., y Leontides, L. (2010). "Effect of toltrazuril treatment in nursing piglets naturally infected with *Isospora suis*". *Veterinary Parasitology*, 172(1–2), pp. 46–52. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.04.020
- Sotiraki, S., Roepstorff, A., Nielsen, J. P., Maddox-Hyttel, C., Enøe, C., Boes, J., Murrell, K. D., y Thamsborg, S. M. (2008). "Population dynamics and intra-litter transmission patterns of *Isospora suis* in suckling piglets under on-farm conditions". *Parasitology*, 135(3), pp. 395–405. DOI: 10.1017/S0031182007003952
- Steele, J., Parry, N. y Tzipori, S. (2013). "The roles of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection: Insights from the gnotobiotic piglet model". *Gut Microbes*, 5(1), pp. 53–57. DOI: 10.4161/gmic.26855
- Stuart, B. P. y Lindsay, D. S. (1986). "Coccidiosis in swine". *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 2(2), pp. 455–468. DOI: 10.1016/S0749-0720(15)31256-1
- Thomas, J. T., Chen, Q., Gauger, P. C., Giménez-Lirola, L. G., Sinha, A., Harmon, K. M., Madson, D. M., Burrough, E. R., Magstadt, D. R., Salzbrenner, H. M., Welch, M. W., Yoon, K. J., Zimmerman, J. J., y Zhang, J. (2015). "Effect of porcine epidemic diarrhea virus infectious doses on infection outcomes in naïve conventional neonatal and weaned pigs". *PLoS ONE*, 10(10), pp. 1–18. DOI: 10.1371/journal.pone.0139266
- Tzipori, S. y Williams, I. H. (1978). "Diarrhoea in Piglets Inoculated With Rotavirus". *Australian Veterinary Journal*, 54(4), pp. 188–192. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1978.tb02447.x
- Uzal, F. A., Plattner, B. L. y Hostetter, J. M. (2015). "Alimentary System". En: Maxie, M. G. Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals. San Luis: Elsevier, Inc, pp. 2-257
- Uzal, F. A., Songer, J. G., Prescott, J. F. y Popoff, M. R. (2016). *Clostridial diseases of animals*. Ames: Wiley Blackwell.
- Uzal, F. A. y Songer, J. G. (2019). "Clostridial Diseases". En: Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, F. J., Stevenson, G. W. y Zhang, J. *Diseases of Swine*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, pp. 792–804.
- Vidal, A., Martín-Valls, G. E., Tello, M., Mateu, E., Martín, M., y Darwich, L. (2019). "Prevalence of enteric pathogens in diarrheic and non-diarrheic samples from pig farms with neonatal diarrhea in the North East of Spain". *Veterinary microbiology*, 237, 108419. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.108419

- Vlasova, A. N., Amimo, J. O., y Saif, L. J. (2017). "Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies". *Viruses*, 9(3), pp. 48. DOI: 10.3390/v9030048
- Vlasova, A. N., Wang, Q., Jung, K., Langel, S. N., Malik, Y. S., y Saif, L. J. (2020). "Porcine Coronaviruses". in *Trends in Emerging Viral Infections of Swine*, pp. 79–110. DOI: 10.1007/978-981-15-0402-0\_4
- Wang, L., Byrum, B. y Zhang, Y. (2014). "Detection and genetic characterization of deltacoronavirus in pigs, Ohio, USA, 2014". *Emerging Infectious Diseases*, 20(7), pp. 1227–1230. DOI: 10.3201/eid2007.140296
- Ward, L. A., Rich, E. D. y Besser, T. E. (1996). "Role of maternally derived circulating antibodies in protection of neonatal swine against porcine group A rotavirus". *Journal of Infectious Diseases*, 174(2), pp. 276–282. DOI: 10.1093/infdis/174.2.276
- Will, L. A., Paul, P. S., Proescholdt, T. A., Aktar, S. N., Flaming, K. P., Janke, B. H., Sacks, J., Lyoo, Y. S., Hill, H. T., y Hoffman, L. J. (1994). "Evaluation of Rotavirus Infection and Diarrhea in Iowa Commercial Pigs Based on an Epidemiologic Study of a Population Represented by Diagnostic Laboratory Cases". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6(4), pp. 416–422. DOI: 10.1177/104063879400600403
- Yaeger, M., Funk, N. y Hoffman, L. (2002). "A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine including *Clostridium difficile* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14(4), pp. 281–287. DOI: 10.1177/104063870201400402
- Yeargin, T., Buckley, D., Fraser, A., y Jiang, X. (2016). "The survival and inactivation of enteric viruses on soft surfaces: A systematic review of the literature". *American Journal of Infection Control*, 44(11), pp. 1365–1373. DOI: 10.1016/j.ajic.2016.03.018
- Zhang, J., Tsai, Y. L., Lee, P. Y., Chen, Q., Zhang, Y., Chiang, C. J., Shen, Y. H., Li, F. C., Chang, H. F., Gauger, P. C., Harmon, K. M., y Wang, H. T. (2016). "Evaluation of two singleplex reverse transcription-Insulated isothermal PCR tests and a duplex real-time RT-PCR test for the detection of porcine epidemic diarrhea virus and porcine deltacoronavirus". *Journal of Virological Methods*, 234, pp. 34–42. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.03.016
- Zhou, W., Ullman, K., Chowdry, V., Reining, M., Benyeda, Z., Baule, C., Juremalm, M., Wallgren, P., Schwarz, L., Zhou, E., Pedrero, S. P., Hennig-Pauka, I., Segales, J., y Liu, L. (2016). "Molecular investigations on the prevalence and viral load of enteric viruses in pigs from five European countries". *Veterinary microbiology*, 182, pp. 75–81. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.10.019
- Zijlstra, R. T., Donovan, S. M., Odle, J., Gelberg, H. B., Petschow, B. W., y Gaskins, H. R. (1997). "Protein-energy malnutrition delays small-intestinal recovery in neonatal pigs infected with rotavirus". *Journal of Nutrition*, 127(6), pp. 1118–1127. DOI: 10.1093/jn/127.6.1118