



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano

Luis Edgar Tarazona Manrique

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de medicina veterinaria y de zootecnia, Departamento de salud animal, Escuela
de medicina veterinaria y de zootecnia

Bogotá D.C., Colombia

2024

Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano

Luis Edgar Tarazona Manrique

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Salud animal/ Microbiología e inmunología veterinaria

Director:

PhD. Jairo Jaime Correa

Línea de Investigación:

Virología veterinaria

Grupo de Investigación:

Centro de investigación en infectología e inmunología veterinaria-CI3V

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de medicina veterinaria y de zootecnia, Departamento de salud animal, Escuela
de medicina veterinaria y de zootecnia

Bogotá D.C., Colombia

2024

“324. En la mitad de la vida. ¡No! ¡La vida no me ha decepcionado! Por el contrario, año tras año la he ido encontrando más verdadera, más deseable y misteriosa – desde el día en que me vino ese pensamiento tan liberador de que a quienes buscamos el conocimiento nos está permitido ver la vida como un experimento, ¡y no como un deber, ni como una fatalidad, ni como un engaño! Y en cuanto al conocimiento, a otros les parecerá que es una cosa distinta, una especie de lecho de descanso, o el camino que conduce a ese lecho de descanso, o una diversión, o un pasatiempo. Pero para mí es un mundo de peligros y de victorias donde los sentimientos heroicos pueden dedicarse también a danzar y a retozar. **‘La vida es un medio para el conocimiento’** -- con este principio en el corazón no solo se puede vivir valientemente, ¡sino también vivir alegremente y reír alegremente! Y ¿quién puede saber lo que es reír y vivir si antes no se sabe lo que es guerrear y vencer?”

La Gaya Ciencia. Friedrich Nietzsche

“El hombre absurdo dice sí y su esfuerzo no cesará nunca. Si hay un destino personal, no hay un destino superior o al menos no hay sino uno que juzga fatal y despreciable. En lo demás es el dueño de sus días. En ese instante sutil en el que el hombre se vuelve sobre su vida, Sísifo, regresando hacia su roca, contempla esa serie de actos desvinculados que se convierte en su destino, creado por él, unido bajo la mirada de su memoria y pronto sellado con la muerte. Así, persuadido del origen plenamente humano de cuanto es humano, ciego que desea ver y que sabe que la noche no tiene fin, está siempre en marcha. La roca sigue rodando.

*¡Dejo a Sísifo al pie de la montaña! Uno siempre recupera su fardo. Pero Sísifo enseña la fidelidad superior que niega a los dioses y levanta las rocas. También él juzga que todo está bien. Este universo en adelante sin dueño no le parece estéril ni fútil, cada uno de los granos de esa piedra, cada fragmento mineral de esa montaña llena de noche, forma por sí solo un mundo. **La lucha por llegar a las cumbres basta para llenar el corazón de un hombre. Hay que imaginarse a Sísifo feliz.**”*

El mito de Sísifo. Albert Camus.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Luis Edgar Tarazona Manrique

Fecha 26/01/2024

Fecha

Agradecimientos

A mis padres y a mi familia, quienes siempre me han soportado en cada una de las decisiones de vida que he tomado. A quien me llevó a amar la investigación en la medicina veterinaria, mi amigo y mentor Roy Andrade. A mi amigo y tutor, Jairo Jaime Correa, por su tutela, dirección, corrección y apoyo en el desarrollo de la tesis y de mi formación personal y profesional. Al equipo de trabajo y amigas del centro de investigación en infectología e inmunología veterinaria-CI3V, doctoras Diana Susana Vargas, María Fernanda Naranjo, Adriana Carolina Carrillo y Johanna González con quienes vivo profundamente agradecido por todas sus enseñanzas y su amistad. A los compañeros que me ha traído la academia por sus valiosos aportes a este trabajo. A las granjas porcinas y sus trabajadores quienes muy amablemente ayudaron logísticamente en el desarrollo de la investigación. A los autores que leí y con quienes discutí en largas noches de trabajo. A los animales, por quienes guardo un profundo respeto y amor.

Resumen

Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano

El complejo respiratorio porcino (PCR) es una entidad multifactorial que afecta negativamente a los cerdos en todas las etapas productivas, su variado comportamiento requiere un estudio particular en cada país y región geográfica. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la dinámica de algunos virus respiratorios relacionados con la PCR en dos fincas del trópico alto colombiano, una positiva para PRRSV y la otra negativa. Se realizó un estudio longitudinal entre marzo y septiembre de 2022. Se hicieron tres muestreos bimensuales por granja donde se colectaron muestras de fluidos orales, piso de maternidad, glándulas mamarias, comederos, objetos de enriquecimiento ambiental y suero de cerdos ubicados en las etapas de predestete, preceba, finalización. Se hizo detección de virus asociados con el CRP (PPRSV, SIV-A, PCV2, PCV3, PPV2 y PPIV-1) por técnicas de PCR y RT-PCT junto con qPCR. Se encontró que los virus circulan en las dos granjas en todas las etapas productivas de forma de mono y copresencias, siendo las de tipo doble y triple las más frecuentes y se asociaron con la presencia de PRRSV. Se evaluaron y asociaron variables climáticas con la dinámica viral encontrándose que estas se correlacionaron con la presencia de virus como PCV3 y PPV2, este último incrementó la mortalidad y retrasó el crecimiento de los cerdos. Los análisis de secuenciación de PPV2 muestran que pertenece al clado 1. Este es un estudio pionero para el país que contribuye a entender cómo se comportan los virus asociados al CRP en condiciones propias de Colombia como lo es en el trópico alto (entre 1500 y 2000 msnm), ese comportamiento se complementa estableciendo las copresencias y coinfecciones virales más importantes abriendo toda una línea de investigación sobre la temática del efecto de simultaneidad infecciosa en las granjas de producción de cerdo en Colombia.

Palabras clave: Análisis molecular, Complejo respiratorio Porcino, Diagnóstico, Patógenos respiratorios, Virología.

Abstract

Dynamics of some respiratory viruses in two technical pig farms in the Colombian high tropics

The porcine respiratory complex (PRC) is a multifactorial entity that negatively affects pigs in all productive stages; its varied behavior requires a particular study in each country and geographical region. This work aimed to determine the dynamics of some respiratory viruses related to PRC in two farms in the Colombian high tropics, one positive for PRRSV and the other negative. A longitudinal study was carried out between March and September 2022. Three bimonthly samplings were carried out per farm, collecting samples of oral fluids, farrowing floor, mammary glands, feeders, environmental enrichment objects, and serum from pigs in the pre-weaning, pre-fattening, and fattening stages. PCR and RT-PCT techniques and qPCR detected viruses associated with PRC (PPRSV, SIV-A, PCV2, PCV3, PPV2, and PPIV-1). It was found that the viruses circulating in the two farms in all the productive stages in a mono and co-presence form, being the double and triple types the most frequent and were associated with the presence of PRRSV. Climatic variables were evaluated and associated with viral dynamics, finding that these correlated with viruses such as PCV3 and PPV2. The latter increased mortality and retarded the growth of pigs. Sequencing analyses of PPV2 show that it belongs to clade 1. This pioneering study for the country contributes to understanding how CRP-associated viruses behave in Colombian conditions, such as in the high tropics (between 1,500 and 2,000 masl). This behavior is complemented by establishing viral co-presences and coinfections. Most important, opening a whole line of research on the effect of infectious simultaneity in pig production farms in Colombia.

Keywords: Molecular analysis, Porcine respiratory complex, Diagnosis, Respiratory pathogens, Virology

Contenido

Pág.

Lista de figuras	XII
Lista de tablas	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas	15
Introducción	17
1. Capítulo 1. Revisión de literatura.....	19
1.1 Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino-PRRSV	19
1.1.1 Características moleculares.	19
1.1.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus	21
1.1.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.....	25
1.2 Virus de influenza porcina-SIV	27
1.2.1 Características moleculares.	27
1.2.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus	30
1.2.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.....	33
1.3 Circovirus porcino tipo 2-PCV2	34
1.3.1 Características moleculares.	34
1.3.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus	38
1.3.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.....	40
1.4 Circovirus porcino tipo 3-PCV3	42
1.4.1 Características moleculares.	42
1.4.2 Manifestaciones clínicas de la infección y control celular por el virus.	43
1.4.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.....	46
1.5 Parvovirus porcino tipo 2-PPV2.	47
1.5.1 Características moleculares	47
1.5.2 Manifestaciones clínicas de la infección y control celular por el virus	49
1.5.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.....	51
1.6 Parainfluenza Porcina tipo 1-PPIV1	52
1.6.1 Características moleculares	52
1.6.2 Manifestaciones clínicas de la infección	53

1.6.3 Epidemiología y métodos diagnósticos	54
1.7 Manifestaciones clínicas del CRP	55
Bibliografía	57
2. Capítulo 2. Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano.....	90
2.1 Introducción.....	90
2.2 Objetivos	91
2.2.1 Objetivo general.....	91
2.2.2 Objetivos específicos.....	91
2.3 Materiales y Métodos	92
2.3.1 Tipo de estudio	92
2.3.2 Ubicación del estudio.....	92
2.3.3 Granjas seleccionadas.....	92
2.3.4 Población evaluada	92
2.3.5 Muestreo y tipo de muestras colectadas	93
2.3.6 Virus evaluados	95
2.3.7 Procedimientos de laboratorio	96
2.4 Resultados	99
2.4.1 Descripción general de los datos obtenidos en términos de muestras, variables productivas y climáticas.	99
2.4.2 Comportamiento de los virus estudiados de forma individual y en copresencias y coinfecciones por cada granja	102
2.4.3 Análisis de correlaciones entre las variables.....	113
2.5 Discusión	126
3. Conclusiones y recomendaciones.....	141
Bibliografía	143

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Representación esquemática del genoma viral de PRRSV y de los productos de la transcripción y traducción. Tomado de (Kappes & Faaberg, 2015).	21
Figura 2. Representación esquemática de un virión del virus de la influenza A donde se encuentran las proteínas estructurales y no estructurales junto con el genoma segmentado (n=8). Tomado de (MacLachlan & Dubovi, 2017).....	30
Figura 3. Representación esquemática del genoma de PCV2 CC1 en donde se evidencia la direccionalidad de transcripción de cada ORF y su ubicación predicha. Tomado de: (Ren, et al., 2016)	37
Figura 4. Organización genómica esquemática de cuatro ORFs del PCV2. Tomado de: (He et al., 2013)	37
Figura 5. Interacciones y resultados presentes en las manifestaciones del CRP. Modificado de (Opriessnig et al., 2011).....	57
Figura 6. Dinámica de los virus evaluados en la granja 1 (G1). Se discrimina el número de muestras positivas a cada agente durante cada muestreo bimensual durante seis meses.	103
Figura 7. Sumatoria del número de muestras con coinfecciones durante los tres muestreos en la granja 1.....	104
Figura 8. Porcentaje de muestras positivas a las diferentes coinfecciones encontradas con los virus evaluados (PRRSV, PCV2, PCV3, SIV y PPV2) en la G1 durante los tres muestreos.	105
Figura 9. Dinámica de los virus evaluados en la granja 2 (G2). Se discrimina el número de muestras positivas a cada agente durante cada muestreo bimensual durante seis meses.	107
Figura 10. Sumatoria del número de muestras positivas a las copresencias de agentes virales encontradas durante los tres muestreos en la G2.....	108
Figura 11. Porcentaje de muestras positivas a las copresencias de agentes virales para cada muestreo en la G2.....	109
Figura 12. Porcentaje de muestra positivas a un único virus durante los tres muestreos en las dos granjas.....	112

Figura 13. Mapa de calor indicando la correlación entre los promedios de los datos climatológicos días previos a las fechas de los muestreos, con la presencia de los agentes virales evaluados.	114
Figura 14. Análisis de correlación entre variables climáticas, productivas y presencia de agentes virales en cada una de las granjas.	115
Figura 15. Mapa de calor indicando la correlación entre todas las variables analizadas (agentes virales, datos productivos y climatológicos) en las dos granjas.	116
Figura 16. Correlación entre la presencia de los virus y las etapas productivas evaluadas en las dos granjas.	118
Figura 17. Gráfico aluvial donde se muestra la dinámica de muestras positivas a los diferentes virus de acuerdo con el muestreo y la etapa productiva evaluada en las dos granjas.	120
Figura 18. Gráfico aluvial que muestra las dinámica de detección de virus de acuerdo con la etapa productiva en las dos granjas.	120
Figura 19. Gráfico aluvial que muestra las dinámica de detección de agentes virales de acuerdo con la visita en las dos granjas.	121
Figura 20. Gráfico aluvial que muestra las dinámicas de distribución de muestras positivas para cada virus de acuerdo con el muestreo y la etapa productiva en la granja 1 (G1).	122
Figura 21. Gráfico aluvial que muestra la dinámica de distribución de muestras positivas de acuerdo con el muestreo en la G1.	122
Figura 22. Gráfico aluvial que muestra la dinámica de la distribución de muestras positivas de acuerdo con la etapa productiva en la G1.	123
Figura 23. Grafico aluvial que muestra la distribución de muestras positivas a cada agente de acuerdo conel muestreo y la etapa productiva en la G2.	124
Figura 24. Gráfico aluvial que muestra la distribución del número de muestras positivas a cada agente de acuerdo con el muestreo en la G2.	124
Figura 25. Gráfico aluvial que muestra la distribución del número de muestras positivas a cada agente de acuerdo con la etapa productiva en la G2.	125
Figura 26. Árbol filogenético donde se ubican dos secuencias de PPV2-VP2 encontradas en el presente estudio (color rojo) y comparadas con 90 secuencias de todo el mundo y reportadas en el GenBank incluyendo siete secuencias de Colombia reportadas previamente. El árbol fue construido en el programa MEGA7 utilizando el método estadístico “Maximun Likelihood”, con el método de filogenia de “Bootstrap” con 1000 réplicas, utilizando el método de inferencia Tamura-3, con el análisis “Gamma Distributed With Invariant Sites (G+I)”. El árbol fue luego modificado en sus colores y forma en el programa FigTree versión 1.4.4. la escala del árbol fue calculada en 0.01.	126

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Relación del tipo y número de muestras colectadas durante los tres muestreos (bimensuales) durante un periodo de seis meses en cada granja.	99
Tabla 2. Valores promedio de los parámetros productivos evaluados de los dos meses previos a los muestreos en cada granja evaluada.....	100
Tabla 3. Promedio de las variables climatológicas evaluadas. Estos datos corresponden a los valores reportados durante los diez días previos a cada muestreo en cada granja.	101
Tabla 5. Frecuencia de las copresencias virales en la granja 1 en las diferentes etapas productivas evaluadas y dentro de estas dependiendo del tipo de muestra.	105
Tabla 6. Distribución del número de muestras positivas a diferentes copresencias de acuerdo con el tipo de muestra evaluada en la G2.	111
Tabla 4. Promedio de CT encontrado para cada agente durante cada muestreo y por cada granja.	113

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>ADN</i>	Ácido Desoxirribonucleico
<i>ARN</i>	Ácido Ribonucleico
<i>CBP</i>	Proteína De Unión CREB
<i>CCL5</i>	Ligando De Quimiocina 5
<i>CRP</i>	Complejo Respiratorio Porcino
<i>DPI</i>	Días Pos-Infección
<i>ds</i>	Bicatenario - Dos Hebras
<i>HA</i>	Hemaglutinina
<i>Ig</i>	Inmunoglobulina
<i>IL</i>	Interleuquina
<i>INF</i>	Interferón
<i>IRF</i>	Factor De Regulación Del Interferón
<i>ISRE</i>	Elementos De Respuesta Estimulados Por El Interferón
<i>JNK</i>	Proteínas Cinasas C-JUN N-Terminal
<i>LB</i>	Linfocitos B
<i>LT</i>	Linfocitos T
<i>Ltreg</i>	Linfocitos T Reguladores
<i>MCP-1</i>	Proteína Quimiotáctica De Monocitos 1
<i>MHC</i>	Complejo Mayor De Histocompatibilidad
<i>NA</i>	Neuraminidasa
<i>NF-KB</i>	Factor Nuclear <i>Kappa-Beta</i>
<i>NK</i>	Natural Killer

<i>Nsps</i>	Proteínas No Estructurales
<i>ORF</i>	Marco Abierto De Lectura
<i>PAM</i>	Macrófago Alveolar Porcino
<i>PCR</i>	Reacción En Cadena De La Polimerasa
<i>PCV2</i>	Circovirus Porcino Tipo 2
<i>PCV3</i>	Circovirus Porcino Tipo 3
<i>PCVAD</i>	Enfermedades Asociadas Al Circovirus
<i>PDNS</i>	Síndrome De Dermatitis Y Nefropatía Porcina
<i>PMWS</i>	Síndrome De Desmedro Sistémico Posdestete
<i>PPIV</i>	Parainfluenza Porcina
<i>PPV</i>	Parvovirus Porcino
<i>PRCV</i>	Coronavirus Respiratorio Porcino
<i>PRRSV</i>	Virus Del Síndrome Respiratorio Y Reproductivo Porcino
<i>RIG-1</i>	Gen 1 Inducible Por Ácido Retinoico
<i>RT-PCR</i>	Reacción En Cadena De La Polimerasa En Tiempo Real
<i>SIV</i>	Virus De Influenza Porcina
<i>ss</i>	Monocatenario- Una Hebra
<i>TGF-β</i>	Factor De Crecimiento Transformante Beta
<i>TLR</i>	Receptores Tipo Toll
<i>TNF</i>	Factor De Necrosis Tumoral
<i>TTSuV</i>	Torque Teno Sus Virus
<i>UTR</i>	Región No Traducida

Introducción

El complejo respiratorio porcino (CRP) es una entidad multifactorial que desencadena enfermedades respiratorias en cerdos en cualquier etapa del ciclo productivo y se presenta principalmente en cerdos de uno a tres meses de edad. Entre estos, es importante tener en cuenta la naturaleza y las interacciones entre los agentes infecciosos involucrados, las condiciones medioambientales y de manejo en términos de bioseguridad de la granja, el microbioma del sistema respiratorio, la respuesta inmune innata y adaptativa, entre otros (Brockmeier et al., 2002; Kumar et al., 2018; Pirolo et al., 2021; Saade et al., 2020).

Diversos agentes etiológicos como virus, bacterias, parásitos y hongos pueden presentarse en el CRP. Los virus son considerados como los principales agentes involucrados debido a que estos generan una infección primaria que se exagera y altera la respuesta inmunológica y favorece la subsecuente multiplicación de agentes bacterianos como *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Bordetella bronchiseptica*, por mencionar los más importantes (Saade et al., 2020; Sarli et al., 2021; Turlewicz-Podbielska et al., 2021). Los principales agentes virales asociados con el CRP son: el virus de la influenza porcina (SIV), el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) y el circovirus porcino tipo 2 (PCV2). Así mismo, virus emergentes se han relacionado con el desarrollo de la enfermedad como los parvovirus porcinos (PPV 2, 3, 6 y 7), circovirus porcino tipo 3 (PCV3), parainfluenza porcina (PPIV), torque teno sus virus (TTSuV), y coronavirus respiratorio porcino (PRCV), y es necesario resaltar que estos agentes se presentan principalmente en coinfecciones (Blomström et al., 2018; Qin et al., 2018; Saade et al., 2020; Ye et al., 2018).

El CRP ocasiona considerables pérdidas económicas para la industria porcina que están representadas por el efecto negativo sobre los parámetros productivos tales como disminución en la tasa de crecimiento e incremento de la mortalidad de lechones. También, efecto por el costo de los tratamientos con antimicrobianos en el control de enfermedades bacterianas secundarias, vacunas y demás medidas biosanitarias de control (Calderón Díaz et al., 2020). Hasta la fecha no se ha calculado el impacto económico el CRP para la

industria porcina, pero existen estudios para algunos patógenos como PRRSV donde se determinó un impacto anual de \$664 millones USD para la industria (Holtkamp et al., 2013); mientras que (Nathues et al., 2017) y (Dong et al., 2021) lo estimaron en cerca de \$793,000 USD por granja europea.

En términos de coinfección, Haden et al., 2012 citado por (Garrido-Mantilla et al., 2020) encontraron que la coinfección de SIV y PRRSV puede causar pérdidas de hasta \$10 USD por cerdo. A nivel mundial, se han realizado diversos estudios metagenómicos en donde se han caracterizado viomas que se han asociado con la manifestación del CRP, encontrándose hasta 11 virus distintos (Blomström et al., 2018; Qin et al., 2018). Este tipo de estudios constituyen la base para realizar un análisis más exhaustivo de las posibles interacciones virus-virus y virus-bacterias presentes en la manifestación del CRP en granjas porcinas.

El objetivo del presente capítulo es el de hacer una revisión literaria de cinco agentes virales tales como PRRSV, SIV, PCV2, PCV3 y PPV2 describiendo características moleculares, manifestaciones clínicas respiratorias de la infección por el agente en cerdos y el control celular molecular que ejerce para este fin y, por último, la epidemiología mundial y nacional de cada agente, así como los métodos de diagnóstico más comunes. La sección final de este capítulo abarca una revisión sobre las manifestaciones clínicas del complejo respiratorio porcino.

1. Capítulo 1. Revisión de literatura.

1.1 Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino-PRRSV

1.1.1 Características moleculares.

El PRRSV es miembro del género *Porartevirus*, familia *Arteriviridae* y orden *Nidovirales* (Gu et al., 2022). Es un virus envuelto con un diámetro de 50 - 60 nanómetros (nm), posee un genoma ARN monocatenario (ssARN) de sentido positivo de aproximadamente 15 kb de longitud. En su extremo 5' contiene una región no traducida (UTR), cuya longitud varía entre genotipos, y una cola poli adenilada en su extremo 3'. Este genoma contiene 12 marcos abiertos de lectura u ORF, los ORF 1a y 1b corresponden a cerca del 80% del genoma y codifican para poliproteínas tipo replicasa pp1a y pp1b, las cuales son procesadas autoproteolíticamente en al menos 16 proteínas no estructurales (nsps), las cuales son: nsp1 α , nsp1 β , nsp2 (proteína integral de membrana), nsp2TF, nsp2N, nsp3, nsp4, nsp5, nsp6, nsp7 α , nsp7 β , and nsp8 y nsp9–12, involucradas en el proceso de replicación y transcripción del ARN viral. Los ORF 2 a 7 codifican las proteínas estructurales (Glicoproteínas/GP: GP2a/ORF2a, GP3/ORF3, GP4/ORF4, GP5/ORF5, E/ORF2b, 5a/ORF5a, de matriz: M/ORF6, y de nucleocápside: N/ORF7) (figura 1) (Bian et al., 2017; Cui et al., 2022; Kappes & Faaberg, 2015).

Las nsps y las proteínas estructurales están involucradas en procesos regulatorios de la respuesta inmunológica innata y adaptativa, así como en la inducción de respuestas específicas de células B y T. El genoma se encuentra protegido por las proteínas N y, alrededor de estas, se ubican las GP, en donde la GP5 es la más abundante, y las proteínas M, que están insertadas en la bicapa lipídica que conforma la envoltura (Chand et al., 2012; Loving et al., 2015; Lunney et al., 2016; Snijder et al., 2013).

A finales de la década de 1980 dos variantes altamente divergentes del mismo virus se reportaron en brotes asociados con abortos y enfermedades respiratorias en cerdos. La primera en Europa occidental conocida como genotipo 1 o Lelystad (hoy denominada: *Betaarterivirus suid 1*), y la segunda en Norte América conocida como genotipo 2 o VR-

2332 (*Betaarterivirus siud 2*), la identidad genómica entre ambas variantes es del 60% aproximadamente (Cui et al., 2022; Han et al., 2017; Lunney et al., 2016; Snijder et al., 2013). Los análisis genotípicos de las dos variantes se realizan analizando la secuencia del ORF5, y ello ha demostrado la alta variabilidad en las detecciones de campo, lo que ha llevado a que las variantes deban ser clasificadas en subtipos y linajes. Así, el genotipo PPRSV-1 está dividida en cuatro subtipos (1-4), mientras que el genotipo PRRSV-2 está dividida en 9 linajes distintos (L1-L9) con una diversidad interlinaje de alrededor del 11% (Cui et al., 2022; Shin et al., 2022; Zhao et al., 2015). La rápida evolución del PRRSV se atribuye a los errores de copia de la ARN polimerasa viral, a eventos genómicos como la capacidad de recombinación inter y entre linajes, inserciones, deleciones, así como a la presión selectiva en el campo. La tasa evolutiva viral está calculada en alrededor de 3.29×10^{-3} sustituciones por nucleótido por sitio por año (Han et al., 2017; Murtaugh & Genzow, 2011; Song et al., 2010).

Los procesos de recombinación intra y entre linajes, suceden cuando dos virus infectan al mismo tiempo la misma célula, desencadenando nuevas variantes virales con características moleculares distintas que, en la mayoría de los casos, permiten el incremento de las capacidades patogénicas, aumentando su transmisibilidad y permitiendo la evasión del sistema inmune (Cui et al., 2022). Se han reportado eventos de recombinación entre cepas de campo y vacunas vivas modificadas del genotipo 2, generando un aumento significativo en la patogenicidad del agente (Bian et al., 2017; Zhou et al., 2018). Estos procesos de recombinación están, aparentemente, favorecidos por características moleculares presentes en el gen ORF5 conocidas como “puntos calientes” (hacen referencia a sitios específicos del genoma en donde es más fácil que exista recombinación), conocidas como regiones hipervariables, en total 2 (HVR 1-2), sumado a deleciones e inserciones que pueden presentarse en los sitios de N-glicosilación de la proteína GP5 y la evidencia de dos epítomos (un epítomo neutralizante-NE, y un epítomo señuelo-DE), los cuales alteran la acción de los anticuerpos neutralizantes (Rupasinghe et al., 2022). Por otra parte, se han reportado otros sitios de recombinación genómica, en secuencias que codifican para las nsp2 y nsp9 importantes en la regulación celular (Kappes & Faaberg, 2015).

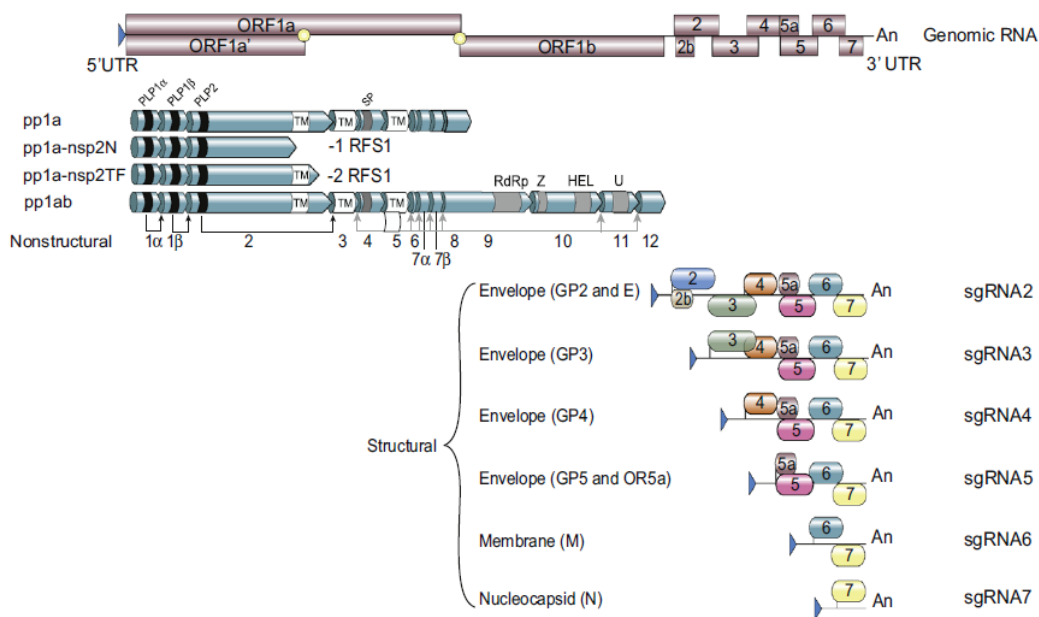


Figura 1. Representación esquemática del genoma viral de PRRSV y de los productos de la transcripción y traducción. Tomado de (Kappes & Faaberg, 2015).

Con el objetivo de regular selectivamente los procesos de transcripción y traducción, los virus de este orden cuentan con un set de ARN subgenómicos (ARNsg) los cuales incluyen las regiones 5'-UTR y 3'-UTR, así como algunos ORFs de la región 3' del genoma (ORF 2-7) pero no la región codificante de la proteína replicasa. El objetivo de esta separación es facilitar la expresión rápida de las nsps del ARN genómico (ARNg) y la subsecuente amplificación de los ARNsg a través de una cascada de transcripción diferencial. Esta transcripción ocurre a través de un proceso discontinuo el cual se da gracias a una fusión replicativa del genoma viral 5'-UTR a uno de los muchos sitios aguas abajo del extremo 3' con interacciones de apareamiento de bases de largo alcance entre estructuras de bucle entre la hebra sentido y antisentido durante la síntesis de la hebra de polaridad negativa (Kappes & Faaberg, 2015).

1.1.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus

Los cerdos son el reservorio natural del virus y hasta el momento no se ha demostrado su capacidad para infectar a otros huéspedes. Las manifestaciones respiratorias ocasionadas

por el PRRSV se presentan sobre todo en cerdos entre uno y tres meses de edad, y depende del estatus inmunológico de cada individuo, esto se ha asociado principalmente a una susceptibilidad mayor de los macrófagos pulmonares al virus en esta edad comparada con los cerdos adultos (Kvisgaard et al., 2017). Los principales signos clínicos son: estornudos, tos, disnea, secreciones nasales bilaterales, secreciones oculares, conjuntivitis, pirexia, letargia, disminución en el consumo de alimento y baja tasa de crecimiento. En la necropsia, las lesiones asociadas son: edema pulmonar severo con consolidación, edema linfonodular; en algunos casos se ha evidenciado hiperplasia intersticial pulmonar y congestión, sangrado en laringe y tráquea, congestión mucosa e incluso edema y congestión en el cerebro asociada a signos neurológicos (Kvisgaard et al., 2017; Zhou & Yang, 2010)

El virus tiene un tropismo fuertemente restringido a células del linaje monocito/macrófago, especialmente aquellas bien diferenciadas, como los macrófagos alveolares porcinos (PAMs), recientemente, otra población celular, los macrófagos intravasculares pulmonares ha sido reportada con capacidad para soportar la infección viral (Bordet et al., 2018; Crisci et al., 2019). Luego del proceso de replicación, el virus desencadena la lisis celular debido a que toma parte de la membrana celular al momento de su salida. La restricción a estos linajes celulares está mediada principalmente por factores virales (proteínas estructurales de superficie) y por factores celulares (receptores), de estos últimos uno de los más importantes es el receptor celular tipo “scavenger” CD163 expresado por los macrófagos, ubicado no solo en la superficie celular sino también a nivel de los endosomas tempranos, el cual interactúa con las glicoproteínas GP2a y GP4, por ello, está relacionado con la absorción y el desnudamiento viral. Se ha demostrado *in vitro* que este receptor es capaz de permitir la infección de virus pertenecientes a los dos genotipos y a diversos linajes como el NADC30-like y NADC34-like (Shi et al., 2015).

Algunas moléculas asociadas a receptores implicados en la infección viral son el heparán sulfato, los cuales se unen al virus a través del dímero M-GP5 y las sialoadesinas, conocidas también como SIGLEC1 o CD169, están expresadas en la superficie de los PAMs e interactúan con los residuos de ácido siálico en la proteína GP5 de la superficie del virión. Por su parte, la proteína CD151 se expresa en la superficie de células susceptibles a la infección por PRRSV (pero no en aquellas resistentes) y se une con la región 3' UTR del ARN viral y se ha demostrado que está implicado en el desnudamiento

viral, así como en la localización de los complejos de ribonucleoproteínas al sitio de replicación viral para promoverla. Por último, para el receptor de vimentina se une a la proteína N y es usada por el virus para permitir su replicación y el transporte del virus en el citoplasma (Shi et al., 2015; Xu et al., 2022). Algo importante para considerar, es que estos receptores no se encuentran distribuidos de forma uniforme en las diferentes poblaciones de macrófagos, por ello, algunas de estas células son incapaces de permitir o mantener la replicación viral debido a que cada receptor interviene en diversos estadios de la infección, por lo tanto, si alguno de estos receptores falta, el proceso de infección y replicación viral se verá afectado en cualquier fase del proceso (Shi et al., 2015).

PRRSV es un virus que se ha caracterizado por su capacidad inmunosupresora, induciendo respuestas inmunológicas innatas y adaptativas poco efectivas, especialmente a través de la modulación del interferón tipo 1. Sin embargo, los mecanismos específicos de inmunomodulación no se encuentran del todo dilucidados debido a que existen divergencia entre los resultados de las investigaciones (Gu et al., 2022). Estudios han propuesto que la patogénesis respiratoria se asocia con una liberación exagerada de citoquinas proinflamatorias (IFN- α , IFN- γ , TNF- α , IL-6 e IL-8) en el tejido pulmonar debido a la infección y destrucción de las células inmunes lo cual desencadena una alteración vascular permitiendo la salida del plasma, con la subsecuente obstrucción del alveolo pulmonar, disminuyendo la capacidad de intercambio gaseoso y favoreciendo la manifestación clínica asociada, así mismo, la liberación exagerada de estas proteínas puede terminar en la inducción de muerte de las células alveolares pulmonares adyacentes al sitio de la infección (Turlewicz-Podbielska et al., 2021; Razzuoli et al., 2022). Luego de esto, se establece la fase crónica de la enfermedad, esta se da debido a que el virus es capaz de replicarse en tejidos linfoides hasta 251 días posinfección, por lo tanto, es un virus con capacidad de generar infecciones persistentes, manteniéndose sin generar sintomatología clínica aparente, pero distribuyéndose paulatinamente dentro del sistema productivo (Chand et al., 2012; Shi et al., 2010; Snijder et al., 2013; Zhao et al., 2020).

Para que la infección crónica se presente se ha propuesto que PRRVS es capaz de modular la respuesta inmune humoral, así, algunos estudios muestran un aumento en la producción de IL-4 y de IL-10 (Jung et al., 2009; Zhou & Zhang, 2012). El virus afecta en los macrófagos los mecanismos de transcripción enfocada en la producción de citoquinas y quemoquinas, señales de transducción, metabolismo energético, fagocitosis, y capacidad de presentación antigénica, entre otros. Sin embargo, la alteración en estos mecanismos

varía de acuerdo con el genotipo infectante, así como con la patogenicidad de cada subtipo o linaje presente. Uno de los mecanismos más importantes para generar esta inmunomodulación es la alteración en las vías de señalización y producción del interferón 1, algunos estudios han demostrado que el virus es capaz de disminuir los niveles de IFN- α a nivel pulmonar comparado con el PRCV hasta en 159 veces llevando a un inicio tardío y a un bajo nivel en la producción de anticuerpos neutralizantes, además de una débil respuesta inmune celular (Wang & Zhang, 2014). Las proteínas virales implicadas en este proceso son: nsp1 α , nsp1 β , nsp2, nsp6, nsp11 y N, ellas ocasionan: interferencia de la fosforilación del factor de regulación del interferón-3 (IRF3) y su posterior traslocación nuclear, interferencia en la unión entre el IRF3 y la proteína de unión-CREB (CBP) a nivel nuclear, inhibición de la activación del IFN- β , bloqueo de las proteínas STAT1/STAT2 a través de la a la activación de la proteasa KPNA1 así como impedimento su traslocación nuclear, interferencia con la poliubiquitinización del factor I κ B previniendo su degradación y, por tanto, impidiendo la entrada al núcleo del NF- κ B, también, se ha reportado el bloqueo de la proteína MALT1 a través de la vía de ubiquitinización del proteosoma para permitir la correcta infección celular (Gu et al., 2022; Wang & Zhang, 2014; Yang & Zhang, 2017). Además, las proteínas nsp9 y nsp10 aumentan la capacidad de replicación viral, así como la capacidad virulenta del virus altamente patogénico (Highly pathogenic-HP) debido a mutaciones en aminoácidos (aa) específicos (Ala586Thr) y (Thr592Ser) de la proteína nsp9. Otro aspecto importante que favorece la replicación viral es la inducción del mecanismo de autofagia celular, proceso mediado principalmente por las nsp3, nsp5 y nsp9 (Sha et al., 2022).

Se ha demostrado que linajes altamente patogénicos, como el Jxwn06, tienen mayor habilidad de inmunomodulación disminuyendo la transcripción de genes en los procesos anteriores. Uno de los mecanismos recientemente descubiertos para generar esta interferencia es el aumento en la producción de micro ARN (miARNs) celulares, inducida por el virus, los cuales generan una inhibición postranscripcional de proteínas como el IFN- β e INF- α (Crisci et al., 2019). Igual a lo que sucede con los macrófagos, los efectos observados en las células dendríticas varían en relación con el genotipo infectante, el tipo de célula dendrítica infectada y si los experimentos fueron realizados *in vivo* o *in vitro*. Así, pueden observarse aumentos y disminuciones en la producción de IL-10, así como el TNF- α y en la expresión de proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad 1 y 2 (MHC- 1 y 2), sin embargo, sin importar el genotipo viral infectante, se demostró una disminución

en la producción de IFN-1 (Crisci et al., 2019). En células NK se ha demostrado que el virus es capaz de suprimir su actividad citotóxica a partir del día dos postinfección hasta por cuatro semanas, resultado que concuerda con el período de tiempo en el cual se presenta la fase virémica-aguda de la enfermedad (Espinoza & Velásquez, 2021; Renukaradhya et al., 2010).

Por último, la respuesta celular mediada por LT se considera tardía, apareciendo a las cuatro semanas postinfección, con pico a la séptima semana y llegando a niveles indetectables a la semana once, además de ello, la respuesta de anticuerpos no es eficaz en el control viral, debido a que los primeros en aparecer están dirigidos principalmente contra la proteína N, sin generar efecto neutralizante, mientras que los anticuerpos neutralizantes aparecen alrededor de la cuarta semana inducidos por las proteínas GP2, GP3 y GP5, no obstante, son poco efectivos para la eliminación de la partícula viral (Espinoza & Velásquez, 2021).

1.1.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.

Los mecanismos de transmisión viral identificados son principalmente de forma vertical, a través de la placenta o de calostro de cerdas infectadas, y horizontalmente a través del contacto directo entre animales enfermos y sanos vía aerosoles y por el contacto directo con heces, así como por otras rutas como las botas y overoles de los operarios, paquetes de envío, vehículos de transporte, carne de cerdo y mosquitos (Liu et al., 2021).

Estudios epidemiológicos muestran que la circulación de los dos tipos de PRRSV está principalmente restringida a los continentes en donde fueron descubiertos, sin embargo, esto no excluye la presencia de los dos genotipos simultáneamente en una misma región geográfica. (Trevisan et al., 2019), reportaron presencia del PRRSV-2 en los Estados Unidos en el 94.76% de las muestras incluidas (n=547.873), y del PRRSV-1 en 2.15% de los casos evaluados, igualmente encontraron, coinfección en el 3.09%. En China, por su parte, los dos genotipos coexisten, sin embargo, el virus predominante es el PRRSV-2, con especial interés de variantes alta y moderadamente patogénicas como: “JXA1-like”, “CH-1a-like”, “VR-2332-like”, “QYYZ-like” y “NADC34-like”, esta última reportada también en los Estados Unidos relacionada con tormentas de abortos y una amplia mortalidad en lechones destetos (Liu et al., 2021; Xu et al., 2022). En Latinoamérica, los estudios realizados revelan la circulación de cepas del PRRSV-2 altamente patogénicas 1-7-4 en Perú,

relacionadas filogenéticamente con los reportes americanos de 2013 y 2014 (Ramírez et al., 2019). En Costa Rica, por su parte, los virus detectados en estudios recientes corresponden a los linajes 1 y 5 con moderada y alta patogenicidad (Guzmán et al., 2021). Así mismo, un estudio realizado con las secuencias suramericanas reportadas identificó la circulación del linaje 5 del PRRSV-2 a partir del año 2000, con una predominancia importante de esta hasta el 2013, año en el cual el linaje 1 empezó a ser más prevalente en los sistemas productivos, con especial énfasis en la circulación de los sublinajes 1C, 1G y 1A (Ramos et al., 2022).

Con respecto a sus variaciones estacionales, (Paploski et al., 2019) demostraron que existen variaciones entre los linajes de PRRSV circulantes de acuerdo con la temporada climática y con los protocolos de vacunación. Esto lleva a que el genotipo que esté circulando en una temporada particular en una región geográfica dada podría cambiar inclusive entre años consecutivos, acarreando implicaciones de tipo epidemiológico como cambios en la manifestación clínica de la enfermedad, lo cual lleva a cambios en los enfoques de manejo y tratamiento de la enfermedad que deben ser asumidos relativamente rápido para controlar la enfermedad.

En Colombia, la presencia de PRRSV se ha demostrado a través de estudios serológicos (ELISA). Cruz, et al., 2006, evidenciaron una prevalencia de 4.3% en los departamentos de Norte de Santander y Arauca. Por otro lado, (Jiménez et al., 2014) demostraron que la prevalencia puede llegar a 15.3% cuando las muestras (hisopados nasales, lavados bronquiales y tejido pulmonar) fueron negativas a SIV, mientras que la prevalencia fue de 1.6% cuando fueron positivas a SIV. (Mendoza Niño, 2015), realizó un estudio longitudinal tomando diferentes tipos de muestras en tres granjas del Valle del Cauca; encontrando la circulación únicamente del genotipo americano con una mayor prevalencia en la etapa de ceba y una ventaja, en la detección, de las pruebas moleculares sobre las serológicas. En el país, el genotipo circulante se encuentra vinculado al genotipo 2 americano clásico, hasta el momento no se ha reportado la circulación de variantes altamente patogénicas o del genotipo europeo. Es necesario recalcar que en el país no se ha adoptado la vacunación contra el agente.

Por último, los métodos de diagnóstico empleados para PRRSV consisten en pruebas serológicas de tipo ELISA, inmunofluorescencia indirecta y seroneutralización. Para el aislamiento viral se emplea como muestra los PAMs y a partir de estos se infectan líneas

celulares como las MARC-145. Sin embargo, la metodología más usada es la RT-PCR enfocada, principalmente, en la amplificación del gen ORF5. Las principales muestras para este fin son: fluidos de procesamiento, hisopados nasales, tonsilas, linfonódulos y pulmones, como también, muestras ambientales (Arruda et al., 2019; Lebret et al., 2021; Vilalta et al., 2018, 2019).

1.2 Virus de influenza porcina-SIV

1.2.1 Características moleculares.

Es un virus envuelto con un diámetro que oscila entre 80 y 120 nm, pertenece a la familia *Orthomixoviridae*, esta comprende diferentes géneros, particularmente el A, B y C, de acuerdo con las secuencias de las proteínas de matriz y la nucleoproteína. Su estructura es pleomórfica y filamentosa, sin embargo, adopta una forma esférica cuando es cultivado *in vitro* en células. La envoltura consiste en una membrana lipídica en donde están incrustadas dos grandes glicoproteínas conocidas como hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), que en conjunto contienen un genoma segmentado ARN de hebra sencilla con polaridad negativa [ssARN(-)] (MacLachlan & Dubovi, 2017b) (figura 2). La HA se une a los residuos de ácido siálico de los receptores de las células epiteliales respiratorias, posterior a ello se da el clivaje proteolítico de la HA realizado por las proteasas celulares y la fusión de membranas lo cual permite la absorción viral a través de endocitosis mediada por receptores. Un aspecto importante para tener en cuenta, y que determina el tropismo viral y por ende su patogenicidad, son los sitios de clivaje de la proteína HA que son reconocidos generalmente por proteasas celulares ubicadas en el tracto respiratorio y digestivo, sin embargo, los virus altamente patogénicos son reconocidos por múltiples proteasas ubicuas en el huésped lo cual diversifica tu tropismo a, por ejemplo, tejido nervioso, empeorando la sintomatología. Por otro lado, la proteína NA remueve la unión HA-receptor al momento de la salida viral, gracias a su actividad sialidasa. Este proceso debe llevarse a cabo debido a que se debe evitar que las nuevas partículas virales ingresen nuevamente a la célula de donde provienen debido a que se alterarían los procesos de replicación. En la región interna de la membrana lipídica se encuentra la proteína de matriz 1 (M1) y entre cada una de estas proteínas se encuentra una segunda proteína de matriz más pequeña conocida como M2, la cual tiene como

función permitir el influjo de protones a nivel endosomal para generar la penetración genómica viral gracias a la reducción del pH. Cada segmento genómico está rodeado por una proteína conocida como nucleoproteína (NP) cuya función es dirigir el ARN genómico al núcleo debido a que cuenta con señales de localización nuclear que le permiten interactuar con la maquinaria de transporte celular, así mismo, tres proteínas que conforman el complejo de ARN polimerasa (PB1, PB2 y PA) están ligadas a la NP y al ARN genómico. Por último, cada uno de los segmentos genómicos presentan secuencias regulatorias no traducibles en las regiones 5' y 3' las cuales son claves para la síntesis de ARN complementario y genómico (Byrd-Leotis et al., 2017; Krammer et al., 2018; MacLachlan & Dubovi, 2017b).

El número de segmentos genómicos varía de acuerdo con el género, sin embargo, para el caso de la influenza A este está compuesto por ocho segmentos, con una longitud sumada total aproximada de 13.6 kpb que codifica 12 proteínas (Crisci et al., 2013). Para el caso de los cerdos la influenza A es la que se ha demostrado como agente causal de enfermedad. Además, el virus se divide en subtipos debido a las características antigénicas de la HA y NA. Así, hay 18 subtipos HA, que están organizados filogenéticamente en dos grandes grupos: Grupo 1 (H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11, H12, H13, H16, H17 y H18) y grupo 2 (H3, H4, H7, H10, H14 y H15) y en 11 subtipos NA (Gale et al., 2020; Kamal et al., 2018; Ma, 2020; Neira et al., 2016; Vasin et al., 2014; Wang et al., 2021).

Como todos los virus con genoma [ssARN(-)], este presenta dos funciones, la primera de ellas es servir como base para la síntesis de ARNm y como plantilla para la síntesis de intermediarios replicativos ARN de sentido positivo, el cual, a su vez, funciona para la producción de síntesis de ARNg, estos intermediarios son capeados (presencia de nucleótido modificado de guanina en el extremo inicial de la secuencia para proteger al transcrito de la degradación) y poliadenilados. Por otro lado, la síntesis de proteínas virales acontece en el citoplasma celular, usando la maquinaria de traducción celular, así, las primeras proteínas en producirse son las polimerasas virales, las cuales se redirigen al núcleo para aumentar la producción de ARN, mientras que las proteínas HA, NA y M2 se dirigen a la membrana celular. Proteínas no estructurales como la NS1, PB1 y PA tienen mecanismos de regulación de la respuesta inmune innata del huésped (Krammer et al., 2018). Debido a las características de su genoma, el virus acumula mutaciones, las cuales están en un rango entre 1×10^{-3} y 8×10^{-3} sustituciones por sitio por año, lo cual podría

alterar su composición aminoacídica y producir ventajas para su replicación o evasión de la respuesta inmune entre los virus implicados en brotes de enfermedad en los sistemas productivos (Taubenberger & Morens, 2008).

La proteína HA del virus influenza A H1N1, puede interactuar con residuos de ácido siálico de los tipos $\alpha 2,6$ (humano) y $\alpha 2,3$ (aviar) de las células epiteliales del tracto respiratorio. En los cerdos, ambos residuos están presentes, por ello, se considera que estos son el “vaso mezclador” debido a que permiten el ingreso de virus que infectan a las aves y a los humanos lo cual desencadena procesos como la mezcla y el reordenamiento de virus provenientes de estas especies cuando los dos infectan simultáneamente una célula epitelial (Crisci et al., 2013; MacLachlan & Dubovi, 2017). Este mecanismo, junto a las mutaciones presentes principalmente en las proteínas HA y NA son los principales mecanismos evolutivos del virus. Dentro de estos mecanismos mutacionales se encuentran el “Drift” el cual hace referencia a pequeños cambios nucleotídicos en las secuencias de estas proteínas lo cual genera virus filogenéticamente relacionados, aunque el acúmulo de estas pequeñas mutaciones puede llevar a cambios antigénicos, por otro lado, el “shift” antigénico hace referencia a mutaciones abruptas acaecidas en estas proteínas lo cual da lugar a nuevas proteínas, este proceso es menos frecuente que el “drift” antigénico (Gong et al., 2021).

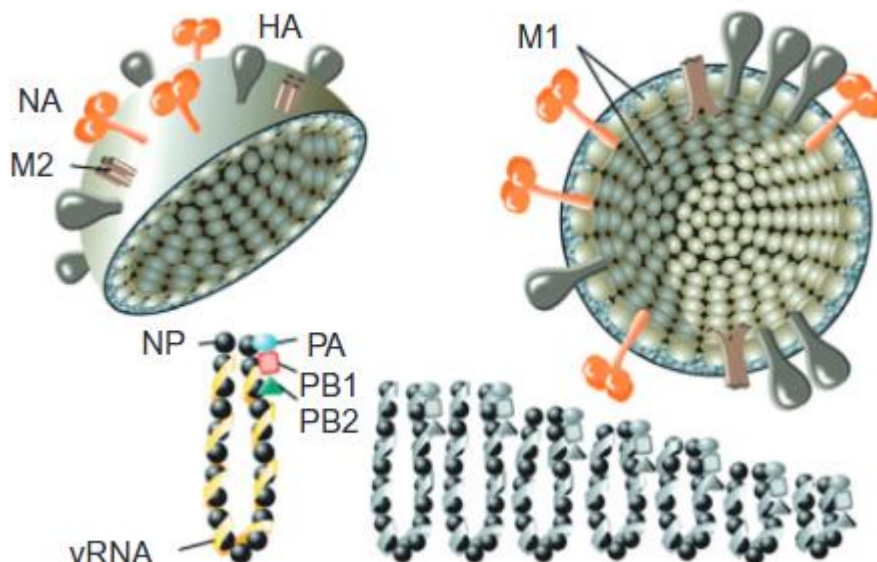


Figura 2. Representación esquemática de un virión del virus de la influenza A donde se encuentran las proteínas estructurales y no estructurales junto con el genoma segmentado ($n=8$). Tomado de (MacLachlan & Dubovi, 2017).

1.2.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus

El SIV entra en el sistema respiratorio gracias a su transmisión por aerosoles y se multiplica en las células del epitelio bronquial causando inflamación y subsecuente necrosis, además, el virus se puede encontrar en los tabiques interalveolares, a veces en el epitelio de los cornetes y en los ganglios linfáticos del mediastino. En el pulmón, los neumocitos alveolares tipo 2 se ven afectados y producen menos líquido surfactante lo cual favorece la manifestación clínica de la enfermedad al interferir con la capacidad de intercambio gaseoso (Iowa State University, 2022).

El período de incubación viral se da entre 24-72 horas post infección. Posteriormente aparecen los signos clínicos principales, los cuales son de tipo respiratorio y dentro de ellos se incluyen: tos, estornudos, secreción nasal que puede estar acompañada con pirexia, letargia y pérdida de apetito desencadenando pérdida de peso y disminución en el rango de crecimiento. La morbilidad puede llegar hasta 100% en cerdos de cualquier edad, sin embargo, la mortalidad está reportada en menos de 1%. Se ha establecido que los

animales jóvenes como lechones lactantes y destetos son más susceptibles a la infección por SIV, así mismo, juegan un papel importante en el mantenimiento del virus en la granja debido a que este puede replicarse más fácilmente en ellos y favorecer así la diseminación de la enfermedad a otros sitios dentro de la piara (Allerson et al., 2014; Kaplan et al., 2015). Adicionalmente, se reportan manifestaciones asociadas al fallo reproductivo porcino (FRP) relacionadas con la infección por SIV, como abortos y retorno al estro, asociadas a fiebres altas debido a alteraciones inmunológicas. Cuando la infección se vuelve endémica, los desórdenes reproductivos aumentan, así como los casos de enfermedades respiratorias severas, principalmente, en animales entre seis y siete semanas de edad (Capua & Munoz, 2013; Gale et al., 2020; Ma, 2020; Thompson & Paulson, 2021).

Las lesiones pulmonares generadas y hallazgos principales de la necropsia los constituyen áreas de consolidación multifocales de tonalidades púrpuras/rojizas en la región cráneo-ventral y en los lóbulos cardiaco y apical (Sarli et al., 2021; Yaeger & van Alstine, 2019). En la histopatología se aprecian exudados en bronquiolos, hiperplasia del epitelio bronquial y necrosis del epitelio alveolar (Bourret, 2018; Gale et al., 2020). También, se ha reportado que es uno de los agentes implicados en la manifestación de rinitis atrófica no progresiva (NPAR, por sus siglas en inglés) junto con otros agentes como el virus de la pseudorabia (PRV) y bacterias como *Bordetella bronchiseptica* (Sarli et al., 2021). El exudado inflamatorio en las vías respiratorias más pequeñas a veces las bloquea, lo que provoca las atelectasias, enfisemas y neumonías broncointersticiales (Iowa State University, 2022). Esto perjudica la fagocitosis de microorganismos secundarios por macrófagos alveolares llevando a un cuadro respiratorio agravado.

Luego de la infección primaria, células inmunes como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas y células NK son reclutadas con el objetivo de controlar la replicación y la diseminación viral, así como para generar una respuesta inmune innata y adaptativa que permita la limpieza viral y la reconstrucción del epitelio afectado (Crisci et al., 2013). Además de esto, otros componentes de la respuesta inmune innata como la proteína surfactante D y algunas proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva, haptoglobina (Hp), amiloide sérico A (SAA) y la proteína mayor de fase aguda del cerdo (Pig-MAP) son liberadas con la intención de generar una reacción inmunológica innata encargada de controlar el proceso infeccioso (Crisci et al., 2013).

La respuesta inmunológica aguda innata frente a la infección está caracterizada también por un aumento en la producción de INF- α , INF- γ TNF- α e IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 asociado con un aumento en las cargas virales a nivel pulmonar, el reclutamiento de macrófagos y neutrófilos, así como con la severidad del cuadro clínico debido a la muerte celular (Crisci et al., 2013). Con respecto a la respuesta inmune adaptativa celular, se ha demostrado un incremento en el número de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ asociados con una elevación en la producción de IgA a nivel de mucosa respiratoria y una agregación de estas subpoblaciones celulares en tonsilas y linfonódulos traqueobronquiales. Además, se han reportado aumento en la frecuencia de NK, células T $\gamma\delta$, así como LTreg, IL-10 y TGF- β . En la respuesta por anticuerpos, la IgG es la predominante a nivel sérico, mientras que la IgA es el isotipo predominante en el tracto respiratorio superior e inferior con un pico de producción para las dos entre la segunda y tercera semana posinfección (Crisci et al., 2013).

A pesar de que células del linaje monocito/macrófago, especialmente PAMs, y otros tipos de células como las dendríticas permiten la infección viral a través de los mismos receptores reportados para las células epiteliales, el proceso de replicación no es efectivo, sin embargo, se sabe que estos resultados varían de acuerdo con la subpoblación celular implicada, así como el tipo de virus infectante (Crisci et al., 2019). La infección abortiva de estas poblaciones celulares se asocia principalmente a fallas en el proceso de acidificación endosomal lo cual no permitiría la penetración del genoma viral en el citoplasma, además, se ha reportado que aun cuando exista producción de progenie viral, esta presenta fallas en la liberación debido a alteraciones en la interacción de la HA, NA y la M2. Sin embargo, gracias a que los PAMs y las células dendríticas permiten estos procesos, surge la hipótesis de que aun cuando el virus no genere producción o liberación de progenie, si puede modular la respuesta inmunológica de los macrófagos lo cual podría alterar su capacidad en la eliminación del virus o generar respuestas inmunes erráticas como tormentas de citoquinas que podrían agravar el cuadro clínico (Bougon, 2021; Cline et al., 2017; Meischel et al., 2020).

La proteína NS1 está principalmente asociada con la modulación de la respuesta inmune innata, así, se ha reportado que su dominio carboxilo terminal antagoniza la vía de producción del interferón tipo 1 a través de la minimización de la capacidad de detección del ARN viral en la célula huésped porque bloquea la activación de sensores

intracitoplasmáticos como el RIG-I. Además, la NS1 se une al TRIM21 y al RNF135, los cuales son requeridos por el RIG-I para su activación, con ello inhibe otras vías de inducción del interferón y de genes antivirales inducidos por el interferón como los MX1, EIF2AK2, OAS1 y la familia del IFITM. Por último, se ha reportado que inhibe la actividad de las proteínas JAK-STAT y es responsable de minimizar la capacidad de producción de ARNm en la célula huésped disminuyendo la producción de proteínas para el control viral, también inhibe la proteína NLRP3 envuelta en la activación del inflamosoma (Crisci et al., 2019; Park et al., 2018). Otras proteínas que intervienen en la disminución de la respuesta inmune mediada por el interferón son el complejo PB1-F2, el cual suprime la activación de la proteína MAVS, producida aguas abajo de la activación de la RIG-I y necesaria para la inducción del INF. Por otro lado, la proteína PA-x suprime la expresión génica del huésped debido a su actividad endonucleasa (Chauché et al., 2018; García-Satre, 2006; Jagger et al., 2012; Marazzi et al., 2012; Mibayashi et al., 2007; Rajsbaum et al., 2012; Vincent et al., 2008).

1.2.3 Epidemiología y métodos diagnósticos.

La transmisión viral se da por vía horizontal a través de la ruta oral-oral, fecal-oral, situación que es favorecida en sistemas productivos intensivos como los porcinos. Revisiones sistemáticas del comportamiento epidemiológico de la enfermedad como el de (Baudon et al., 2017), muestran que la prevalencia de SIV entre piaras en todo el mundo oscila entre 29.3% y 100%. Además, (Chauhan & Gordon, 2022) demostraron que los principales subtipos circulantes en granjas porcinas a nivel mundial son: H1N1, H3N2, H1N2 y el virus pandémico del 2009 (pAH1N1), seguidos por algunos virus de los tipos B, C y D. Se ha demostrado en China la transmisión del virus de la influenza equina (H3N8) al cerdo (Tu et al., 2009). Esta transmisión interespecie, evidencia que la diversidad genética del virus puede dar lugar a un aumento en el número de huéspedes. Esto es epidemiológicamente importante debido a que resulta necesario, entonces, analizar la presencia de este agente viral en otras especies animales que podrían llegar a contagiar a los cerdos o viceversa (Bourret, 2018; Byrd-Leotis et al., 2017; Parrish et al., 2015). Existen diferencias de acuerdo con el continente evaluado, así, en Norteamérica circulan en las granjas porcinas principalmente virus de los genotipos H3N2 y H1N1p, por su parte, en Europa, existe mayor diversidad de virus de influenza presentes, así se tiene el H1N1 tipo aviar, H3N2 y H1N1 tipo humano, virus con reordenamiento genómico entre H1 y H3 con genes del virus

pandémico H1N1. En Asia, los virus circulantes son H1N2, tipo aviar eurásico H1N1, trH1N2, trH3N2 y virus con reordenamiento genómico entre H1 y H3 con genes del virus pandémico H1N1 (Ma, 2020).

En Colombia, en el año 2012 se generó el primer reporte de SIV H1N1, principalmente asociado al virus pandémico (pH1N1) en granjas porcinas en muestras de hisopados nasal, lavados bronquiales y muestras de pulmón (Ramírez-Nieto et al., 2012). En el 2013, (Karlsson et al., 2013) reportó, en la región de los llanos orientales, una prevalencia de SIV del 13.4% (91/678) de las muestras de hisopados nasofaríngeos analizadas. Los análisis moleculares determinaron que los virus presentes en los porcinos eran: el pH1N1 (con una identidad de 97-100% con otros pH1N1 a nivel mundial) y el H3N2; también encontraron la circulación del virus H5N2 en una especie de patos conocida como patos silbadores. Para el año 2014, se detectó nuevamente la presencia del SIV pH1N1 en granjas de los departamentos de Antioquia y Valle del Cauca y también se encontró una interacción de SIV con PRRSV donde las granjas en las cuales circuló pH1N1 presentaban una disminución en la presencia de PRRSV o viceversa (Mancipe et al., 2014). Recientemente, en el 2018 (Flórez et al., 2018), se detectó SIV-A en el 11.9% de las 369 muestras de tejido pulmonar evaluadas provenientes de cinco regiones colombianas, tales como: Antioquia, Eje cafetero, Cundinamarca, Valle del Cauca y Meta. El análisis de sub-tipificación por qRT-PCR reveló que estas cepas poseían características moleculares asociadas a la cepa pH1N1. Los últimos resultados en el país muestran que los virus circulantes de pH1N1 en algunas muestras obtenidas de tres departamentos están clasificados dentro de los clados 1A.1 y 1A.3.3.2 (Osorio-Zambrano et al., 2022). Otros virus reportados en el país en aves lo constituyen en H11 (Jiménez-Bluhm et al., 2016), H9N2 y H5N2 (Afanador-Villamizar et al., 2017)

1.3 Circovirus porcino tipo 2-PCV2

1.3.1 Características moleculares.

El PCV2 es un miembro del género *Circovirus*, de la familia *Circoviridae*. Es un virus pequeño de 16 - 18 nm, icosaédrico y sin envoltura. Su genoma es ssADN circular de 1766-1768 nucleótidos, sin embargo, el intermediario replicativo es un dsADN cuyos genes

codifican en ambas hebras, tanto la positiva como la negativa (Olvera et al., 2007; Shang et al., 2009). El genoma contiene 11 ORFs, pero la expresión génica se ha reportado solo en cinco. El ORF1 (gen Rep) está localizado en la hebra positiva, su expresión acontece en dirección horaria, y codifica para las proteínas no estructurales Rep (314 aa) y Rep' (178 aa), el mecanismo de "splicing" alternativo es usado para transcribir la hebra codificante de Rep y Rep'. Por su parte, el ORF2 se encuentra en la hebra complementaria o negativa, su expresión se lleva a cabo en sentido antihorario, y codifica para la proteína estructural Cap (233-234 aa), la cual es antigénicamente más variable que la anterior, contiene los determinantes antigénicos del virus y cuenta con una función importante para el inicio de la replicación viral, determina la proliferación y virulencia viral. Además, el "Ori" u origen de replicación de ambos genes se encuentra en la región intergénica entre los extremos 5'. El ORF3 codifica para una proteína no estructural de 105 aa con función proapoptótica, y está ubicado en la hebra complementaria, con orientación en sentido antihorario, superponiéndose complementariamente al ORF1. El ORF4 (ubicado y orientado de la misma manera que el anterior) codifica para una proteína cuya función es suprimir la actividad de las caspasas 3 y 8 (antiapoptótica) y mecanismos regulatorios de la función inmunológica de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ (figura 4 y figura 5). Los mecanismos de interacción entre las proteínas proapoptótica y antiapoptóticas aún no se han dilucidado, sin embargo, se propone que las proteínas antiapoptóticas son producidas en la fase temprana de la infección para favorecer la replicación viral mientras que las proteínas proapoptóticas son producidas en las fases tardías para favorecer la liberación y diseminación de la progenie viral (He et al., 2013; MacLachlan & Dubovi, 2017; Pan et al., 2018; Segalés et al., 2019). Por último, el ORF5 codifica una proteína que activa las vías de inducción de autofagia celular PERK-eIF2 α -ATF4 y AMPK-ERK1/2-mTOR con el fin de promover la replicación viral (Lv et al., 2020).

El virus tiene tropismo por las células del linaje monocito/macrófago (principalmente alveolares y células dendríticas) y células epiteliales, e ingresa a través de la unión de su proteína Cap con los receptores celulares de heparán sulfato y glucosaminoglicanos como condroitin sulfato B. El mecanismo principal de este proceso se da gracias a la endocitosis mediada por clatrin. Se ha demostrado que es internalizado por células dendríticas inmaduras en las cuales se sugiere que el ingreso viral se hace a través de una vía no macropinocítica (MacLachlan & Dubovi, 2017).

Durante su estadía en el endosoma, una serine proteasa celular es necesaria para la salida viral debido a que es necesario un clivaje proteolítico de la proteína Cap durante este proceso, este es más efectivo en células epiteliales que en células monocíticas. Para el movimiento viral al interior celular la proteína Cap interactúa con la α y β tubulinas aumentando la acetilación tubular. Como todos los circovirus, la proteína Cap cuenta con señales de localización nuclear en su región N-terminal la cual interactúa con la fosfoproteína nucleolar nucleofosmina-1 (NPM1) el cual le permite ingresar al núcleo. Luego de esto, el ADN viral se replica utilizando enzimas celulares que son producidas durante la fase S del ciclo celular, o durante procesos de reparación, esto debido a que el virus carece de polimerasa propia. También, existen reguladores del ciclo de viral como la ciclina-porcina-A el cual es regulador negativo del ciclo de vida viral junto con la HMG-CoA reductasa, mientras que otros factores celulares con acción regulatoria positiva de la replicación viral lo constituyen las proteínas: Hsp70, Hsp27 y ZNF265 (Segalés et al., 2019).

La replicación ocurre a través del mecanismo de círculo rodante con la formación de estructuras tipo bucle en el genoma (MacLachlan & Dubovi, 2017). El hecho de que el proceso de replicación se de en aquellas células que se encuentran en un proceso activo de división es una característica de estos virus y que determina, en parte, su patogenicidad y sumado a su tropismo celular lleva a que el virus infecte un amplio rango de órganos. Otra característica es que la replicación se ve favorecida cuando existen procesos de inmunoestimulación debido a que aumentan las poblaciones celulares de leucocitos que pueden infectar. La salida viral se da sin destrucción celular y puede encontrarse la primera progenie viral a las 30 horas post infección (Ren et al., 2016).

Por otro lado, como ya se mencionó, las células epiteliales de órganos como el riñón y del sistema respiratorio, así como células endoteliales, enterocitos, acinos pancreáticos y células ductales también son objetivos de replicación del agente. Esto corrobora la hipótesis de que el virus necesita que la célula huésped se encuentre en fase S debido a que todas estas poblaciones celulares tienen una alta tasa mitótica (Kekarainen & Segalés, 2015).

El virus se ha caracterizado por una alta tasa mutacional (1.2×10^3 sustituciones por sitio por año), cambios en la dominancia de los genotipos a lo largo de los años, y algunos reportes sugieren la posible influencia de la vacunación en este proceso (Kekarainen &

Segalés, 2015). El ORF2 (gen Cap) muestra mayor variabilidad genética comparado con el ORF1 y es comúnmente usado como marcador filogenético y epidemiológico (Cao, et al., 2015; Olvera, et al., 2007; Ma, et al., 2021).

Basados en la secuencia del ORF2, el PCV2 se ha dividido en cinco diferentes genotipos principales: PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d y PCV2e (Davies et al., 2016; Ma et al., 2021; Opriessnig, et al., 2020; Wang et al., 2020). Actualmente se proponen dos genotipos más (PCV2g y PCV2h) (Rajkhowa et al., 2021; Sidler et al., 2020). Los genotipos relacionados principalmente con la manifestación sistémica de la enfermedad lo constituyen: PCV2a [el cual cuenta con 5 subgenotipos (2A-E)], PCV2b (con tres subgenotipos 1A-C) y PCV2d (con dos subgenotipos 2d-1 y 2d-2) (Yao et al., 2019).

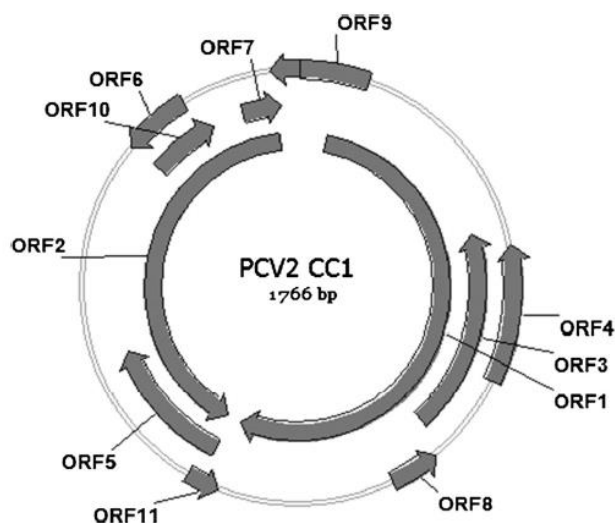


Figura 3. Representación esquemática del genoma de PCV2 CC1 en donde se evidencia la direccionalidad de transcripción de cada ORF y su ubicación predicha. Tomado de: (Ren, et al., 2016)

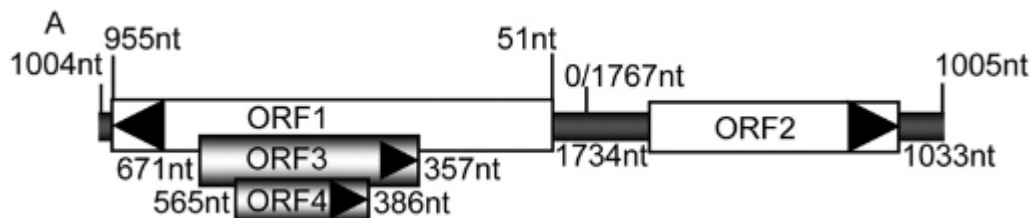


Figura 4. Organización genómica esquemática de cuatro ORFs del PCV2. Tomado de: (He et al., 2013)

1.3.2 Manifestaciones clínicas respiratorias y control celular por el virus

El PCV2 está involucrado en diferentes síndromes y enfermedades en porcinos a nivel mundial colectivamente denominados como enfermedades asociadas al circovirus porcino (PCVAD). El PCVAD tiene cuatro manifestaciones definidas (i) síndrome de dermatitis y nefropatía porcina (PDNS), (ii) el síndrome de desmedro sistémico posdestete (PMWS), (iii) enfermedad reproductiva y (iv) enfermedad subclínica. En relación con la enfermedad respiratoria clínica, la manifestación asociada es el síndrome sistémico o PMWS (Segalés, 2012).

Este es caracterizado por un daño severo al sistema inmunológico, con liberación exagerada de citoquinas proinflamatorias que desencadenan que la sintomatología clínica y las lesiones observadas se manifiesten debido, también, a efectos aditivos de la acción de otros patógenos. La viremia se manifiesta a partir de los 7 días posinfección (DPI), pero alcanzan el pico entre los 14-21 DPI; en campo, la seroconversión acontece entre la 7-12 semana y se mantiene al menos hasta la semana 28 (Kekarainen & Segalés, 2015).

En órganos linfoides se aprecia una severa depleción de células B, T y NK asociada con la acción del PCV2 en el contexto de la enfermedad sistémica (Darwich & Mateu, 2012; Zepeda-Cervantes et al., 2019). La infección en leucocitos se caracteriza por producir persistencia y no por una eficiente replicación viral debido a fallas en la acidificación endosomal, esto lleva, también, a una respuesta errática de citoquinas, llevándola a un aumento y prolongación en la producción de citoquinas o a una disminución en ambos aspectos, esto dependiendo del tipo celular y del tipo de citoquina. Además, se han determinado alteraciones en la presentación antigénica disminuyendo la funcionalidad de la respuesta innata y adaptativa humoral y celular. El resultado final de la infección normalmente es la presencia de efectos inmunopatológicos derivados de la replicación viral en las células epiteliales y en la producción errática de citoquinas lo que incrementa la susceptibilidad del huésped a otros agentes infecciosos y disminuye la funcionalidad linfocitaria (Dvorak et al., 2018; Kekarainen & Segalés, 2015). Se ha demostrado que algunas zonas del genoma viral (motivos CpG) son capaces de interactuar con receptores endosomales y citosólicos regulando su actividad hacia la inmunoestimulación o inmunodepresión, de acuerdo con el tipo de célula, a través de la modulación de las vías

de producción de IFN, TNF- α e IL-12. Otra característica que influye en el desenlace inmunomodulatorio de la infección por PCV2 es el balance o relación existente entre la cantidad de genoma viral de una sola hebra (efecto estimulador) con respecto a los intermediarios replicativos de doble hebra (efecto inhibidor) (Kekarainen & Segalés, 2015).

Las manifestaciones clínicas respiratorias son derivadas de edema pulmonar agudo: disnea y taquipnea, seguida de muerte súbita. Estas se presentan debido a la replicación viral en células mononucleares, epiteliales pulmonares y endoteliales que recubren los vasos sanguíneos pulmonares ocasionando daño celular, el cual, desencadena la liberación exacerbada de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , MCP-1, IL-1 β , 8 e IFN- γ) resultando en vasodilatación con la subsecuente liberación de plasma al intersticio pulmonar, lo cual lleva a una obstrucción del proceso de intercambio gaseoso y disminuyendo, por tanto, la capacidad del huésped de controlar el proceso infeccioso primario y la acción de otros microorganismos oportunistas que agravan el cuadro clínico. Esta situación acontece debido a que este agente, de la misma forma que PRRSV, llega al pulmón a través de la vía hematológica (Sarli et al., 2021).

Recientemente se demostró que la infección de macrófagos lleva a una polarización de estos hacia la reprogramación genómica para la activación de la subpoblación M1 lo cual sucede debido a la activación viral de las vías metabólicas del NF- $\kappa\beta$ y la JNK y la supresión de las vías de activación de la subpoblación M2. Esta polarización es importante para la manifestación clínica debido a que genera que los cerdos se vuelven más susceptibles a infecciones bacterianas secundarias en el contexto de la infección viral del PCV2 (Zhang et al., 2021).

Cuanto mayor sean las cargas virales presentes, la sintomatología será más severa debido a que la respuesta inflamatoria se exagera y, por tanto, la afectación del tejido pulmonar. Estas manifestaciones clínicas se han asociado principalmente a cerdos entre las 5 y 16 semanas de edad y algunas veces en animales adultos, sin embargo, no es común encontrarlos en cerdos entre una a tres semanas de edad, debido, presumiblemente a protección de los anticuerpos maternos (Chiu et al., 2011; Cino-Ozuna et al., 2011; Darwich & Mateu, 2012; A. M. M. G. de Castro et al., 2008; Rose et al., 2012; Segalés, 2012)

En la forma respiratoria, la evaluación histológica presenta neumonía intersticial granulomatosa, neumonía intersticial linfo-histiocítica o neumonía broncointersticial,

fibroplasia peribronquial, bronquiolitis necrotizante y ulcerativa, neumonía necrotizante proliferativa y también, neumonía por bronquiolitis obliterante (Chiu et al., 2011; Sarli et al., 2021; Segalés, 2012).

Con respecto a la inmunidad pasiva y activa frente al agente, los anticuerpos maternos son capaces de inhibir la manifestación sistémica de la enfermedad en cerdos de hasta cuatro semanas de vida. Las vacunas para la inmunización activa de los lechones pueden administrarse a partir de la tercera semana de vida con una duración aproximada de los anticuerpos producidos de 14 semanas. Se ha demostrado, además, que un programa de vacunación establecido es capaz de prevenir el efecto de la PCVAD en la salud porcina y en la producción a pesar de que no lo elimina por completo. Esto quiere decir que aun cuando las manifestaciones clínicas graves estén controladas, el virus sigue circulando en la granja posiblemente en bajas cargas lo cual permitiría la evolución viral (Figueras-Gourgues et al., 2019; Pleguezuelos et al., 2022; Vargas-Bermudez et al., 2018). Sin embargo, cuando la respuesta humoral es pobre, con bajos títulos de anticuerpos neutralizantes contra la proteína Cap, la probabilidad de manifestación sistémica es mayor. En modelos experimentales se ha demostrado que la vacunación contra PCV2 con vacunas que utilizan segmentos de la proteína Cap de PCV2a o PCV2b son efectivas para la inducción de respuesta inmune humoral y celular fuerte previniendo la manifestación sistémica de la enfermedad cuando los cerdos fueron sometidos a inoculaciones con PCV2d/PPV2 (Opriessnig, et al., 2020).

1.3.3 Epidemiología y métodos diagnósticos

El agente puede transmitirse debido a la mezcla de cerdos susceptibles con cerdos infectados a través del contacto directo con secreciones nasales, materia fecal, agujas contaminadas, fómites, calostro y leche, además, presenta la característica de permanecer durante varias semanas en el medio ambiente lo cual aumenta la probabilidad de infección de las nuevas poblaciones de cerdos (Rose et al., 2012). A nivel mundial la epidemiología del PCV2 varía dependiendo del genotipo predominante. El PCV2a se consideró el genotipo dominante entre 1996 y 2006, sin embargo, a partir de allí, las dinámicas epidemiológicas cambiaron, después de lo cual los genotipos dominantes actualmente y que están relacionados principalmente con las manifestaciones sistémicas de la enfermedad son PCV2b y PCV2d. Se ha demostrado que virus perteneciente o no al

mismo genotipo pueden coinfectar un cerdo. Además, se han propuesto que los eventos de recombinación viral pueden desarrollar nuevos genotipos de PCV2 (Franzo & Segalés, 2020; Ouyang et al., 2019; Rajkhowa et al., 2021).

En Estados Unidos, China, Korea y en algunos países europeos los PCV2a, PCV2b y PCV2d son los de mayor prevalencia, encontrándose además coinfección en cerdos con manifestaciones clínicas asociadas al PWMS (Guo et al., 2019; Guo et al., 2020; Lv et al., 2020; Saporiti et al., 2020; Xiao et al., 2016; Kim et al., 2018) En Colombia, (M. Rincón et al., 2014), demostraron la circulación de los genotipos PCV2a y PCV2b durante 2009 a 2011, de la misma manera (Vargas-Bermúdez et al., 2018) en un análisis durante el 2017 y posteriormente, (Almario-Leiva et al., 2020) encontraron que el genotipo predominante en los últimos años era el PCV2d y se asoció a casos de PMWS y PDNS, resultado corroborado por (Vargas-Bermúdez et al., 2022) a través de un análisis retrospectivo de muestras tomadas durante el 2015-2016 y 2018-2019, siguiendo el patrón epidemiológico del agente reportado en otros países.

El PCV2 se ha asociado con la presentación de enfermedades respiratorias junto con PRRSV y SIV. Por lo anterior, estos patógenos en conjunto se consideran como los principales agentes virales envueltos en el CRP, y las investigaciones han demostrado que la patogénesis del PCV2 se ve exacerbada por la coinfección con alguno de estos dos agentes virales (Ma et al., 2021; Ouyang, et al., 2019)

El virus se ha aislado en diversas líneas celulares como: porcine kidney 15 (PK-15) y en cultivos primarios de testículo, riñón e hígado porcino (Opriessnig et al., 2020) Sin embargo, la falta de efecto citopático apreciable en los cultivos se constituye como una limitante en el diagnóstico. El diagnóstico rutinario se hace por PCR convencional y PCR en tiempo real. Esta última brinda la posibilidad de establecer cargas virales que se pueden asociar con la presentación clínica (Segalés, 2012). Además, la inmunohistoquímica y la hibridación *in situ* son técnicas ampliamente usadas para la detección del antígeno para validar la acción infecciosa (Opriessnig et al., 2011). También se han desarrollado metodologías como LAMP, RFLP y Multiplex real time PCR (Guo et al., 2010; Wang et al., 2020; Woźniak et al., 2019).

1.4 Circovirus porcino tipo 3-PCV3

1.4.1 Características moleculares.

Es un virus que pertenece al género *Circovirus* de la familia *Circoviridae*. Es pequeño, desnudo e icosaédrico cuyo genoma ssADN circular con una longitud aproximada de 2000 nucleótidos que contiene tres ORFs. Los ORF1 y ORF2, orientados en direcciones opuestas como en el PCV2, codifican para las proteínas replicasa (Rep) y cápside (Cap) respectivamente, y entre cada uno de ellos existe una región intergénica que sirve como origen de replicación compartido, además, esta replicación acontece a través del mecanismo de círculo rodante con la formación de bucles en el ADN. La proteína Rep (cuya longitud oscila entre 294-295 aa) es 55% idéntica a su homóloga en los circovirus de los murciélagos, mientras que solo es 48% a la del PCV2. Por su parte, la proteína Cap (214 aa) es 36% similar a la del PCV2 a nivel genómico, pero tan solo 26% similar en términos de aa. Por último, el ORF3 se predice que codifica para una proteína de 231 aa cuya función en términos de infección viral aún no se ha establecido. Esta diferencia que existe entre PCV2 y PCV3 permite inferir que los mecanismos moleculares de infección y replicación celular no son similares, por lo cual, resulta necesario evitar extrapolar los conocimientos del PCV2 al PCV3 (Opriessnig, et al., 2020; Ouyang, et al., 2019).

Hasta hace poco el PCV3 no había podido ser cultivado en el laboratorio lo cual disminuye la información disponible con respecto a los mecanismos moleculares de entrada, de tráfico intracelular, de replicación viral, de salida y de modulación de la respuesta inmune innata y adaptativa. Solo fue hasta el 2020 cuando este agente pudo ser aislado a partir de un cultivo celular primario de riñón preparado a partir de órganos obtenidos de cerdos de 21 días de vida que fueron adquiridos en granjas comerciales (Oh & Chae, 2020). A partir de allí, surgieron estudios encaminados a dilucidar los mecanismos moleculares de ingreso viral y el subsecuente tráfico intracelular, tal como la aproximación de (Shi et al., 2021), quienes demostraron, en células PK-15, que el ingreso del PCV3 sucede a través de un proceso de endocitosis mediada por clatrina y dinamina-2. Además, se determinó que el virus requiere de un proceso de transporte endosomal temprano y tardío debido a que fue colocalizado con las proteínas reguladores del tráfico endosomal Rab5 y Rab7, no obstante el virus no a través del endosoma perinuclear de reciclaje durante su maduración, sumado a lo anterior, se probó que la acidificación endosomal es un proceso clave durante

el proceso de infección celular debido a que si el ambiente celular no es ácido se altera el movimiento endosomal y no ocurre el proceso de penetración viral al citoplasma.

Por su parte, en el mismo tipo de células, (Song et al., 2021) demostraron que (igual a lo que sucede en PCV2) la señal de localización nuclear ubicada en la región N-terminal de la proteína Cap (aa 1-38) del PCV3 interactúa con la proteína NMP1 promoviendo la traslocación viral al núcleo y, posteriormente del núcleo al citoplasma, favoreciendo la replicación. Además, el virus genera un aumento en la producción de ARNm codificante de la proteína NMP1 y su traslocación, como proteína, del nucleolo al citoplasma para que entre en contacto, de forma más eficiente, con la proteína Cap permitiendo así una replicación más efectiva. Sumado a esto, se demostró también que NMP1 está implicada en la inducción de la autofagia completa en células HEK-293T a través de la activación de la vía dependiente de la serine/treonine kinasa mTOR, un mecanismo relacionado posiblemente con el aumento en la replicación viral (Geng et al., 2020). Aun cuando no se conoce con certeza cuál o cuáles son los tipos celulares por los cuales el virus tiene tropismo, se hipotetiza que, de la misma manera que en PCV2, debido a la falta de polimerasas virales, es necesario que el virus infecte en un estadio en donde las polimerasas celulares se encuentren en una mayor cantidad con el fin de favorecer el proceso de replicación, además, de que estas células tengan una tasa mitótica alta que favorezca aún más ese proceso (Song et al., 2021).

1.4.2 Manifestaciones clínicas de la infección y control celular por el virus.

En los primeros reportes, las enfermedades que manifestaron los cerdos cuando se hizo el aislamiento de PCV3 por (Palinski et al., 2017; Phan et al., 2016) fueron PDNS e inflamación sistémica. Dentro de los casos que presentaron PDNS, los hallazgos clínicos fueron: vasculitis necrotizante, glomerulonefritis, linfadenitis granulomatosa y neumonía broncointersticial. Recientemente, algunos estudios han demostrado la presencia de material genético de PCV3 con hibridación *in situ* en células epiteliales de diversos órganos como pulmón, corazón, riñones, linfonódulos, bazo, hígado, sistema nervioso central e intestino delgado, así como en macrófagos presentes durante la infección del agente en el pulmón. Lo cual sugiere que, de la misma manera que PCV2, el virus necesita de células mitóticamente activas para su replicación, y este tropismo está relacionado con las

manifestaciones clínicas variadas que presentan los cerdos durante la infección (Alomar et al., 2021; Jiang et al., 2019)

En España, (Benito et al., 2020) determinaron, a partir de muestras enviadas para diagnóstico y asociadas a casuística respiratoria, que el 17.6% fueron positivas a PCV3, y de éstas, el 76% presentaban coinfección con al menos uno de los siguientes virus: PRRSV, PCV2 y PPV. En este mismo sentido (Kedkovid et al., 2018) en Tailandia determinaron que la prevalencia del PCV3 fue mayor en cerdos afectados por CRP (60%) que en cerdos sanos (28%). También encontraron lesiones macroscópicas como cambios en tonalidad de los pulmones y aumento de tamaño de los linfonódulos traqueobronquiales. A nivel microscópico se encontró neumonía broncointersticial, necrosis linfoide y proliferación histiocítica de los linfonódulos. Otras manifestaciones clínicas asociadas a la infección por PCV3 las constituyen: desordenes digestivos, principalmente diarrea (Qi et al., 2019), temores congénitos (Chen et al., 2017) y alteraciones reproductivas con transmisión vertical demostrada en infecciones en campo (Mora-Díaz et al., 2020; Vargas-Bermúdez et al., 2021).

Debido a la multiplicidad de sintomatologías clínicas presentes y siguiendo los criterios diagnósticos propuestos para la definición de los cuadros clínicos desencadenados por PCV2 y propuestos por (Segalés, 2012), (Saporiti et al., 2021) proponen la definición de casos individuales de las enfermedades asociadas al PCV3, así: i) enfermedad reproductiva, cuyas manifestaciones clínicas principales la constituyen abortos en estadios finales de la gestación, malformaciones, momificaciones, nacidos muertos y lechones débiles; y, ii) enfermedad sistémica, en donde los hallazgos clínicos son: signos respiratorios, emaciación y signos neurológicos. Las vasculitis necrotizantes, así como la arteritis y periarteritis en diferentes órganos parecen ser los hallazgos patológicos más relevantes y relacionados con las manifestaciones clínicas sistémicas y reproductivas de la infección por PCV3 (Alomar et al., 2021)

Las lesiones orgánicas sistémicas están asociadas a liberación exacerbada de citoquinas y quemoquinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-1 β , INF- γ , IL-6, CCL5 en el suero de animales experimentalmente infectados (Jiang et al., 2019). Además de ello, y contrario a lo que acontece con PCV2, existe una marcada eosinofilia, la cual puede estar relacionada con reacciones de hipersensibilidad y exacerbación de los procesos inflamatorios tisulares que lleva a necrosis subsecuente lo cual aumenta la inflamación, generando un efecto

aditivo, pudiendo esto correlacionarse con el amplio rango de órganos afectados y, por ende, de manifestaciones clínicas asociadas (Rakibuzzaman & Ramamoorthy, 2021). En líneas celulares humanas de riñón (HEK-293T) infectadas con el virus se ha demostrado que existe la proteína Cap induce la activación del NF- κ B a través de las vías de señalización mediadas por las proteínas RIG-1 y los TLR, y con un aumento subsecuente en la producción de IL-6 y TNF- α relacionándolo con una posible implicación en el daño celular (Liu et al., 2021). Con respecto a los mecanismos moleculares de control inmunológico demostrados para células epiteliales renales, la proteína Cap inhibe la producción de interferón tipo 1 gracias a que interfiere con el dominio de transactivación de la proteína STAT2, además, previene la unión de los elementos de respuesta estimulados por el interferón (ISRE), con el factor de respuesta de interferón (IRF9) en su complejo con la proteína S2C (H. Shen et al., 2020; P. Zhang et al., 2020).

En los estadios crónicos de la enfermedad existe un aumento en la producción de citoquinas de control inmunitario como la IL-10 e IL-23 α , lo cual se relaciona con alteraciones a nivel de respuesta de linfocitos Th1, la que a su vez influye en la capacidad de activación linfocitaria, y esto, sumado a la displasia linfoide generada por el proceso inflamatorio no regulado y a la necrosis linfocitaria, acarrea, resultados negativos en la capacidad del huésped de generar una respuesta inmune innata y adaptativa lo suficientemente efectiva para eliminar el agente y otros agentes oportunistas. Las respuestas por anticuerpos son variables y dependen de la capacidad del virus de modular la respuesta inmunológica, sin embargo, cuando se establecen niveles altos y persistentes de IgM e IgG el huésped es capaz de eliminar el agente. Sin embargo, tomando todo en su conjunto: la posibilidad de formación de complejos inmunes, favorecidos por las reacciones de hipersensibilidad asociadas a la eosinofilia, puede desencadenar desórdenes de la coagulación con la formación de trombosis fibróticas, generando necrosis de los tejidos y de los linfocitos de forma sistémica, favoreciendo las coinfecciones con agentes virales y bacterianos (Franzo et al., 2018; H. Jiang et al., 2019b; Mora-Díaz et al., 2020; Palinski et al., 2017; Phan et al., 2016; Rakibuzzaman & Ramamoorthy, 2021; H. Shen et al., 2020; P. Zhang et al., 2020).

1.4.3 Epidemiología y métodos diagnósticos

De acuerdo con la variabilidad de la proteína Cap se han propuesto diversas clasificaciones. Inicialmente se propuso la clasificación del PCV3 en tres clados: PCV3a, PCV3b y PCV3c (Chen et al., 2017; S. Chen et al., 2021; Fu et al., 2018; Li et al., 2018; Ouyang, et al., 2019; Qi et al., 2019; Xu et al., 2018). Una segunda clasificación fue de dos clados denominados PCV3a-1 y PCV3a-2 y un clado intermedio (PCV3a-IM) basados en análisis de secuencias de genoma completo (G. Li et al., 2018). Sin embargo, en la actualidad existe un consenso para su clasificación únicamente en dos clados (1 y 2) basado en secuencias de genoma completo reportadas, la cual fue propuesta por (Franzo et al., 2020), en la cual, la mayoría de las secuencias tienen un porcentaje de variación entre 2 a 6% y pueden ubicarse al interior del clado uno, mientras que dos secuencias chinas constituyen el clado dos, por ello, los autores sugieren que deben seguirse reportando secuencias y analizándolas para aumentar los datos sobre todo del segundo clado.

El PCV3 fue identificado en el 2016 en los Estados Unidos, casi simultáneamente, por dos grupos de investigación (Palinski et al., 2017; Phan et al., 2016) a partir de abortos de cerdas con PDNS y en lechones con miocarditis. Desde ese momento, se ha demostrado su distribución mundial. En Alemania, (Fux et al., 2018) determinaron, en muestras de suero tomadas de 53 granjas de engorde en animales con enfermedad respiratoria, que el 75% de las granjas (40/53) presentaban el genoma viral. En China, (Qi et al., 2019) realizaron la identificación del virus en el 12.2% de las 616 muestras de pulmones e intestino colectadas entre el 2015 y el 2017 provenientes de 21 provincias. Estudios retrospectivos han demostrado la circulación de PCV3 en las granjas a nivel mundial incluso antes de su primera detección en USA. Así, (Rodrigues et al., 2020), en Brasil, detectaron el virus en el 14.6% (26/178) de las muestras de tejidos (bazo, riñón, hígado, pulmón, intestino, corazón) recolectadas durante un periodo de 50 años (1967-2017), encontrando muestras positivas en las décadas de 1960, 1970, 2000 y 2010. Por su parte, (Ye, et al., 2018) detectaron el virus en 10/49 muestras de nódulos linfáticos colectadas entre los años 1993 y 2007 en Suecia. En China, (J. Sun et al., 2018) detectaron el PCV3 en el 6.5% de 200 muestras de riñón, bazo y linfonódulos, colectadas entre 1990 y 1999.

En Colombia, el primer reporte de PCV3 fue generado por (Vargas-Bermúdez et al., 2019) quienes lo aislaron en muestras de suero y de ganglio mesentérico provenientes del

departamento de Cundinamarca. Posteriormente, el PCV3 fue encontrado en otras regiones del país como Risaralda, Atlántico, Antioquia y Valle del Cauca (Vargas-Bermudez et al., 2022). Igualmente se probó el efecto del PCV3 en el FRP, determinando el virus en la placenta, en tejidos de mortinatos (siendo llamativo que las mayores cargas virales encontradas en lechones nacidos débiles se encontraron en pulmón) y presencia de cargas virales en los lechones recién nacidos que fueron disminuyendo a través de las semanas (Vargas-Bermúdez et al., 2021).

Es importante destacar que el PCV3 también se ha detectado en otras especies de mamíferos tanto domésticos, como los bovinos y los caninos, así como en mamíferos silvestres y algunos parásitos externos asociados a estos como garrapatas *Isodex spp* (Ouyang, et al., 2019). Sin embargo, un nuevo estudio cuestiona la importancia de estos últimos como agentes implicados en la transmisión de PCV3 entre mamíferos silvestres y, por tanto, su importancia epidemiológica (Grassi et al., 2020).

En cuanto al diagnóstico, el PCV3 se detecta a través de métodos moleculares como PCR convencional, real time PCR y también por métodos serológicos (Qi et al., 2019; P. L. Xu et al., 2018). Así mismo, la hibridación *in situ* es otra herramienta ampliamente utilizada en el diagnóstico de enfermedades porcinas, en especial PCV3 (Resende et al., 2019) Phan et al., 2016). El PCV3 se ha podido aislar en cultivos primarios de riñón porcino en el año 2020 (Oh & Chae, 2020), células HEK-293T (Liu et al., 2021) y PK-15 (Shi et al., 2021; Song et al., 2021). Además, recientemente, (Jiang et al., 2020) pudieron generar clones plasmídicos infecciosos de PCV3 e infectar experimentalmente ratones KM demostrando la aparición de síntomas tres días pos-inoculación, así como presencia del antígeno en los tejidos pulmonar y cardíaco, esto demostrado a través de inmunohistoquímica.

1.5 Parvovirus porcino tipo 2-PPV2.

1.5.1 Características moleculares

Los parvovirus (PVs) son pequeños virus no envueltos cuyo genoma es ADN de cadena sencilla (ssDNA) linear de entre 4 y 6 kilobases (kb) de longitud, en los extremos del genoma existen estructuras autocomplementarias tipo “hairpin”, de entre 120 a 600 nucleótidos, los cuales median la replicación del ADN (Cotmore & Tattersall, 2014; Kailasan et al., 2015). Cuentan además con dos ORF los cuales codifican para las

proteínas no estructural (NSP) transcrita por el promotor P4, y de cápside o proteína del virión (VP) transcrita por el promotor P40. La mayor de las proteínas NS, tradicionalmente denominada NS1, es una proteína multidominio que contiene un dominio de la superfamilia 3 de helicasas (SF3) altamente conservado con actividad helicasa y ATPasa, así como otros dominios con endonucleasa y actividad de unión a ADN específica de secuencia, todos los cuales son esenciales para la replicación viral (Cotmore et al., 2019; Guo et al., 2022; Péntzes et al., 2020; W. Shen et al., 2021). Las proteínas estructurales VP1 y VP2 se forman a partir de un mismo ARNm mensajero, no obstante, antes de la traducción acontece un proceso de escisión que las separa. Otra proteína, la VP3, proviene de una modificación postraduccional de la VP2, por último, existe una proteína no estructural tardía (SAT) expresada del mismo ARNm de la VP2 (Streck & Truyen, 2020)

Pertenecen a la familia Parvoviridae, la cual a su vez se subdivide en tres subfamilias: *Parvovirinae*, *Densovirinae* y *Hamaparvovirinae*. Dentro de las dos primeras se ubican los parvovirus porcinos, así, los géneros pertenecientes a la primera subfamilia son: *Bocaparvovirus*, *Protoparvovirus* (Porcine parvovirus 1-PPV1 y uno nuevo provisionalmente denominado PPV8), *Tetraparvovirus* (PPV2 y PPV3), *Copiparvovirus* (PPV4, PPV5 y PPV6), mientras que en la subfamilia *Densovirinae* se ubica el género *Chaphamarparvovirus* (PPV7) (Guo et al., 2022). Una de las características importantes de estos agentes es su alta tasa mutacional principalmente en los genes de la proteína VP (aproximadamente $3-5 \times 10^{-4}$ pspy), mientras que esta tasa es más moderada en la proteína NS ($3-5 \times 10^{-5}$ pspy) (X. Ren et al., 2013; Streck et al., 2015)

Su tropismo está dirigido hacia células mitóticamente activas debido a que se vale de la fase S del ciclo celular con el fin de utilizar la maquinaria de replicación, en especial la ADN polimerasa celular. Los parvovirus se unen a moléculas de la superficie celular glicosiladas y se internalizan mediante endocitosis mediada por clatrina (Streck & Truyen, 2020). Los viriones en los endosomas experimentan un cambio conformacional debido al proceso de acidificación, exponiendo los dominios VP1 PLA2 necesarios para la liberación. Los viriones intactos ingresan al núcleo, donde su horquilla genómica en 3' prepara la síntesis de la cadena complementaria utilizando la maquinaria celular de replicación del ADN, como la polimerasa celular. Esto crea una plantilla de transcripción dúplex, lo que permite que la transcripción de la ARN polimerasa II inicie la expresión génica. La replicación del ADN se produce a través de un mecanismo de horquilla rodante, que se basa en el despliegue y

replegamiento secuencial de los extremos de la horquilla. Los viriones de la progenie pueden exportarse rápidamente de las células vivas o acumularse en el núcleo hasta que se liberan por lisis celular (Cotmore et al., 2019; Cotmore & Tattersall, 2014; Kailasan et al., 2015). Un mecanismo alternativo para la exportación nuclear está dada a través de los complejos de poros nucleares utilizando la proteína de mantenimiento de región cromosómica 1, que se ve aumentada por la fosforilación del extremo N-terminal de la proteína VP2 (Mattola et al., 2022).

Para el caso específico del PPV2, (Novosel et al., 2018) realizó la primera aproximación para tratar de determinar el tropismo viral en cerdos, así, determinó genoma viral a través de PCR *in situ* en tejido pulmonar consistente con linfocitos y macrófagos, lo cual coincide con que los parvovirus requieren células con rápida división celular. Además, determinaron que el virus cuenta con tropismo hacia células que expresen la proteína del antígeno leucocitario porcino (SLA) tipo II de la clase DQ (SLAIIIDQ), esta última es una proteína que se expresa de forma constitutiva en la superficie de células presentadoras de antígenos profesionales como las células dendríticas, macrófagos y linfocitos B (Lunney et al., 2009; Techakriengkrai et al., 2021)

1.5.2 Manifestaciones clínicas de la infección y control celular por el virus

El PPV2 se ha asociado principalmente con manifestaciones clínicas de tipo respiratorio como tos, estornudos, secreción nasal y alteraciones de tipo productivo como disminución en las tasas de crecimiento en cerdos de diferentes edades (Saekhow & Ikeda, 2015). Con respecto a las investigaciones que se han realizado para poder determinar la influencia de este agente viral como causante de CRP a nivel mundial, (Novosel et al., 2018) demostraron la presencia de replicación viral en el tejido pulmonar de cerdos enfermos con sintomatología clínica utilizando PCR *in situ*, además, asociaron la presencia del virus con una reducción severa del espacio alveolar, acompañado con un incremento en la infiltración linfocitaria especialmente de los linfocitos T en las paredes alveolares y una reacción inflamatoria peribronquial como posibles causantes de la sintomatología. También, asociaron la presencia del PPV2 con el PCV2 en relación con un aumento en las manifestaciones clínicas de tipo sistémico. Otros reportes han mencionado resultados en ese mismo sentido. En ese sentido, (Opriessnig et al., 2014) demostraron que el PPV2 tiene los mayores rangos de detección y que además la concurrencia entre PCV2/PPV2

fue mayor en granjas con cerdos afectados por PCVAD, comparado con granjas infectadas de forma subclínica o negativas a PCVAD. (Xiao et al., 2013), por su parte, demostró que el PPV2 era más prevalente en tejido pulmonar de cerdos con enfermedad respiratoria de diferentes edades, principalmente en animales posdestete sobre todo en la etapa posterior a las 10 semanas de vida.

Con relación al CRP, (Nelsen et al., 2021), determinaron que el 39% de las muestras de los cerdos afectados por enfermedad respiratoria eran positivas a PPV2, además utilizando hibridación *in situ* y microarreglos tisulares demostraron la presencia del virus en macrófagos alveolares desencadenando neumonía intersticial. Los autores también demostraron que el PPV2 no se asoció a la presencia de ningún otro agente viral evaluado, y que además era más prevalente que los demás virus evaluados y considerados como agentes primarios causantes de CRP (PRRSV, SIV y PCV2). Un aspecto importante fue que el virus fue detectado en muestras de tejido pulmonar desde los fetos hasta cerdos adultos mayores de 25 semanas, teniendo la mayor positividad en esta última etapa asociado con mayores manifestaciones clínicas respiratorias.

Un estudio analizando muestras de cerdos sanos demostró que el virus que mayor distribución mostró fue el PPV2, en un 55% de los corazones evaluados y en el 78% de las tonsilas evaluadas, esto indica que el virus tiene mayor capacidad de diseminación sistémica y, por tanto, el desarrollo de enfermedad en asocio con otros agentes (Streck et al., 2013). El virus también fue detectado en el 58% de cerdos sanos y en el 100% de cerdos enfermos caracterizados por baja tasa de crecimiento aumentado por la coinfección con el PCV2 (Saekhow & Ikeda, 2015). (Lagan Tregaskis et al., 2021) determinó que el PPV2 desencadenaba neumonía y bronconeumonía en cerdos a partir de las 10 semanas de vida, además que este agente viral estaba principalmente asociado con el PCV2 aumentando la sintomatología clínica asociada al CRP y al PCVAD. En ese mismo sentido, una investigación demostró que la prevalencia del PPV2, así como las manifestaciones clínicas de tipo respiratorio aumentaban cuando los cerdos se encontraban en coinfección con PRRSV, sin importar si también existía coinfección con PCV2, lo cual podría indicar que las dinámicas virales de los parvovirus se ven influenciadas en mayor medida por PRRSV, sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar esta hipótesis (S. C. Kim et al., 2022).

El proceso de replicación viral desencadena una alteración de la membrana mitocondrial, liberando sustancias citotóxicas como la citocromo c-oxidasa, desencadenando un proceso de apoptosis que deriva en muerte celular y daño tisular asociado a la manifestación clínica de la enfermedad, esto le confiere a los parvovirus ventajas para su rápida diseminación y explicaría la sintomatología clínica asociada de inflamación sistémica (Streck & Truyen, 2020). Sumado a esto, se ha podido demostrar que las especies reactivas de oxígeno (ROS) también hacen parte del mecanismo fundamental a través del cual los parvovirus son capaces de desencadenar la rápida muerte celular, y que estas son inducidas principalmente por la proteína NS1, esta proteína inhibe significativamente la producción de proteínas antiapoptóticas como la Bcl-2 y Mcl-1, mientras que aumenta la producción de proteínas tipo Bax, P21 y P23 en tejido placentario (J. Zhang et al., 2019; X. Zhao et al., 2016). Otro estudio demostró que esta misma proteína activaba el NF- κ B a través de del TLR2, lo cual generaba la inducción de la producción de IL-6 y TNF- α las cuales son citocinas proinflamatorias (Jin et al., 2020), esto es corroborado por (Cao et al., 2017), quien demostró en células PK-15 el mismo proceso de activación del NF- κ B. Estudios previos realizados con el PPV1 y su relación con la manifestación de PCVAD en cerdos ha demostrado que el aumento de la sintomatología clínica se relaciona principalmente con un aumento en la producción de TNF- α (J. Kim et al., 2006). No obstante, el virus tiene la capacidad de controlar el estrés que sufre la célula a nivel de retículo endoplásmico, mediada por la proteína quinasa tipo R ER quinasa, debido a que, si este proceso se da muy pronto durante el proceso de infección viral, es capaz de prevenir la correcta replicación viral (Cao et al., 2020)

1.5.3 Epidemiología y métodos diagnósticos

Sus características epidemiológicas están principalmente marcadas por una alta estabilidad en el medio ambiente, por lo cual puede mantenerse durante meses en los espacios y contaminar así los instrumentos y utensilios utilizados de forma rutinaria en las granjas, favoreciendo su diseminación constante (Streck & Truyen, 2020). Su transmisión está principalmente asociada con el contacto directo con secreciones nasales y fecales de cerdos infectados, sin embargo, recientemente se ha postulado la posibilidad de transmisión a través de vectores como el mosquito, de las especies *Culex tritaeniorhyncus*, *Anopheles sinensis*, *Armigeres subalbatus* y *Aedes aegypti* (Hameed et al., 2021).

Los parvovirus se han reportado ampliamente en diversos países a nivel mundial, y existe un gran aumento de divergencias entre los agentes, tal es así que a hoy existen ocho especies de parvovirus porcinos, para las cuales están comenzando las investigaciones encaminadas en dilucidar sus efectos clínicos solos o en coinfección con otros agentes virales y bacterianos. La primera detección de lo que se denominó PPV2 ocurrió de forma incidental durante un análisis epidemiológico del virus de la Hepatitis E (Xiao et al., 2013), Luego de ello, (Cságola et al., 2012) determinó la prevalencia de múltiples parvovirus en Hungría, determinando que el PPV2 era el más prevalente con un porcentaje de positividad del 6.4% principalmente en muestras de tejido, en ese mismo sentido, (Xiao et al., 2013), determinaron a través de PCR en tiempo real la circulación de este agente viral de casos de enfermedad en cerdos entre el 2011 y el 2012, encontrando la prevalencia más alta en tejidos pulmonares (20.7%) seguido por muestras de materia fecal (7.6%). Luego de ello, los reportes a nivel mundial siguieron creciendo (Opriessnig et al., 2014) demostraron la circulación del virus a partir del año 1998 en granjas estadounidenses, lo cual demuestra que el agente viral ha estado presente hace varias décadas en las granjas porcinas sin poder evaluar su efecto en el desarrollo de enfermedades. El virus ha sido reportado más o menos con los mismos patrones, es decir, mayor prevalencia del PPV2 con respecto a los otros parvovirus, mayor positividad en muestras de tejido pulmonar u órganos linfoides, asociación con agentes virales como PCV2 y PRRSV, el múltiples países como Polonia con PCR en tiempo real (Milek et al., 2019), Estados Unidos con PCR *in situ*, inmunohistoquímica e hibridación *in situ* (Nelsen et al., 2021; Novosel et al., 2018), Hungría a través de qPCR y ELISA (Cságola et al., 2016), Tailandia utilizando PCR a punto final (Saekhow et al., 2014; Saekhow & Ikeda, 2015), China (metagenómica) (S. Yang et al., 2022), Alemania (PCR de punto final) (Streck et al., 2013) y Colombia (RT-PCR, secuenciación, IHQ e ISH) (datos no publicados)

1.6 Parainfluenza Porcina tipo 1-PPIV1

1.6.1 Características moleculares

Es un virus ARN de cadena sencilla (ssARN) de sentido negativo cuya longitud es de aproximadamente 15 kb, el cual codifica para 6 proteínas mayores, dentro de las cuales la proteína de fusión (F) y hemaglutinina-neuraminidasa (HN) son especialmente importantes para la unión al receptor, entrada y fusión entre la envoltura viral y la membrana celular,

además, hacia ellas están dirigidas los anticuerpos neutralizantes. Hace parte del género *Respirovirus*, de la familia *Paramyxoviridae* la cual incluye también a agentes como *Bovine respirovirus 3*, *Caprine respirovirus 3*, *Human respirovirus 1*, *Human respirovirus 3* y *Murine respirovirus*, los cuales, se han asociado a manifestaciones clínicas respiratorias en animales domésticos y humanos. El PPIV-1 está genéticamente relacionado con el *Human respirovirus 1*, sin embargo, su potencial zoonótico no se ha dilucidado (Agüero et al., 2020; Amarasinghe et al., 2018, 2019; Lau et al., 2013).

Un reciente estudio genómico muestra la divergencia entre dos linajes de cepas de PPIV-1 (PPIV-1a y PPIV-1b) en China, además, evidenciaron el surgimiento de una nueva especie denominada PPIV-2. Por último, determinaron también eventos de recombinación heterosubtípica entre PPIV-1a y PPIV-1b sin eventos de recombinación intrasubtípica que podrían favorecer su evolución y divergencia antigénica (Zhao et al., 2022). Por su parte, Stadejek et al., 2022 encontraron, a partir de secuencias aisladas de cerdos con PRDC en Europa, Asia y América la existencia de dos clados, el clado 1 el cual agrupa las secuencias europeas y asiáticas mientras que las secuencias americanas constituyen el clado 2, lo cual indica un origen evolucionado distinto entre ambos virus. Su transmisión ocurre a partir de secreciones nasales en contacto estrecho con cerdos infectados y se une a los residuos de ácido siálico unidos a glicolípidos y glicoproteínas de las células epiteliales del tracto respiratorio superior e inferior gracias a la HN, ingresando y generando su replicación citoplasmática lítica (Henrickson, 2003).

1.6.2 Manifestaciones clínicas de la infección

En USA, (Palinski et al., 2016) reportaron a través de métodos moleculares, que el 6.1% de las muestras fueron positivas para PPIV-1, sin embargo, encontraron un patrón en el cual el tipo de muestra más importante para la detección del virus fue el hisopado nasal con respecto al pulmón. Así, a través de hibridación *in situ*, demostraron la replicación del agente en el epitelio nasal y traqueal, pero no en el pulmonar, además, encontraron lesiones inflamatorias causantes de enfermedad respiratoria a través de análisis histopatológicos, sin embargo, estas no pudieron ser completamente asociadas al PPIV-1, por lo tanto, se plantea su implicación como agente epiteliotrópico secundario y la importancia en campo del uso de muestras de tejido nasal y traqueal para la detección del agente a nivel poblacional.

Estudios realizados en lechones Cesarean-derived/Calostrum-deprived (CDCD) demostraron altas cargas virales en pulmones, mucosa proximal y distal de la tráquea y en el turbinado nasal a los 2 y 5 días pos-infección con una cepa americana, además, demostraron su replicación en el epitelio de bronquios, bronquiolos, tráquea, septos alveolares pulmonares y turbinado nasal, lo cual demuestra su ubicuidad en el tracto respiratorio. Así mismo, se demostró que, a pesar de no contar con anticuerpos maternos para el control inicial de la enfermedad, el virus no desencadenaba una enfermedad sistémica, sino que se mantenía restringido al epitelio respiratorio causando reacciones inflamatorias leves y moderadas (Welch et al., 2021).

Por otro lado, (Welch et al., 2023) determinaron que existe un potencial de patogénesis diferenciada de acuerdo con la cepa de PPIV-1 utilizada para la infección de cerdos de tres semanas de edad. Así, encontraron que aun cuando no existían diferencias en términos de seroconversión, replicación y secreción viral o disminución en la ganancia de peso en los lechones evaluados, si existían diferencias en términos de lesiones microscópicas pulmonares (mayores con la cepa IA17). Además, demostraron que el *Human parainfluenza virus-1 C35 ATCC® VR-94™* (HPIV1) fue capaz de replicarse en los cerdos luego de la infección experimental. Aun cuando esto pruebe la posible influencia del PPIV-1 en las manifestaciones respiratorias y de que estas podrían llegar a ser diferentes de acuerdo con la cepa circulante en la granja, resulta necesario corroborar como varía su comportamiento y patogénesis de acuerdo con las coinfecciones virales o bacterianas que pueden presentarse en campo.

1.6.3 Epidemiología y métodos diagnósticos

El primer reporte de este agente se realizó en muestras provenientes de cerdos sacrificados en China, en donde fue principalmente detectado en muestras de epitelio nasofaríngeo (3.1%), en hisopados rectales (0.7%) en cargas virales de hasta 10^{-6} copias/mL, pero no en muestras de pulmón. Los investigadores asociaron este resultado a dos factores, el primero la poca cantidad de muestra que se había tomado del órgano, y la segunda, la posibilidad de una replicación restringida a nivel de tracto respiratorio superior (Lau et al., 2013).

Park et al., 2019) detectaron al PPIV-1 en el 43.3% de las muestras evaluadas (365/842) provenientes de diversos estados de USA, en donde los mayores rangos de detección

fueron en muestras de fluidos orales e hisopados nasales (67.6% y 64.1% respectivamente) con respecto al pulmón (13.8%) lo cual sugiere la replicación del virus en el tracto respiratorio superior e inferior y que están relacionadas con el tipo de muestra que puede considerarse de elección. Un aspecto importante de esta investigación fue el exitoso aislamiento de dos cepas americanas en líneas celulares tipo LLC-MK2, lo cual permite investigaciones de patogénesis y respuesta inmunológica frente al agente

En Chile se generó el primer reporte de la presencia del PPIV-1 de sur américa, hallándolo a través de RT-PCR en el 18.9% de las muestras evaluadas (31 de 169) de cerdos entre 3 y 11 semanas con sintomatología asociada al PRDC. El tipo de muestra más prevalente fueron los fluidos orales (62.5%), seguido por hisopados nasales (19%) y pulmón (8.6%). De las 31 muestras positivas a PPIV-1, 21 fueron positivas a SIV. Esto es importante porque demanda la detección de la replicación de los agentes y, por tanto, la dilucidación del efecto que ejerce uno sobre el otro. En Europa, por su parte, el primer reporte fue de (Denés et al., 2020) quienes determinaron la circulación del virus en varias etapas de vida encontrando también mayores cargas virales en animales de 4 semanas de vida, todo ello, utilizando muestras de hisopados nasales. En Alemania y Holanda, (Schuele et al., 2021) en granjas positivas a PRRSV y SIV el PPIV-1 fue detectado, por primera vez, el muestras de fluidos orales, suero e hisopados nasales, todos en pooles.

Los resultados de (Wozniak et al., 2022) muestran que el virus circula en el 76,7% de granjas evaluadas con enfermedad respiratoria leve a moderada. Se encontraron coinfecciones con SIV (23.5%) y PRRSV (11.8%) en corrales con cerdos enfermos. Además de ello, se detectó una triple coinfección entre ellos relacionado con enfermedad respiratoria. Es interesante notar que las cargas virales para PPIV-1 en coinfección fueron mayores que cuando el virus se encontró solo, lo cual podría sugerir la posibilidad de una influencia positiva de la coinfección en la replicación viral del PPIV-1. Por otro lado, la detección del virus en poblaciones de cerdos que presentan signos clínicos respiratorios, negativos para PRRSV e SIV-A, sugiere que PPIV-1 debería estar involucrado en el diagnóstico diferencial de problemas respiratorios.

1.7 Manifestaciones clínicas del CRP

Las manifestaciones clínicas están asociadas a los diversos mecanismos que emplean los agentes etiológicos durante su proceso replicativo. Cuando dos o más agentes virales

están presentes durante la infección los efectos en la manifestación de la sintomatología clínica tienden a aumentar (Kumar et al., 2018; Saade et al., 2020). Los síntomas generales presentes en el CRP ocasionado por virus son: estornudos, tos, disnea, secreciones nasales bilaterales serosas o seropurulentas (esta última cuando se presentan coinfecciones bacterianas), secreciones oculares, conjuntivitis, pirexia, letargia, disminución en el consumo de alimento y baja tasa de crecimiento. En la necropsia, las lesiones asociadas son: edema pulmonar severo con consolidación, edema linfonodular; en algunos casos se ha evidenciado hiperplasia intersticial pulmonar y congestión. También áreas de consolidación multifocales de tonalidades púrpuras/rojizas en la región cráneo-ventral de los pulmones (Chand et al., 2012; Gale et al., 2020; Ma, 2020; Thompson & Paulson, 2021; Turlewicz-Podbielska et al., 2021; Zhao et al., 2020).

Los porcentajes de morbilidad en granjas con CRP varían por la diversidad de manifestaciones que dependen de múltiples factores, sin embargo, estos oscilan entre un 30% - 70%, mientras que los porcentajes de mortalidad oscilan entre 4% - 16% (Opriessnig et al., 2011). Resulta necesario anotar que la determinación, a través de la sintomatología clínica, de si los virus o las bacterias son las responsables directas del problema respiratorio reviste dificultad debido a que una enfermedad de origen viral puede estar eclipsada por el efecto de enfermedades secundarias subsecuentes y también porque la sintomatología clínica generada por los diversos agentes virales es similar y, además de ello, pueden estar presentes de forma inconsistente (Sarli et al., 2021).

Aún no se ha dilucidado por completo en las coinfecciones entre estos virus cuál es la implicación de que uno u otro sea el agente infectante primario o secundario. Sin embargo, los estudios *in vivo* han demostrado que para el caso de la coinfección entre PRRSV y PCV2, sin importar cuál de los dos sea el agente infeccioso primario la tasa de replicación de ambos aumenta, situación que es favorecida posiblemente por los mecanismos de replicación viral compartidos, como la autofagia, y la capacidad de control inmunológico innato y adaptativo. Por otro lado, en términos de coinfección entre PRRSV (primoinfección) y SIV resultados son discordantes y algunos estudios demuestran que la tasa de replicación de los agentes disminuye. Por último, sin importar cuál de los tres agentes esté en coinfección o cuál de ellos sea el primero en infectar, existe un incremento en las manifestaciones clínicas respiratorias de la infección, este proceso es debido, posiblemente, a que todos los agentes generan alteraciones inmunológicas relacionadas

con una producción exacerbada de citoquinas, alteraciones vasculares con salida de plasma al intersticio, así como daños en los neumocitos productores de líquido surfactante, todo esto lleva a incapacidad de intercambio gaseoso y está relacionado, por tanto, con las manifestaciones clínicas evidenciadas. Para una revisión más profunda de los resultados aquí expuestos remitirse a (Saade, et al., 2020)

Un resumen de los mecanismos y las consecuencias de las infecciones virales únicas o en coinfección involucradas en el CRP puede encontrarse en la (figura 6)

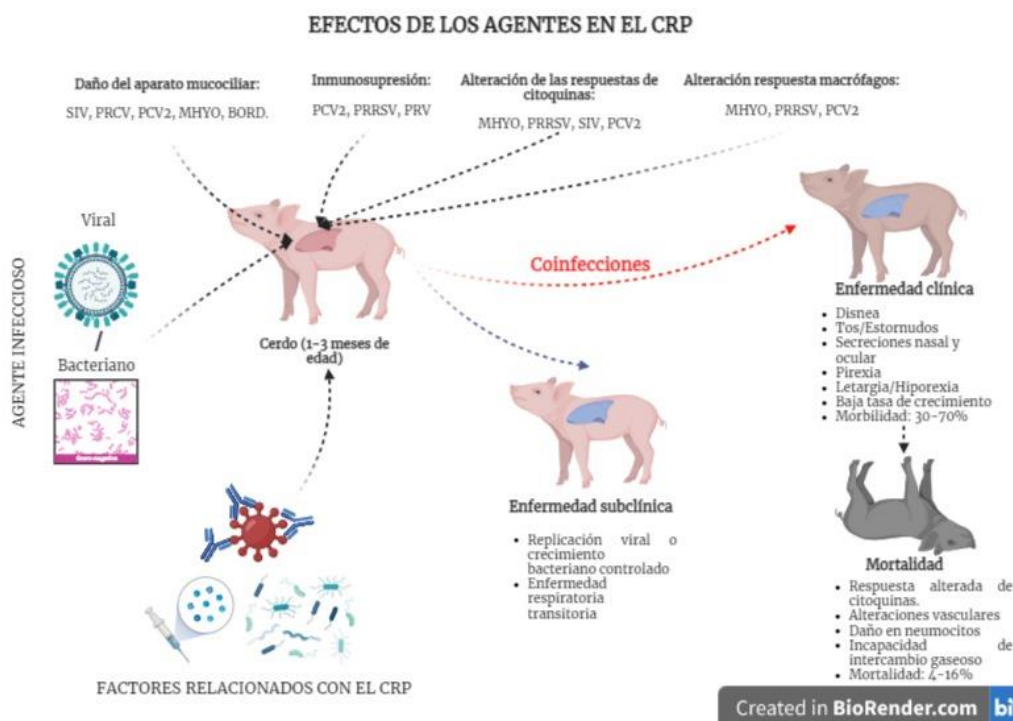


Figura 5. Interacciones y resultados presentes en las manifestaciones del CRP. Modificado de (Opriessnig et al., 2011)

Bibliografía

Afanador-Villamizar, A., Gomez-Romero, C., Diaz, A., & Ruiz-Saenz, J. (2017). Avian influenza in Latin America: A systematic review of serological and molecular studies from 2000-2015. PLoS ONE, 12(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179573>

Agüero, B., Mena, J., Berrios, F., Tapia, R., Salinas, C., Dutta, J., van Bakel, H., Mor, S, et al. (2020). First report of porcine respirovirus 1 in South America. *Vet. Microbiol.* 246:108726. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108726.

Allerson, M. W., Davies, P. R., Gramer, M. R., & Torremorell, M. (2014). Infection dynamics of pandemic 2009 H1N1 influenza Virus in a two-site swine herd. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61(6), 490–499. <https://doi.org/10.1111/tbed.12053>

Almario-Leiva, G., Suarez-Mesa, R., Uribe-García, F., & Rondón-Barragán, I. (2020). Detection and characterization of porcine circovirus type 2 (PCV2) circulating in pigs of the departments of Tolima and Huila, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 31(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17553>

Almeida, M. N., Zimmerman, J. J., Wang, C., & Linhares, D. C. L. (2018). Assessment of abattoir based monitoring of PRRSV using oral fluids. *Preventive Veterinary Medicine*, 158, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.08.002>

Alomar, J., Saporiti, V., Pérez, M., Gonçalves, D., Sibila, M., & Segalés, J. (2021). Multisystemic lymphoplasmacytic inflammation associated with PCV-3 in wasting pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2969–2974. <https://doi.org/10.1111/tbed.14260>

Amarasinghe, G.K., Aréchiga Ceballos, N.G., Banyard, A.C., Basler, C.F., Bavari, S., Bennett, A.J., et al. (2018). Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2018. *Arch. Virol.* 1:12. Doi:10.1007/s00705-018-3814-x.

Arruda, A. G., Tousignant, S., Sanhueza, J., Vilalta, C., Poljak, Z., Torremorell, M., Alonso, C., & Corzo, C. A. (2019). Aerosol detection and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Prrsv): What is the evidence, and what are the knowledge gaps? *Viruses*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/v11080712>

Assao, V. S., Santos, M. R., Pereira, C. E. R., Vannucci, F., & Silva-Júnior, A. (2021). Porcine circovirus 3 in North and South America: Epidemiology and genetic diversity. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2949–2956. <https://doi.org/10.1111/tbed.14238>

Baudon, E., Peyre, M., Peiris, M., & Cowling, B. J. (2017). Epidemiological features of influenza circulation in swine populations: A systematic review and meta-analysis. In *PLoS ONE* (Vol. 12, Issue 6). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179044>

Benito, A., Arnal, J., Martín, D., & Chacón, G. (2020). Identificación molecular del Circovirus porcino 3 en procesos respiratorios y reproductivos. *SUIS*, 164(1), 15–19.

Bian, T., Sun, Y., Hao, M., Zhou, L., Ge, X., Guo, X., Han, J., & Yang, H. (2017). A recombinant type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus between NADC30-like and a MLV-like: Genetic characterization and pathogenicity for piglets. *Infection, Genetics and Evolution*, 54, 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.07.016>

Bjuström-Kraft, J., Christopher-Hennings, J., Daly, R., Main, R., Torrison, J., Thurn, M., & Zimmerman DVM, J. (2018). The use of oral fluid diagnostics in swine medicine. *Journal of Swine Health and Production*, 26(5), 262–269. <http://www.aasv.org/shap.html>.

Blomström, A. L., Ye, X., Fossum, C., Wallgren, P., & Berg, M. (2018). Characterisation of the virome of tonsils from conventional pigs and from specific pathogen-free pigs. *Viruses*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/v10070382>

Bordet, E., Maisonnasse, P., Renson, P., Bouguyon, E., Crisci, E., Tiret, M., Descamps, D., Bernelin-Cottet, C., Urien, C., Lefèvre, F., Jouneau, L., Bourry, O., Leplat, J. J., Schwartz-Cornil, I., & Bertho, N. (2018). Porcine alveolar macrophage-like cells are pro-inflammatory pulmonary intravascular macrophages that produce large titers of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28234-y>

Bougon, J. (2021). Etude immuno-virologique de la co-infection par les virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin et de l'influenza porcin [Doctorat]. Université de Rennes.

Bourret, V. (2018). Avian influenza viruses in pigs: An overview. *The Veterinary Journal*, 239, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.07.005>

Brockmeier, S. L., Halbur, P. G., & Thacker, E. L. (2002). PORCINE RESPIRATORY DISEASE COMPLEX. In *Polymicrobial diseases*.

Byrd-Leotis, L., Cummings, R. D., & Steinhauer, D. A. (2017). The interplay between the host receptor and influenza virus hemagglutinin and neuraminidase. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071541>

Calderón Díaz, J. A., Fitzgerald, R. M., Shalloo, L., Rodrigues da Costa, M., Niemi, J., Leonard, F. C., Kyriazakis, I., & García Manzanilla, E. (2020). Financial Analysis of Herd Status and Vaccination Practices for Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Swine Influenza Virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae* in Farrow-to-Finish Pig Farms Using a Bio-Economic Simulation Model. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.556674>

Canelli, E., Borghetti, P., Ferrari, L., De Angelis, E., Ferrarini, G., Catella, A., Ogno, G., & Martelli, P. (2016). Immune response to PCV2 vaccination in PRRSV viraemic piglets. *Veterinary Record*, 178(8), 193. <https://doi.org/10.1136/vr.103637>

Cao, L., Chen, J., Wei, Y., Shi, H., Zhang, X., Yuan, J., Shi, D., Liu, J., Zhu, X., Wang, X., Cui, S., & Feng, L. (2017). Porcine parvovirus induces activation of NF- κ B signaling pathways in PK-15 cells mediated by toll-like receptors. *Molecular Immunology*, 85, 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.12.002>

Cao, L., Xue, M., Chen, J., Shi, H., Zhang, X., Shi, D., Liu, J., Huang, L., Wei, Y., Liu, C., & Feng, L. (2020). Porcine parvovirus replication is suppressed by activation of the PERK signaling pathway and endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. *Virology*, 539, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.09.012>

Capua, I., & Munoz, O. (2013). Emergence of influenza viruses with zoonotic potential: Open issues which need to be addressed. A review. *Veterinary Microbiology*, 165(1–2), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.044>

Castro, N. (2015). Análisis filogenético de la región ORF5 del Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV) provenientes de granjas porcícolas Colombianas [Instituto de Biotecnología-IBUN]. Universidad Nacional de Colombia.

Cecere, T. E., Meng, X. J., Pelzer, K., Todd, S. M., Beach, N. M., Ni, Y. Y., & LeRoith, T. (2012). Co-infection of porcine dendritic cells with porcine circovirus type 2a (PCV2a) and genotype II porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) induces

CD4+CD25+FoxP3+ T cells in vitro. *Veterinary Microbiology*, 160(1–2), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.040>

Chand, R. J., Tribble, B. R., & Rowland, R. R. R. (2012). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In *Current Opinion in Virology* (Vol. 2, Issue 3, pp. 256–263). <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.02.002>

Chauché, C., Nogales, A., Zhu, H., Goldfarb, D., Shanizza, A. I. A., Gu, Q., Parrish, C. R., Martínez-Sobrido, L., Marshall, J. F., & Murcia, P. R. (2018). Mammalian Adaptation of an Avian Influenza A Virus Involves Stepwise Changes in NS1. <https://doi.org/10>

Chauhan, R. P., & Gordon, M. L. (2022). A systematic review of influenza A virus prevalence and transmission dynamics in backyard swine populations globally. In *Porcine Health Management* (Vol. 8, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40813-022-00251-4>

Chen, G. H., Mai, K. J., Zhou, L., Wu, R. T., Tang, X. Y., Wu, J. L., He, L. L., Lan, T., Xie, Q. M., Sun, Y., & Ma, J. Y. (2017). Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(6), 1650–1654. <https://doi.org/10.1111/tbed.12702>

Chiu, Y. T., Cheng, C. C., Lee, Y. F., Lin, N. N., Wu, C. L., & Tung, K. C. (2011). Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in swine associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/245728>

Cino-Ozuna, A. G., Henry, S., Hesse, R., Nietfeld, J. C., Bai, J., Scott, H. M., & Rowland, R. R. R. (2011). Characterization of a new disease syndrome associated with porcine circovirus type 2 in previously vaccinated herds. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(5), 2012–2016. <https://doi.org/10.1128/JCM.02543-10>

Cotmore, S. F., Agbandje-McKenna, M., Canuti, M., Chiorini, J. A., Eis-Hubinger, A. M., Hughes, J., Mietzsch, M., Modha, S., Ogliastro, M., Péntzes, J. J., Pintel, D. J., Qiu, J., Soderlund-Venermo, M., Tattersall, P., Tijssen, P., Lefkowitz, E. J., Davison, A. J., Siddell, S. G., Simmonds, P., ... Harrach, B. (2019). ICTV virus taxonomy profile: Parvoviridae. *Journal of General Virology*, 100(3), 367–368. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001212>

Cotmore, S. F., & Tattersall, P. (2014). Parvoviruses: Small does not mean simple. *Annual Review of Virology*, 1(1), 517–537. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085444>

Crisci, E., Fraile, L., & Montoya, M. (2019). Cellular innate immunity against PRRSV and swine influenza viruses. In *Veterinary Sciences* (Vol. 6, Issue 1). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/VETSCI6010026>

Crisci, E., Mussá, T., Fraile, L., & Montoya, M. (2013). Review: Influenza virus in pigs. In *Molecular Immunology* (Vol. 55, Issues 3–4, pp. 200–211). <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.02.008>

Cruz, M., Mogollón, J., Rincón, M., Ruiz, S., & Lora, A. (2006). PREVALENCIA SEROLÓGICA DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRS) EN CERDOS DE EXPLOTACIONES EXTENSIVAS DE COLOMBIA. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 53(1), 33–41. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/17799>

Csághola, A., Lorincz, M., Cadar, D., Tombácz, K., Biksi, I., & Tuboly, T. (2012). Detection, prevalence and analysis of emerging porcine parvovirus infections. *Archives of Virology*, 157(6), 1003–1010. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1257-3>

Csághola, A., Zádori, Z., Mészáros, I., & Tuboly, T. (2016). Detection of Porcine Parvovirus 2 (Ungulate Tetraparvovirus 3) Specific Antibodies and Examination of the Serological Profile of an Infected Swine Herd. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151036>

Cui, X., Xia, D., Huang, X., Sun, Y., Shi, M., Zhang, J., Li, G., Yang, Y., Wang, H., Cai, X., & An, T. (2022). Analysis of Recombinant Characteristics Based on 949 PRRSV-2 Genomic Sequences Obtained from 1991 to 2021 Shows That Viral Multiplication Ability Contributes to Dominant Recombination. *Microbiology Spectrum*. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02934-22>

Darwich, L., & Mateu, E. (2012). Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 61–67). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.12.003>

Davies, B., Wang, X., Dvorak, C. M. T., Marthaler, D., & Murtaugh, M. P. (2016). Diagnostic Phylogenetics Reveals a New Porcine Circovirus 2 Cluster. *Virus Research*, 217(2), 32–35. <http://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/>

De Castro, A. M. M. G., Cortez, A., Heinemann, M. B., Brandão, P. E., & Richtzenhain, L. J. (2008). Molecular diversity of Brazilian strains of porcine circovirus type 2 (PCV-2). *Research in Veterinary Science*, 85(1), 197–200. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.07.009>

Denés, L., Cságola, A., Schönhardt, K., Halas, M., Solymosi, N., Balka, G. (2020) First report of porcine parainfluenza virus 1 (species Porcine respirovirus 1) in Europe. *Transbound. Emerg. Dis.* 00:1–5. doi:10.1111/tbed.13869.

Diaz, A., Marthaler, D., Culhane, M., Sreevatsan, S., Alkhamis, M., Torremorell, M., Schultz-Cherry, S., & Jude, S. (2017). Complete Genome Sequencing of Influenza A Viruses within Swine Farrow-to-Wean Farms Reveals the Emergence, Persistence, and Subsidence of Diverse Viral Genotypes. 91, 745–762. <https://doi.org/10.1128/JVI>

Dong, Q., Lunney, J. K., Lim, K. S., Nguyen, Y., Hess, A. S., Beiki, H., Rowland, R. R. R., Walker, K., Reecy, J. M., Tuggle, C. K., & Dekkers, J. C. M. (2021). Gene expression in tonsils in swine following infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02785-1>

Duinhof, T. F., van Schaik, G., van Esch, E. J. B., & Wellenberg, G. J. (2011). Detection of PRRSV circulation in herds without clinical signs of PRRS: Comparison of five age groups to assess the preferred age group and sample size. *Veterinary Microbiology*, 150(1–2), 180–184. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2011.01.001>

Dvorak, C. M. T., Puvanendiran, S., & Murtaugh, M. P. (2018). Porcine circovirus 2 infection induces IFN β expression through increased expression of genes involved in RIG-I and IRF7 signaling pathways. *Virus Research*, 253, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.05.027>

Espinoza, A. C., & Velásquez, M. R. (2021). Porcine reproductive and respiratory syndrome: A review of the etiological agent and its influence on the current behaviour of the disease. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 32(1). <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I1.19645>

Evans, C. M., Medley, G. F., & Green, L. E. (2008). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in GB pig herds: farm characteristics associated with heterogeneity in seroprevalence. *BMC Veterinary Research*, 4(1), 48. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-48>

Figueras-Gourgues, S., Fraile, L., Segalés, J., Hernández-Caravaca, I., López-Úbeda, R., García-Vázquez, F. A., Gomez-Duran, O., & Grosse-Liesner, B. (2019). Effect of Porcine circovirus 2 (PCV-2) maternally derived antibodies on performance and PCV-2 viremia in vaccinated piglets under field conditions. *Porcine Health Management*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0128-7>

Flórez R, J., Vera A, V., Lora M, Á., & Ramírez-Nieto, G. (2018). Evaluación molecular de la presencia del virus de influenza A en cerdos en plantas de beneficio en Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 23(S), 7013–7024. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1424>

Franzo, G., Delwart, E., Fux, R., Hause, B., Su, S., Zhou, J. Y., & Segalés, J. (2020). Genotyping porcine circovirus 3 (PCV-3) Nowadays: Does it make sense? *Viruses*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/v12030265>

Franzo, G., & Segalés, J. (2020). Porcine circovirus 2 genotypes, immunity and vaccines: Multiple genotypes but one single serotype. In *Pathogens* (Vol. 9, Issue 12, pp. 1–12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121049>

Franzo, G., Segales, J., Tucciarone, C. M., Cecchinato, M., & Drigo, M. (2018). The analysis of genome composition and codon bias reveals distinctive patterns between avian and mammalian circoviruses which suggest a potential recombinant origin for Porcine circovirus 3. *PLoS ONE*, 13(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199950>

Fux, R., Söckler, C., Link, E. K., Renken, C., Krejci, R., Sutter, G., Ritzmann, M., & Eddicks, M. (2018). Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains. *Virology Journal*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0929-3>

Gainor, K., Fortuna, Y. C., Alakkaparambil, A. S., González, W., Malik, Y. S., & Ghosh, S. (2023). Detection and Complete Genomic Analysis of Porcine circovirus 3 (PCV3) in Diarrheic Pigs from the Dominican Republic: First Report on PCV3 from the Caribbean Region. *Pathogens*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/pathogens12020250>

Gale, C., Velazquez, E., & Pattison, E. (2020). The impact of swine influenza and how to control it on farm. *Livestock*, 25(2), 105–110. <https://doi.org/10.12968/live.2020.25.2.105>

García-Satre, A. (2006). Antiviral response in pandemic influenza viruses. *Emerging Infectious Diseases*, 12(1), 44–47. www.cdc.gov/eid

Garrido-Mantilla, J., Culhane, M. R., & Torremorell, M. (2020). Transmission of influenza A virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a novel nurse sow model: A proof of concept. *Veterinary Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00765-1>

Geng, S. chao, Li, X. liang, & Fang, W. huan. (2020). Porcine circovirus 3 capsid protein induces autophagy in HEK293T cells by inhibiting phosphorylation of the mammalian target of rapamycin. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 21(7), 560–570. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900657>

Gong, X., Hu, M., Chen, W., Yang, H., Wang, B., Yue, J., Jin, Y., Liang, L., & Ren, H. (2021). Reassortment Network of Influenza A Virus. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.793500>

Grassi, L., Tagliapietra, V., Rizzoli, A., Martini, M., Drigo, M., Franzo, G., & Menandro, M. L. (2020). Lack of Evidence on the Susceptibility of Ticks and Wild Rodent Species to PCV3 Infection. *Pathogens*, 9(9), 682. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090682>

Grau-Roma, L., Hjulsager, C. K., Sibila, M., Kristensen, C. S., López-Soria, S., Enøe, C., Casal, J., Bøtner, A., Nofrarías, M., Bille-Hansen, V., Fraile, L., Baekbo, P., Segalés, J., & Larsen, L. E. (2009). Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary Microbiology*, 135(3–4), 272–282. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.007>

Gray, G., McCarthy, T., Capuano, A., Setterquist, S., Olsen, C., Alavanja, M., & Lynch, C. (2007). Swine workers and swine influenza virus infections. *Emerging Infectious Diseases*, 13(12), 1871–1878.

Gu, H., Zheng, S., Han, G., Yang, H., Deng, Z., Liu, Z., & He, F. (2022). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Adapts Antiviral Innate Immunity via Manipulating MALT1. *MBio*, 13(3). <https://doi.org/10.1128/mbio.00664-22>

Guo, K., Xu, L., Wu, M., Hou, Y., Jiang, Y., Lv, J., Xu, P., Fan, Z., Zhang, R., Xing, F., & Zhang, Y. (2019). A host factor GPNMB restricts porcine circovirus type 2 (PCV2) replication and interacts with PCV2 ORF5 protein. *Frontiers in Microbiology*, 10(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03295>

Guo, L. J., Lu, Y. H., Wei, Y. W., Huang, L. P., & Liu, C. M. (2010). Porcine circovirus type 2 (PCV2): Genetic variation and newly emerging genotypes in China. *Virology Journal*, 7. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-273>

Guo, Y., Yan, G., Chen, S., Han, H., Li, J., Zhang, H., Luo, S., Liu, M., Wu, Q., Li, Q., Tu, C., Huang, L., & Gong, W. (2022). Identification and genomic characterization of a novel porcine parvovirus in China. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 01–09.

Guo, Z., Ruan, H., Qiao, S., Deng, R., & Zhang, G. (2020). Co-infection status of porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) and porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in pigs with watery diarrhea in Henan province, central China: Co-infection of PCV2, PCV3 and PEDV. *Microbial Pathogenesis*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104047>

Guzmán, M., Meléndez, R., Jiménez, C., Piche, M., Jiménez, E., León, B., Cordero, J. M., Ramirez-Carvajal, L., Uribe, A., Van Nes, A., Stegeman, A., & Romero, J. J. (2021). Analysis of ORF5 sequences of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSV) circulating within swine farms in Costa Rica. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02925-7>

Han, J., Zhou, L., Ge, X., Guo, X., & Yang, H. (2017). Pathogenesis and control of the Chinese highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In *Veterinary Microbiology* (Vol. 209, pp. 30–47). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.02.020>

He, J., Cao, J., Zhou, N., Jin, Y., Wu, J., & Zhou, J. (2013). Identification and Functional Analysis of the Novel ORF4 Protein Encoded by Porcine Circovirus Type 2. *Journal of Virology*, 87(3), 1420–1429. <https://doi.org/10.1128/jvi.01443-12>

Henrickson, K. (2003). Parainfluenza viruses. *Clin. Microbiol. Rev* 16:2. doi:10.1128/CMR.16.2.242–264.

Holtkamp, D. J., Kliebenstein, J. B., Neumann, E. J., Zimmerman, J. J., Rotto, H. F., Yoder, T. K., Wang, C., Yeske, P. E., Mowrer, C. L., & Haley, C. A. (2013). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on United States pork producers. *Journal of Swine Health and Production*, 21(2), 72–84. <http://www.aasv.org/shap.html>.

Iowa State University. (2022). Swine manual index- Influenza. <https://vetmed.iastate.edu/vdpam/FSVD/Swine/Index-Diseases/Influenza>.

Jagger, B. W., Wise, H. M., Kash, J. C., Walters, K. A., Wills, N. M., Xiao, Y. L., Dunfee, R. L., Schwartzman, L. M., Ozinsky, A., Bell, G. L., Dalton, R. M., Lo, A., Efstathiou, S., Atkins, J. F., Firth, A. E., Taubenberger, J. K., & Digard, P. (2012). An overlapping protein-coding region in influenza A virus segment 3 modulates the host response. *Science*, 337(6091), 199–204. <https://doi.org/10.1126/science.1222213>

Jiang, H., Wang, D., Wang, J., Zhu, S., She, R., Ren, X., Tian, J., Quan, R., Hou, L., Li, Z., Chu, J., Guo, Y., Xi, Y., Song, H., Yuan, F., Wei, L., Liu, J., Jiang, C. H., & Rozanne Sandri-Goldin, E. M. (2019). Induction of Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome in Piglets by Infection with Porcine Circovirus Type 3. *Jvi.Asm.Org 1 Journal of Virology*, 93, 2045–2063. <https://doi.org/10.1128/JVI>

Jiang, Z., Wu, J., Jiang, M., Xie, Y., Bu, W., Liu, C., Zhang, G., & Luo, M. (2020). A Novel Technique for Constructing Infectious Cloning of Type 3 Porcine Circovirus. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01067>

Jiménez-Bluhm, P., Karlsson, E. A., Ciuoderis, K. A., Cortez, V., Marvin, S. A., Hamilton-West, C., Schultz-Cherry, S., & Osorio, J. E. (2016). Avian H11 influenza virus isolated from domestic poultry in a Colombian live animal market. *Emerging Microbes and Infections*, 5(12). <https://doi.org/10.1038/emi.2016.121>

Jin, X., Yuan, Y., Zhang, C., Zhou, Y., Song, Y., Wei, Z., & Zhang, G. (2020). Porcine parvovirus nonstructural protein NS1 activates NF- κ B and it involves TLR2 signaling pathway. *Journal of Veterinary Science*, 21(3). <https://doi.org/10.4142/JVS.2020.21.E50>

Jung, K., Renukaradhya, G. J., Alekseev, K. P., Fang, Y., Tang, Y., & Saif, L. J. (2009). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus modifies innate immunity and alters disease outcome in pigs subsequently infected with porcine respiratory coronavirus:

Implications for respiratory viral co-infections. *Journal of General Virology*, 90(11), 2713–2723. <https://doi.org/10.1099/vir.0.014001-0>

Kailasan, S., Agbandje-Mckenna, M., & Parrish, C. R. (2015). Parvovirus Family Conundrum: What Makes a Killer? In *Annual Review of Virology* (Vol. 2, pp. 425–450). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055150>

Kamal, R. P., Alymova, I. v., & York, I. A. (2018). Evolution and virulence of influenza A virus protein PB1-F2. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms19010096>

Kaplan, B. S., DeBeauchamp, J., Stigger-Rosser, E., Franks, J., Crumpton, J. C., Turner, J., Darnell, D., Jeevan, T., Kayali, G., Harding, A., Webby, R. J., & Lowe, J. F. (2015). Influenza virus surveillance in coordinated swine production systems, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 21(10), 1834–1836. <https://doi.org/10.3201/eid2110.140633>

Kappes, M. A., & Faaberg, K. S. (2015). PRRSV structure, replication and recombination: Origin of phenotype and genotype diversity. In *Virology* (Vols. 479–480, pp. 475–486). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.012>

Karlsson, E. A., Ciuoderis, K., Freiden, P. J., Seufzer, B., Jones, J. C., Johnson, J., Parra, R., Gongora, A., Cardenas, D., Barajas, D., Osorio, J. E., & Schultz-Cherry, S. (2013). Prevalence and characterization of influenza viruses in diverse species in Los Llanos, Colombia. *Emerging Microbes and Infections*, 2. <https://doi.org/10.1038/emi.2013.20>

Kedkovid, R., Woonwong, Y., Arunorat, J., Sirisereewan, C., Sangpratum, N., Lumyai, M., Kedsangakonwut, S., Teankum, K., Jittimane, S., & Thanawongnuwech, R. (2018). Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). *Veterinary Microbiology*, 215, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.01.004>

Kekarainen, T., & Segalés, J. (2015). Porcine circovirus 2 immunology and viral evolution. In *Porcine Health Management* (Vol. 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40813-015-0012-z>

Kim, J., Ha, Y., & Chae, C. (2006). Potentiation of Porcine Circovirus 2-induced Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by Porcine Parvovirus Is Associated with Excessive Production of Tumor Necrosis Factor- α . *Veterinary Pathology*, 43, 718–725.

Kim, S. C., Kim, J. H., Kim, J. Y., Park, G. S., Jeong, C. G., & Kim, W. II. (2022). Prevalence of porcine parvovirus 1 through 7 (PPV1-PPV7) and co-factor association with PCV2 and PRRSV in Korea. *BMC Veterinary Research*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03236-1>

Kim, S. C., Nazki, S., Kwon, S., Juhng, J. H., Mun, K. H., Jeon, D. Y., Jeong, C. G., Khatun, A., Kang, S. J., & Kim, W. II. (2018). The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea. *BMC Veterinary Research*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1614-x>

Klaumann, F., Correa-Fiz, F., Sibila, M., Núñez, J. I., & Segalés, J. (2019). Infection dynamics of porcine circovirus type 3 in longitudinally sampled pigs from four Spanish farms. *Veterinary Record*, 184(20), 619. <https://doi.org/10.1136/vr.105219>

Krammer, F., Smith, G. J. D., Fouchier, R. A. M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P. C., Palese, P., Shaw, M. L., Treanor, J., Webster, R. G., & García-Sastre, A. (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>

Kumar, N., Sharma, S., Barua, S., Tripathi, B. N., & Rouse, B. T. (2018). Virological and Immunological Outcomes of Coinfections. <https://journals.asm.org/journal/cmr>

Kvisgaard, L. K., Larsen, L. E., Hjulsager, C. K., Bøtner, A., Rathkjen, P. H., Heegaard, P. M. H., Bisgaard, N. P., Nielsen, J., & Hansen, M. S. (2017). Genetic and biological characterization of a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 2 (PRRSV-2) causing significant clinical disease in the field. *Veterinary Microbiology*, 211, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.10.001>

Lagan Tregaskis, P., Staines, A., Gordon, A., Sheridan, P., McMenamy, M., Duffy, C., Collins, P. J., Mooney, M. H., & Lemon, K. (2021). Co-infection status of novel parvovirus's (PPV2 to 4) with porcine circovirus 2 in porcine respiratory disease complex and porcine circovirus-associated disease from 1997 to 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 1979–1994. <https://doi.org/10.1111/tbed.13846>

Lara, A. C., Fernando, F. S., Takeuti, K. L., Bortolozzo, F. P., & De Barcellos, D. E. S. N. (2022). Efficacy of disinfectants to inactivate H1N1 influenza A virus isolated from pigs1. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 42. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6987>

Larochelle, R., Magar, R., & D'allaire, S. (2003). Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 67, 114–120.

Lau, S., Woo, P., Wu, Y., Wong, A., Wong, B., Lau, C. et al., (2013). Identification and characterization of a novel paramyxovirus, porcine parainfluenza virus 1, from deceased pigs. *J. Gen. Vir.* 94. doi:10.1099/vir.0.052985-0

Lebret, A., Berton, P., Normand, V., Messager, I., Robert, N., Bouchet, F., Brissonnier, M., & Boulbria, G. (2021). PRRSV detection by qPCR in processing fluids and serum samples collected in a positive stable breeding herd following mass vaccination of sows with a modified live vaccine. *Porcine Health Management*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00186-8>

Li, J., Xiao, Y., Qiu, M., Li, X., Li, S., Lin, H., Li, X., Zhu, J., Chen, N., & Jones, C. J. (2021). A Systematic Investigation Unveils High Coinfection Status of Porcine Parvovirus Types 1 through 7 in China from 2016 to 2020. 9(3), e01294–e01294. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

Liu, J., Xu, Y., Lin, Z., Fan, J., Dai, A., Deng, X., Mao, W., Huang, X., Yang, X., & Wei, C. (2021). Epidemiology investigation of PRRSV discharged by faecal and genetic variation of ORF5. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 2334–2344. <https://doi.org/10.1111/tbed.13894>

Liu, X., Shen, H., Zhang, X., Liang, T., Ban, Y., Yu, L., Zhang, L., Liu, Y., Dong, J., Zhang, P., Lian, K., & Song, C. (2021). Porcine circovirus type 3 capsid protein induces NF- κ B activation and upregulates pro-inflammatory cytokine expression in HEK-293T cells. *Archives of Virology*, 166(8), 2141–2149. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05104-z>

López-Soria, S., Maldonado, J., Riera, P., Nofrarías, M., Espinal, A., Valero, O., Blanchard, P., Jestin, A., Casal, J., Domingo, M., Artigas, C., & Segalés, J. (2010). Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics.

Transboundary and Emerging Diseases, 57(3), 171–179. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01135.x>

Loving, C. L., Osorio, F. A., Murtaugh, M. P., & Zuckermann, F. A. (2015). Innate and adaptive immunity against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. In *Veterinary Immunology and Immunopathology* (Vol. 167, Issues 1–2, pp. 1–14). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.07.003>

Lunney, J. K., Fang, Y., Ladinig, A., Chen, N., Li, Y., Rowland, B., & Renukaradhya, G. J. (2016). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): Pathogenesis and interaction with the immune system. In *Annual Review of Animal Biosciences* (Vol. 4, pp. 129–154). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-111025>

Lunney, J. K., Ho, C. S., Wysocki, M., & Smith, D. M. (2009). Molecular genetics of the swine major histocompatibility complex, the SLA complex. *Developmental and Comparative Immunology*, 33(3), 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.07.002>

Lv, J., Jiang, Y., Feng, Q., Fan, Z., Sun, Y., Xu, P., Hou, Y., Zhang, X., Fan, Y., Xu, X., Zhang, Y., & Guo, K. (2020). Porcine Circovirus Type 2 ORF5 Protein Induces Autophagy to Promote Viral Replication via the PERK-eIF2 α -ATF4 and mTOR-ERK1/2-AMPK Signaling Pathways in PK-15 Cells. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00320>

Lv, N., Zhu, L., Li, W., Li, Z., Qian, Q., Zhang, T., Liu, L., Hong, J., Zheng, X., Wang, Y., Zhang, Y., & Chai, J. (2020). Molecular epidemiology and genetic variation analyses of porcine circovirus type 2 isolated from Yunnan Province in China from 2016-2019. *BMC Veterinary Research*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02304-8>

Ma, W. (2020). Swine influenza virus: Current status and challenge. *Virus Research*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198118>

Ma, Z., Liu, M., Liu, Z., Meng, F., Wang, H., Cao, L., Li, Y., Jiao, Q., Han, Z., & Liu, S. (2021). Epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 and its coinfection rate in Shandong province in China from 2015 to 2018. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02718-4>

MacLachlan, J., & Dubovi, E. (2017a). Circoviridae and Anelloviridae. In J. MacLachlan & E. Dubovi (Eds.), *Fenner's Veterinary Virology* (Fifth, pp. 259–268). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800946-8.00013-1>

MacLachlan, J., & Dubovi, E. (2017b). Orthomyxoviridae. In J. MacLachlan, E. Dubovi, S. Barthold, D. Swayne, & J. Winton (Eds.), *Fenner's Veterinary Virology* (Fifth edition, pp. 389–410). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800946-8.00021-0>

Maisonnasse, P., Bouguyon, E., Piton, G., Ezquerro, A., Urien, C., Deloizy, C., Bourge, M., Leplat, J. J., Simon, G., Chevalier, C., Vincent-Naulleau, S., Crisci, E., Montoya, M., Schwartz-Cornil, I., & Bertho, N. (2016). The respiratory DC/macrophage network at steady-state and upon influenza infection in the swine biomedical model. *Mucosal Immunology*, 9(4), 835–849. <https://doi.org/10.1038/mi.2015.105>

Mancipe, L. F., Ramírez-Nieto, G., Vera, V., & Jaime, J. (2014). Association of swine influenza H1N1 pandemic virus (SIV-H1N1p) with porcine respiratory disease complex in sows from commercial pig farms in Colombia. *Virologica Sinica*, 29(4), 242–249. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3471-5>

Marazzi, I., Ho, J. S. Y., Kim, J., Manicassamy, B., Dewell, S., Albrecht, R. A., Seibert, C. W., Schaefer, U., Jeffrey, K. L., Prinjha, R. K., Lee, K., García-Sastre, A., Roeder, R. G., & Tarakhovsky, A. (2012). Suppression of the antiviral response by an influenza histone mimic. *Nature*, 483(7390), 428–433. <https://doi.org/10.1038/nature10892>

Mattola, S., Aho, V., Bustamante-Jaramillo, L. F., Pizzioli, E., Kann, M., & Vihinen-Ranta, M. (2022). Nuclear entry and egress of parvoviruses. *Molecular Microbiology*, 1–14. <https://doi.org/10.1111/mmi.14974>

Meischel, T., Villalon-Letelier, F., Saunders, P. M., Reading, P. C., & Londrigan, S. L. (2020). Influenza A virus interactions with macrophages: Lessons from epithelial cells. In *Cellular Microbiology* (Vol. 22, Issue 5). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/cmi.13170>

Mendoza Niño, E. (2015). Detección y caracterización del virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino en tres granjas de producción intensiva para el establecimiento del control local de la enfermedad.

Mibayashi, M., Martínez-Sobrido, L., Loo, Y.-M., Cárdenas, W. B., Gale, M., & García-Sastre, A. (2007). Inhibition of Retinoic Acid-Inducible Gene I-Mediated Induction of Beta Interferon by the NS1 Protein of Influenza A Virus. *Journal of Virology*, 81(2), 514–524. <https://doi.org/10.1128/jvi.01265-06>

Milek, D., Woźniak, A., Guzowska, M., & Stadejek, T. (2019). Detection patterns of porcine parvovirus (PPV) and novel porcine parvoviruses 2 through 6 (PPV2–PPV6) in Polish swine farms. *Viruses*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/v11050474>

Milek, D., Woźniak, A., Podgórska, K., & Stadejek, T. (2020). Do porcine parvoviruses 1 through 7 (PPV1-PPV7) have an impact on porcine circovirus type 2 (PCV2) viremia in pigs? *Veterinary Microbiology*, 242. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108613>

Mora-Díaz, J., Piñeyro, P., Shen, H., Schwartz, K., Vannucci, F., Li, G., Arruda, B., & Giménez-Lirola, L. (2020). Isolation of PCV3 from perinatal and reproductive cases of PCV3-associated disease and in vivo characterization of PCV3 replication in CD/Cd growing pigs. *Viruses*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/v12020219>

Murtaugh, M. P., & Genzow, M. (2011). Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). In *Vaccine* (Vol. 29, Issue 46, pp. 8192–8204). <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.013>

Nathues, H., Alarcon, P., Rushton, J., Jolie, R., Fiebig, K., Jimenez, M., Geurts, V., & Nathues, C. (2017). Cost of porcine reproductive and respiratory syndrome virus at individual farm level – An economic disease model. *Preventive Veterinary Medicine*, 142, 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.04.006>

Neira, V., Rabinowitz, P., Rendahl, A., Paccha, B., Gibbs, S. G., & Torremorell, M. (2016). Characterization of viral load, viability and persistence of influenza a virus in air and on surfaces of swine production facilities. *PLoS ONE*, 11(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146616>

Nelsen, A., Lin, C. M., & Hause, B. M. (2021). Porcine Parvovirus 2 Is Predominantly Associated With Macrophages in Porcine Respiratory Disease Complex. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.726884>

Nišavić, J., Milić, N., Radalj, A., Krnjaić, D., Milićević, D., Knežević, A., Radojičić, M., Obrenović, S., Čosić, M., Tešović, B., Benković, D., & Živulj, A. (2021). Genetic Analysis

and Distribution of Porcine Parvoviruses Detected in the Organs of Wild Boars in Serbia. *Acta Veterinaria*, 71(1), 32–46. <https://doi.org/10.2478/acve-2021-0003>

Novosel, D., Cadar, D., Tuboly, T., Jungic, A., Stadejek, T., Ait-Ali, T., & Cságola, A. (2018). Investigating porcine parvoviruses genogroup 2 infection using in situ polymerase chain reaction. *BMC Veterinary Research*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1487-z>

Nurhayati, Wibawa, H., Mahawan, T., Zenal, F. C., Schoonman, L., Pfeiffer, C. N., Stevenson, M., & Punyapornwithaya, V. (2020). Herd-Level Risk Factors for Swine Influenza (H1N1) Seropositivity in West Java and Banten Provinces of Indonesia (2016–2017). *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.544279>

Oh, T., & Chae, C. (2020). First isolation and genetic characterization of porcine circovirus type 3 using primary porcine kidney cells. *Veterinary Microbiology*, 241. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108576>

Olvera, A., Cortey, M., & Segalés, J. (2007). Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality. *Virology*, 357(2), 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.07.047>

Opriessnig, T., Giménez-Lirola, L. G., & Halbur, P. G. (2011). Polymicrobial respiratory disease in pigs. In *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases* (Vol. 12, Issue 2, pp. 133–148). <https://doi.org/10.1017/s1466252311000120>

Opriessnig, T., & Halbur, P. G. (2012). Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 20–32). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.09.014>

Opriessnig, T., Karuppanan, A. K., Castro, A. M. M. G., & Xiao, C. T. (2020). Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. In *Virus Research* (Vol. 286). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198044>

Opriessnig, T., Karuppanan, A. K., Halbur, P. G., Calvert, J. G., Nitzel, G. P., Matzinger, S. R., & Meng, X. J. (2020). Porcine circovirus type 2a or 2b based experimental vaccines provide protection against PCV2d/porcine parvovirus 2 co-challenge. *Vaccine*, 38(8), 1975–1981. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.01.013>

Opriessnig, T., Xiao, C. T., Gerber, P. F., & Halbur, P. G. (2014). Identification of recently described porcine parvoviruses in archived North American samples from 1996 and association with porcine circovirus associated disease. *Veterinary Microbiology*, 173(1–2), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.024>

Osorio-Zambrano, W., Ospina-Jimenez, A., Alvarez-Muñoz, S., Gomez, A., & Ramirez-Nieto, G. C. (2022). Zooming in on the molecular characteristics of swine influenza virus circulating in Colombia before and after the H1N1pdm09 virus. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 01–12. <https://doi.org/doi:10.3389/fvets.2022.983304>

Ouyang, T., Niu, G., Liu, X., Zhang, X., Zhang, Y., & Ren, L. (2019). Recent progress on porcine circovirus type 3. *Infection, Genetics and Evolution*, 73, 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.05.009>

Ouyang, T., Zhang, X., Liu, X., & Ren, L. (2019). Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/v11020185>

Palinski, R., Chen, Z., Henningson, J., Lang, Y., Rowland, R., Fang, Y., et al. (2016). Widespread detection and characterization of porcine parainfluenza virus 1 in pigs in the USA. *J. Gen. Virol.* 97. doi:10.1099/jgv.0.000343.

Palinski, R., Piñeyro, P., Shang, P., Yuan, F., Guo, R., Fang, Y., Byers, E., & Hause, B. M. (2017). A Novel Porcine Circovirus Distantly Related to Known Circoviruses Is Associated with Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome and Reproductive Failure. *Journal of Virology*, 91(1). <https://doi.org/10.1128/jvi.01879-16>

Pan, Y., Li, P., Jia, R., Wang, M., Yin, Z., & Cheng, A. (2018). Regulation of apoptosis during Porcine Circovirus type 2 infection. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue SEP). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02086>

Papatsiros, V. G., Papakonstantinou, G., Meletis, E., Tsekouras, N., Maragkakis, G., Bitchava, D., & Kostoulas, P. (2022). Occurrence and Associated Risk Factors of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and Porcine Circovirus Type 2 Infections in Greece. *Viral Immunology*, 35(3), 200–211. <https://doi.org/10.1089/VIM.2021.0124>

Paploski, I. A. D., Corzo, C., Rovira, A., Murtaugh, M. P., Sanhueza, J. M., Vilalta, C., Schroeder, D. C., & VanderWaal, K. (2019). Temporal Dynamics of Co-circulating Lineages

of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02486>

Park, H.S., Liu, G., Thulasi Raman, S. N., Landreth, S. L., Liu, Q., & Zhou, Y. (2018). NS1 Protein of 2009 Pandemic Influenza A Virus Inhibits Porcine NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1 Beta Production by Suppressing ASC Ubiquitination. *Journal of Virology*, 92(8). <https://doi.org/10.1128/jvi.00022-18>

Park, J., Welch, M., Harmon, K., Zhang, J., Piñeyro, P., Li, G., et al. (2019). Detection, isolation, and in vitro characterization of porcine parainfluenza virus type 1 isolated from respiratory diagnostic specimens in swine. *Vet. Microbiol.* 228. doi:10.1016/j.vetmic.2018.12.002.

Parrish, C. R., Murcia, P. R., & Holmes, E. C. (2015). Influenza Virus Reservoirs and Intermediate Hosts: Dogs, Horses, and New Possibilities for Influenza Virus Exposure of Humans. *Journal of Virology*, 89(6), 2990–2994. <https://doi.org/10.1128/jvi.03146-14>

Pénzes, J. J., Söderlund-Venermo, M., Canuti, M., Eis-Hübinger, A. M., Hughes, J., Cotmore, S. F., & Harrach, B. (2020). Reorganizing the family Parvoviridae: a revised taxonomy independent of the canonical approach based on host association. *Archives of Virology*, 165(9), 2133–2146. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04632-4>

Pessoa, J., Montoro, J. C., Nunes, T. P., Norton, T., McAloon, C., Manzanilla, E. G., & Boyle, L. (2022). Environmental Risk Factors Influence the Frequency of Coughing and Sneezing Episodes in Finisher Pigs on a Farm Free of Respiratory Disease. *Animals*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/ani12080982>

Phan, T. G., Giannitti, F., Rossow, S., Marthaler, D., Knutson, T., Li, L., Deng, X., Resende, T., Vannucci, F., & Delwart, E. (2016). Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. *Virology Journal*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0642-z>

Pileri, E., & Mateu, E. (2016). Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. In *Veterinary Research* (Vol. 47, Issue 1, pp. 1–13). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0391-4>

Piñeyro, P. (2012). Infección por virus de influenza en el cerdo: estudios seroepidemiológicos, anatomopatológicos e inmunohistoquímicos y de biología molecular [Doctorado en Ciencias Veterinarias]. Universidad Nacional de La Plata.

Pirolò, M., Espinosa-Gongora, C., Bogaert, D., & Guardabassi, L. (2021). The porcine respiratory microbiome: recent insights and future challenges. *Animal Microbiome*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00070-4>

Pleguezuelos, P., Sibila, M., Cuadrado-Matías, R., López-Jiménez, R., Pérez, D., Huerta, E., Pérez, M., Correa-Fiz, F., Mancera-Gracia, J. C., Taylor, L. P., Borowski, S., Saunders, G., Segalés, J., López-Soria, S., & Balasch, M. (2022). Efficacy Studies of a Trivalent Vaccine Containing PCV-2a, PCV-2b Genotypes and *Mycoplasma hyopneumoniae* When Administered at 3 Days of Age and 3 Weeks Later against Porcine Circovirus 2 (PCV-2) Infection. *Vaccines*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/vaccines10081234>

Qi, S., Su, M., Guo, D., Li, C., Wei, S., Feng, L., & Sun, D. (2019). Molecular detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in 21 Provinces of China during 2015–2017. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(2), 1004–1015. <https://doi.org/10.1111/tbed.13125>

Qin, S., Ruan, W., Yue, H., Tang, C., Zhou, K., & Zhang, B. (2018). Viral communities associated with porcine respiratory disease complex in intensive commercial farms in Sichuan province, China. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31554-8>

Rajkhowa, T. K., Lalnunthanga, P., Rao, P. L., Subbiah, M., & Lalrohluva, B. (2021). Emergence of porcine circovirus 2g (PCV2g) and evidence for recombination between genotypes 2g, 2b and 2d among field isolates from non-vaccinated pigs in Mizoram, India. *Infection, Genetics and Evolution*, 90. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104775>

Rajsbaum, R., Albrecht, R. A., Wang, M. K., Maharaj, N. P., Versteeg, G. A., Nistal-Villán, E., García-Sastre, A., & Gack, M. U. (2012). Species-Specific Inhibition of RIG-I Ubiquitination and IFN Induction by the Influenza A Virus NS1 Protein. *PLoS Pathogens*, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003059>

Rakibuzzaman, A. G. M., & Ramamoorthy, S. (2021). Comparative immunopathogenesis and biology of recently discovered porcine circoviruses. In *Transboundary and Emerging*

Diseases (Vol. 68, Issue 6, pp. 2957–2968). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/tbed.14244>

Ramirez, A., Wang, C., Prickett, J. R., Pogranichniy, R., Yoon, K. J., Main, R., Johnson, J. K., Rademacher, C., Hoogland, M., Hoffmann, P., Kurtz, A., Kurtz, E., & Zimmerman, J. (2012). Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Preventive Veterinary Medicine*, 104(3–4), 292–300. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2011.11.008>

Ramírez, M., Bauermann, F. v., Navarro, D., Rojas, M., Manchego, A., Nelson, E. A., Diel, D. G., & Rivera, H. (2019). Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) 1-7-4-type strains in Peru. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(3), 1107–1113. <https://doi.org/10.1111/tbed.13134>

Ramirez-Nieto, G. C., Rojas, C. A. D., Alfonso, V. J. V., Correa, J. J., & Galvis, J. D. M. (2012). First isolation and identification of H1N1 swine influenza viruses in Colombian pig farms. *Health*, 04(10), 983–990. <https://doi.org/10.4236/health.2012.430150>

Ramos, N., Betancour, G., Puig, J., & Arbiza, J. (2022). An update on genetic analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus type 2 (PRRSV-2) in South America: identification of ORF5 sequences of lineage 1A, 1C and 1G. *Archives of Microbiology*, 204(7). <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02976-w>

Razzuoli, E., Armando, F., De Paolis, L., Ciurkiewicz, M., & Amadori, M. (2022). The Swine IFN System in Viral Infections: Major Advances and Translational Prospects. In *Pathogens* (Vol. 11, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020175>

Ren, L., Chen, X., & Ouyang, H. (2016). Interactions of porcine circovirus 2 with its hosts. *Virus Genes*, 52(4), 437–444. <https://doi.org/10.1007/s11262-016-1326-x>

Ren, X., Tao, Y., Cui, J., Suo, S., Cong, Y., & Tijssen, P. (2013). Phylogeny and evolution of porcine parvovirus. *Virus Research*, 178(2), 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.09.014>

Renukaradhya, G. J., Alekseev, K., Jung, K., Fang, Y., & Saif, L. J. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus-Induced immunosuppression exacerbates the inflammatory response to porcine respiratory coronavirus in pigs. *Viral Immunology*, 23(5), 457–466. <https://doi.org/10.1089/vim.2010.0051>

Resende, T. P., Marshall Lund, L., Rossow, S., & Vannucci, F. A. (2019). Next-Generation Sequencing Coupled With in situ Hybridization: A Novel Diagnostic Platform to Investigate Swine Emerging Pathogens and New Variants of Endemic Viruses. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 6). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00403>

Rincón, A. (2014). *Circovirus porcina en Colombia: Aspectos moleculares y caracterización biológica de cepas de campo* [Doctorado en Salud y Producción Animal]. Universidad Nacional de Colombia.

Rincón, M., Consuelo Ramirez-Nieto, G., Vera, V. J., Correa, J. J., & Mogollón-Galvis, J. (2014). Detection and molecular characterization of porcine circovirus type 2 from piglets with Porcine Circovirus Associated Diseases in Colombia. *Virology Journal*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-143>

Rodrigues, I. L. F., Cruz, A. C. M., Souza, A. E., Knackfuss, F. B., Costa, C. H. C., Silveira, R. L., & Castro, T. X. (2020). Retrospective study of porcine circovirus 3 (PCV3) in swine tissue from Brazil (1967–2018). *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(3), 1391–1397. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00281-6>

Romagosa, A., Allerson, M., Gramer, M., Joo, H., Deen, J., Detmer, S., & Torremorell, M. (2011). Vaccination of influenza a virus decreases transmission rates in pigs. *Veterinary Research*, 42(1). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-120>

Rose, N., Opriessnig, T., Grasland, B., & Jestin, A. (2012). Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 78–89). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.12.002>

Rupasinghe, R., Lee, K., Liu, X., Gauger, P. C., Zhang, J., & Martínez-López, B. (2022). Molecular Evolution of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Field Strains from Two Swine Production Systems in the Midwestern United States from 2001 to 2020. *Microbiology Spectrum*, 10(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02634-21>

Saade, G., Deblanc, C., Bougon, J., Marois-Créhan, C., Fablet, C., Auray, G., Belloc, C., Leblanc-Maridor, M., Gagnon, C. A., Zhu, J., Gottschalk, M., Summerfield, A., Simon, G., Bertho, N., & Meurens, F. (2020). Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. *Veterinary Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00807-8>

Saekhow, P., & Ikeda, H. (2015). Prevalence and genomic characterization of porcine parvoviruses detected in Chiangmai area of Thailand in 2011. *Microbiology and Immunology*, 59(2), 82–88. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12218>

Saekhow, P., Mawatari, T., & Ikeda, H. (2014). Coexistence of multiple strains of porcine parvovirus 2 in pig farms. *Microbiology and Immunology*, 58(7), 382–387. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12159>

Salvesen, H. A., & Whitelaw, C. B. A. (2021). Current and prospective control strategies of influenza A virus in swine. In *Porcine Health Management* (Vol. 7, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40813-021-00196-0>

Saporiti, V., Franzo, G., Sibila, M., & Segalés, J. (2021). Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2936–2948. <https://doi.org/10.1111/tbed.14204>

Saporiti, V., Huerta, E., Correa-Fiz, F., Grosse Liesner, B., Duran, O., Segalés, J., & Sibila, M. (2020). Detection and genotyping of Porcine circovirus 2 (PCV-2) and detection of Porcine circovirus 3 (PCV-3) in sera from fattening pigs of different European countries. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(6), 2521–2531. <https://doi.org/10.1111/tbed.13596>

Sarli, G., D'annunzio, G., Gobbo, F., Benazzi, C., & Ostanello, F. (2021). The role of pathology in the diagnosis of swine respiratory disease. *Veterinary Sciences*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/vetsci8110256>

Schuele, L., Lizarazo-Forero, E., Cassidy, H., Strutzberg-Minder, K., Boehmer, J., Schuetze, S., et al. (2021). First detection of porcine respirovirus 1 in Germany and the Netherlands. *Transbound. Emerg. Dis.* 68. doi:10.1111/tbed.14100.

Schmidt, C., Cibulski, S. P., Andrade, C. P., Teixeira, T. F., Varela, A. P. M., Scheffer, C. M., Franco, A. C., de Almeida, L. L., & Roehe, P. M. (2016). Swine Influenza Virus and Association with the Porcine Respiratory Disease Complex in Pig Farms in Southern Brazil. *Zoonoses and Public Health*, 63(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/zph.12223>

Segalés, J. (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 10–19). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.007>

Segalés, J., Allan, G., & Domingo, M. (2019). Chapter 30 Circoviruses. In J. Zimmerman, L. Karriker, A. Ramírez, K. Schwartz, G. Stevenson, & J. Zhang (Eds.), *Diseases of Swine* (Eleventh Edition, pp. 473–487). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch30>

Segalés, J., Valero, O., Espinal, A., López-Soria, S., Nofrarías, M., Calsamiglia, M., & Sibila, M. (2012). Exploratory study on the influence of climatological parameters on *Mycoplasma hyopneumoniae* infection dynamics. *International Journal of Biometeorology*, 56(6), 1167–1171. <https://doi.org/10.1007/s00484-011-0487-5>

Sha, H., Zhang, H., Chen, Y., Huang, L., Zhao, M., & Wang, N. (2022). Research Progress on the NSP9 Protein of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.872205>

Shang, S. bin, Jin, Y. L., Jiang, X. tao, Zhou, J. Y., Zhang, X., Xing, G., He, J. L., & Yan, Y. (2009). Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine circovirus, and antigenic phenotype of porcine circovirus Type 2. *Molecular Immunology*, 46(3), 327–334. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.10.028>

Shen, H., Liu, X., Zhang, P., Wang, S., Liu, Y., Zhang, L., & Song, C. (2020). Porcine circovirus 3 Cap inhibits type I interferon signaling through interaction with STAT2. *Virus Research*, 275, 197804. <https://doi.org/10.1016/J.VIRUSRES.2019.197804>

Shen, W., Wang, Z., Ning, K., Cheng, F., Engelhardt, J. F., Yan, Z., & Qiu, J. (2021). Hairpin Transfer-Independent Parvovirus DNA Replication Produces Infectious Virus. *Journal of Virology*, 95(20). <https://doi.org/10.1128/jvi.01108-21>

Shi, C., Liu, Y., Ding, Y., Zhang, Y., & Zhang, J. (2015). PRRSV receptors and their roles in virus infection. In *Archives of Microbiology* (Vol. 197, Issue 4, pp. 503–512). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1088-1>

Shi, M., Lam, T. T. Y., Hon, C. C., Hui, R. K. H., Faaberg, K. S., Wennblom, T., Murtaugh, M. P., Stadejek, T., & Leung, F. C. C. (2010). Molecular epidemiology of PRRSV: A

phylogenetic perspective. In *Virus Research* (Vol. 154, Issues 1–2, pp. 7–17). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.08.014>

Shi, R., Hou, L., Wei, L., Quan, R., Zhou, B., Jiang, H., Wang, J., Zhu, S., Song, J., Wang, D., & Liu, J. (2021). Porcine Circovirus Type 3 Enters Into PK15 Cells Through Clathrin- and Dynamin-2-Mediated Endocytosis in a Rab5/Rab7 and pH-Dependent Fashion. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.636307>

Shin, G.-E., Park, J.-Y., Lee, K.-K., Ko, M.-K., Ku, B.-K., Park, C.-K., & Jeoung, H.-Y. (2022). Genetic diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and evaluation of three one-step real-time RT-PCR assays in Korea. *BMC Veterinary Research*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03407-0>

Sidler, X., Sydler, T., Mateos, J. M., Klausmann, S., & Brugnera, E. (2020). Porcine circovirus type 2 pathogenicity alters host's central tolerance for propagation. *Pathogens*, 9(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100839>

Snijder, E. J., Kikkert, M., & Fang, Y. (2013). Arterivirus molecular biology and pathogenesis. In *Journal of General Virology* (Vol. 94, Issue PART10, pp. 2141–2163). <https://doi.org/10.1099/vir.0.056341-0>

Song, J., Hou, L., Wang, D., Wei, L., Zhu, S., Wang, J., Quan, R., Jiang, H., Shi, R., & Liu, J. (2021). Nucleolar Phosphoprotein NPM1 Interacts With Porcine Circovirus Type 3 Cap Protein and Facilitates Viral Replication. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.679341>

Song, J., Shen, D., Cui, J., & Zhao, B. (2010). Accelerated evolution of PRRSV during recent outbreaks in China. *Virus Genes*, 41(2), 241–245. <https://doi.org/10.1007/s11262-010-0507-2>

Stadejek, T., Larsen, L. E., Podgórska, K., Bøtner, A., Botti, S., Dolka, I., Fabisiak, M., Heegaard, P. M. H., Hjulsgaard, C. K., Huć, T., Kvisgaard, L. K., Sapieryński, R., & Nielsen, J. (2017). Pathogenicity of three genetically diverse strains of PRRSV Type 1 in specific pathogen free pigs. *Veterinary Microbiology*, 209, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.05.011>

Stadejeck, T., Cybulski, P., Gauger, P., Wozniak, A. (2022). European and american strains of porcine parainfluenza virus 1 (PPIV-1) belong to two distinct genetic lineages. *Pathogens*, 11:375. doi:10.3390/pathogens11030375.

Streck, A. F., Canal, C. W., & Truyen, U. (2015). Molecular epidemiology evolution of porcine parvoviruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.10.007>

Streck, A. F., Homeier, T., Foerster, T., Fischer, S., & Truyen, U. (2013). Analysis of porcine parvoviruses in tonsils and hearts from healthy pigs reveals high prevalence and genetic diversity in Germany. *Archives of Virology*, 158(6), 1173–1180. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1603-0>

Streck, A. F., & Truyen, U. (2020). Porcine parvovirus. *Current Issues in Molecular Biology*, 37, 33–45. <https://doi.org/10.21775/CIMB.037.033>

Sun, J., Wei, L., Lu, Z., Mi, S., Bao, F., Guo, H., Tu, C., Zhu, Y., & Gong, W. (2018). Retrospective study of porcine circovirus 3 infection in China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(3), 607–613. <https://doi.org/10.1111/tbed.12853>

Sun, Y., Zhang, J., Liu, Z., Zhang, Y., & Huang, K. (2021). Swine Influenza Virus Infection Decreases the Protective Immune Responses of Subunit Vaccine Against Porcine Circovirus Type 2. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.807458>

Taubenberger, J. K., & Morens, D. M. (2008). The pathology of influenza virus infections. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 3, 499–522. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.154316>

Techakriengkrai, N., Nedumpun, T., Golde, W. T., & Suradhat, S. (2021). Diversity of the Swine Leukocyte Antigen Class I and II in Commercial Pig Populations. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.637682>

Temeeyasen, G., Lierman, S., Arruda, B. L., Main, R., Vannucci, F., Gimenez-Lirola, L. G., & Piñeyro, P. E. (2021). Pathogenicity and immune response against porcine circovirus type 3 infection in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *Journal of General Virology*, 102(1). <https://doi.org/10.1099/JGV.0.001502>

Thompson, A. J., & Paulson, J. C. (2021). Adaptation of influenza viruses to human airway receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 296. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.013309>

Ticó, G., Segalés, J., & Martínez, J. (2013). The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. *Veterinary Microbiology*, 163(3–4), 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.001>

Torremorell, M., Allerson, M., Corzo, C., Diaz, A., & Gramer, M. (2012). Transmission of Influenza A Virus in Pigs. In *Transboundary and Emerging Diseases* (Vol. 59, Issue SUPPL. 1, pp. 68–84). <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01300.x>

Trevisan, G., Linhares, L. C. M., Crim, B., Dubey, P., Schwartz, K. J., Burrough, E. R., Main, R. G., Sundberg, P., Thurn, M., Lages, P. T. F., Corzo, C. A., Torrison, J., Henningson, J., Herrman, E., Hanzlicek, G. A., Raghavan, R., Marthaler, D., Greseth, J., Clement, T., ... Linhares, D. C. L. (2019). Macroepidemiological aspects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection by major United States veterinary diagnostic laboratories over time, age group, and specimen. *PLoS ONE*, 14(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223544>

Tu, J., Zhou, H., Jiang, T., Li, C., Zhang, A., Guo, X., Zou, W., Chen, H., & Jin, M. (2009). Isolation and molecular characterization of equine H3N8 influenza viruses from pigs in China. *Archives of Virology*, 154(5), 887–890. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0381-1>

Turlewicz-Podbielska, H., Czyżewska-Dors, E., & Pomorska-Mól, M. (2021). Respiratory viral infections drive different lung cytokine profiles in pigs. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02722-8>

Turlewicz-Podbielska, H., Włodarek, J., & Pomorska-Mól, M. (2020). Noninvasive strategies for surveillance of swine viral diseases: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(4), 503–512. <https://doi.org/10.1177/1040638720936616>

Vangroenweghe, F. A. C. J., & Thas, O. (2021). Seasonal variation in prevalence of mycoplasma hyopneumoniae and other respiratory pathogens in peri-weaned, post-weaned, and fattening pigs with clinical signs of respiratory diseases in belgian and dutch pig herds, using a tracheobronchial swab sampling technique, and their associations with local weather conditions. *Pathogens*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/pathogens10091202>

Vargas-Bermudez, D. S., Campos, F. S., Bonil, L., Mogollon, D., & Jaime, J. (2019). First detection of porcine circovirus type 3 in Colombia and the complete genome sequence demonstrates the circulation of PCV3a1 and PCV3a2. *Veterinary Medicine and Science*, 5(2), 182–188. <https://doi.org/10.1002/vms3.155>

Vargas-Bermudez, D. S., Díaz, A., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2018). Longitudinal comparison of the humoral immune response and viral load of Porcine Circovirus Type 2 in pigs with different vaccination schemes under field conditions. *F1000Research*, 7, 42. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13160.1>

Vargas-Bermudez, D. S., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2022). The Prevalence and Genetic Diversity of PCV3 and PCV2 in Colombia and PCV4 Survey during 2015–2016 and 2018–2019. *Pathogens*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/pathogens11060633>

Vargas-Bermudez, D. S., Rendon-Marin, S., Ruiz-Saenz, J., Mogollón, D., & Jaime, J. (2021). The first report of porcine parvovirus 7 (PPV7) in Colombia demonstrates the presence of variants associated with modifications at the level of the VP2-capsid protein. *PLoS ONE*, 16(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258311>

Vargas-Bermúdez, D. S., Vargas-Pinto, M. A., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2021). Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02862-5>

Vasin, A. v., Temkina, O. A., Egorov, V. v., Klotchenko, S. A., Plotnikova, M. A., & Kiselev, O. I. (2014). Molecular mechanisms enhancing the proteome of influenza A viruses: An overview of recently discovered proteins. In *Virus Research* (Vol. 185, pp. 53–63). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.015>

Vereecke, N., Woźniak, A., Pauwels, M., Coppens, S., Nauwynck, H., Cybulski, P., Theuns, S., & Stadejek, T. (2023). Successful Whole Genome Nanopore Sequencing of Swine Influenza A Virus (swIAV) Directly from Oral Fluids Collected in Polish Pig Herds. *Viruses*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/v15020435>

Vilalta, C., Sanhueza, J., Alvarez, J., Murray, D., Torremorell, M., Corzo, C., & Morrison, R. (2018). Use of processing fluids and serum samples to characterize porcine reproductive

and respiratory syndrome virus dynamics in 3 day-old pigs. *Veterinary Microbiology*, 225, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.09.006>

Vilalta, C., Sanhueza, J., Garrido, J., Murray, D., Morrison, R., Corzo, C. A., & Torremorell, M. (2019). Indirect assessment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus status in pigs prior to weaning by sampling sows and the environment. *Veterinary Microbiology*, 237. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108406>

Vincent, A. L., Ma, W., Lager, K. M., Janke, B. H., & Richt, J. A. (2008). Chapter 3 Swine Influenza Viruses. A North American Perspective. *Advances in Virus Research*, 72, 127–154. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(08\)00403-X](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(08)00403-X)

Wang, Q., Sun, Z., Li, J., Qin, T., Ma, H., Chen, S., Peng, D., & Liu, X. (2021). Identification of a universal antigen epitope of influenza A virus using peptide microarray. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02725-5>

Wang, R., & Zhang, Y. J. (2014). Antagonizing interferon-mediated immune response by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/315470>

Wang, Y., Noll, L., Porter, E., Stoy, C., Dong, J., Anderson, J., Fu, J., Pogranichniy, R., Woodworth, J., Peddireddi, L., & Bai, J. (2020). Development of a differential multiplex real-time PCR assay for porcine circovirus type 2 (PCV2) genotypes PCV2a, PCV2b and PCV2d. *Journal of Virological Methods*, 286. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.113971>

Wei, H., Lenz, S., Van Alstine, W., Stevenson, G., Langohr, I., & Pogranichniy, R. (2010). Infection of Cesarean-Derived Colostrum-Deprived Pigs with Porcine Circovirus Type 2 and Swine Influenza Virus. *Comparative Medicine*, 60(1), 45–50.

Welch, M., Park, J., Gauger, P., Harmon, K., Lin, K., Piñeyro, P., Zhang, J. (2017). Porcine Parainfluenza Virus Type 1 (PPIV-1) in U.S. swine: summary of veterinary diagnostic laboratory data. *Iowa State University Animal Industry Report*. <https://www.iastatedigitalpress.com/air/article/id/5961/>

Welch, M., Park, J., Harmon, K., Zhang, J., Piñeyro, P., Giménez-Lirola, L., et al. (2021). Pathogenesis of a novel porcine parainfluenza virus type 1 isolate in conventional and colostrum deprived/caesarean derived pigs. *Virology*, 563. doi:10.1016/j.virol.2021.08.015.

Welch, M., Krueger, K., Zhang, J., Neveau, M., Piñeyro, P., Magstadt, D., et al., (2023). Characterization of two porcine parainfluenza virus 1 isolates and human parainfluenza virus 1 infection in weaned nursery pigs. *Veterinary Science*, 10:18. doi:10.3390/vetsci10010018.

Woźniak, A., Miłek, D., Baška, P., & Stadejek, T. (2019). Does porcine circovirus type 3 (PCV3) interfere with porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccine efficacy? *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(4), 1454–1461. <https://doi.org/10.1111/tbed.13221>

Wozniak, A., Cybulski, P., Denes, L., Balka, G., Stadejek, T. (2022). Detection of porcine respirovirus 1 (PRV1) in Poland: incidence of co-infections with influenza A virus (IAV) and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) in herds with a respiratory disease. *Viruses*, 14:148. doi:10.3390/v14010148.

Xiao, C. T., Gerber, P. F., Giménez-Lirola, L. G., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2013). Characterization of porcine parvovirus type 2 (PPV2) which is highly prevalent in the USA. *Veterinary Microbiology*, 161(3–4), 325–330. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.038>

Xiao, C. T., Harmon, K. M., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2016). PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the U.S. during 2014–2016. *Veterinary Microbiology*, 197, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.11.009>

Xu, H., Li, C., Li, W., Zhao, J., Gong, B., Sun, Q., Tang, Y. D., Xiang, L., Leng, C., Peng, J., Wang, Q., Meng, F., Yu, Y., An, T., Cai, X., Tian, Z. J., & Zhang, H. (2022). Novel characteristics of Chinese NADC34-like PRRSV during 2020–2021. *Transboundary and Emerging Diseases*. <https://doi.org/10.1111/tbed.14485>

Xu, P. L., Zhang, Y., Zhao, Y., Zheng, H. H., Han, H. Y., Zhang, H. X., Chen, H. Y., Yang, M. F., & Zheng, L. L. (2018). Detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in central China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(5), 1163–1169. <https://doi.org/10.1111/tbed.12920>

Xu, Y., Ye, M., Sun, S., Cao, Q., Luo, J., Wang, Y., Zheng, W., Meurens, F., Chen, N., & Zhu, J. (2022). CD163-Expressing Porcine Macrophages Support NADC30-like and NADC34-like PRRSV Infections. *Viruses*, 14(9), 2056. <https://doi.org/10.3390/v14092056>

Yao, J., Qin, Y., Zeng, Y., Ouyang, K., Chen, Y., Huang, W., & Wei, Z. (2019). Genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains between 2002 and 2016 reveals PCV2 mutant predominating in porcine population in Guangxi, China. *BMC Veterinary Research*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1859-z>

Yaeger, M., & van Alstine, W. (2019). Respiratory System. In J. Zimmerman, L. Karriker, A. Ramírez, K. Schuwartz, G. Stevenson, & J. Zhang (Eds.), *Diseases of Swine* (11th ed., Vol. 1, pp. 393–407). John Wiley & Son.

Yang, L., & Zhang, Y. J. (2017). Antagonizing cytokine-mediated JAK-STAT signaling by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Microbiology*, 209, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.12.036>

Yang, S., Zhang, D., Ji, Z., Zhang, Y., Wang, Y., Chen, X., He, Y., Lu, X., Li, R., Guo, Y., Shen, Q., Ji, L., Wang, X., Li, Y., & Zhang, W. (2022). Viral Metagenomics Reveals Diverse Viruses in Tissue Samples of Diseased Pigs. *Viruses*, 14(9), 2048. <https://doi.org/10.3390/v14092048>

Ye, X., Berg, M., Fossum, C., Wallgren, P., & Blomström, A. L. (2018). Detection and genetic characterisation of porcine circovirus 3 from pigs in Sweden. *Virus Genes*, 54(3), 466–469. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1553-4>

Zepeda-Cervantes, J., Cruz-Reséndiz, A., Sampieri, A., Carreón-Nápoles, R., Sánchez-Betancourt, J. I., & Vaca, L. (2019). Incorporation of ORF2 from Porcine Circovirus Type 2(PCV2) into genetically encoded nanoparticles as a novel vaccine using a self-aggregating peptide. *Vaccine*, 37(14), 1928–1937. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.02.044>

Zhang, J., Fan, J., Li, Y., Liang, S., Huo, S., Wang, X., Zuo, Y., Cui, D., Li, W., Zhong, Z., & Zhong, F. (2019). Porcine parvovirus infection causes pig placenta tissue damage involving nonstructural protein 1 (NS1)-induced intrinsic ROS/mitochondria-mediated apoptosis. *Viruses*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/V11040389>

Zhang, P., Shen, H., Liu, X., Wang, S., Liu, Y., Xu, Z., & Song, C. (2020). Porcine Circovirus Type 3 Cap Inhibits Type I Interferon Induction Through Interaction With G3BP1. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.594438>

Zhang, W., Fu, Z., Yin, H., Han, Q., Fan, W., Wang, F., & Shang, Y. (2021). Macrophage Polarization Modulated by Porcine Circovirus Type 2 Facilitates Bacterial Coinfection. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.688294>

Zhao, J., Sun, J., Li, X., Xing, G., Zhang, Y., Lai, A. et al. (2022). Divergent viruses discovered in swine alter the understanding of evolutionary history and genetic diversity of the respirovirus genus and related porcine parainfluenza viruses. *Microbiol. Spect.* 10:3. doi:10.1128/spectrum.00242-22.

Zhao, J., Zhu, L., Xu, L., Huang, J., Sun, X., & Xu, Z. (2020). Porcine interferon lambda 3 (IFN- λ 3) shows potent anti-PRRSV activity in primary porcine alveolar macrophages (PAMs). *BMC Veterinary Research*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02627-6>

Zhao, K., Ye, C., Chang, X.-B., Jiang, C.-G., Wang, S.-J., Cai, X.-H., Tong, G.-Z., Tian, Z.-J., Shi, M., & An, T.-Q. (2015). Importation and Recombination Are Responsible for the Latest Emergence of Highly Pathogenic Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in China. *Journal of Virology*, 89(20), 10712–10716. <https://doi.org/10.1128/jvi.01446-15>

Zhao, X., Xiang, H., Bai, X., Fei, N., Huang, Y., Song, X., Zhang, H., Zhang, L., & Tong, D. (2016). Porcine parvovirus infection activates mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway by inducing ROS accumulation. *Virology Journal*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0480-z>

Zhou, A., & Zhang, S. (2012). Regulation of cell signaling and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In *Cellular Signalling* (Vol. 24, Issue 5, pp. 973–980). <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.004>

Zhou, L., Kang, R., Yu, J., Xie, B., Chen, C., Li, X., Xie, J., Ye, Y., Xiao, L., Zhang, J., Yang, X., & Wang, H. (2018). Genetic characterization and pathogenicity of a novel recombined porcine reproductive and respiratory syndrome virus 2 among Nadc30-like, Jxa1-like, and Mlv-like strains. *Viruses*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/v10100551>

Zhou, L., & Yang, H. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome in China. In *Virus Research* (Vol. 154, Issues 1–2, pp. 31–37). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.016>

2. Capítulo 2. Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano

2.1 Introducción

El complejo respiratorio porcino (CRP) es una entidad multifactorial que desencadena enfermedades respiratorias en cerdos en cualquier etapa del ciclo productivo. Se presenta principalmente en cerdos de uno a tres meses de edad y su manifestación está afectada por diversos factores. Entre estos, es importante tener en cuenta la naturaleza y las interacciones entre los agentes infecciosos involucrados, las condiciones medioambientales y de manejo en términos de bioseguridad de la granja, el microbioma del sistema respiratorio, la respuesta inmune innata y adaptativa, entre otros (Brockmeier et al., 2002; Kumar et al., 2018; Pirolo et al., 2021; Saade et al., 2020)

En Colombia, la investigación dirigida a la detección de los agentes virales que afectan negativamente los sistemas productivos porcinos nacionales se ha enfocado hacia el diagnóstico serológico y molecular. Así, diversos estudios como los de (Cruz et al., 2006); (Ramírez-Nieto et al., 2012); (Mancipe-Jiménez et al., 2014); (Rincón-Monroy, 2014); (A. Rincón, 2014); (Vargas-Bermúdez et al., 2018) (Vargas-Bermúdez et al., 2019) (Vargas-Bermúdez et al., 2021) han revelado que al interior de las producciones están circulando PRRSV, PCV2, SIV y PCV3. Estos se han relacionado con casos de manifestaciones respiratorias de moderadas a graves. No obstante, no existe información sobre las coinfecciones y los viomas asociados con la presentación de brotes de CRP en el país y

cómo estas varían de acuerdo con las condiciones climáticas de la granja. Por ello, el objetivo del presente trabajo es determinar las dinámicas de PRRSV, PCV2, PCV3, SIV y PPV2 en dos granjas porcinas ubicadas en el trópico alto colombiano y determinar si las particularidades climáticas propias de esta condición influyen en el comportamiento de estos virus

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general.

Determinar las dinámicas de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas de Colombia, una positiva a PRRSV y otra libre, ubicadas en el trópico alto colombiano a una altitud entre los 1.000 y 2.000 msnm.

2.2.2 Objetivos específicos

Determinar, mediante métodos moleculares, la presencia de virus respiratorios (PRRSV, SIV, PCV2 y PCV3) en dos granjas porcinas tecnificadas, una con circulación y otra libre de PRRSV en diferentes puntos del ciclo productivo.

Determinar la presencia de coinfecciones virales respiratorias durante el ciclo productivo en condiciones del trópico alto colombiano.

Establecer el efecto de la presencia de PRRSV sobre la manifestación del CRP en asociación con otros virus.

Genotipificar los virus encontrados estableciendo relaciones filogenéticas con virus reportados

Establecer si las condiciones de altitud y clima pueden afectar la presencia de virus respiratorios

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo longitudinal, estratificado y comparativo en dos granjas tecnificadas ubicadas en el trópico alto colombiano durante el período comprendido entre marzo y septiembre del 2022.

2.3.2 Ubicación del estudio

El estudio se realizó en el departamento de Cundinamarca, las dos granjas están ubicadas en municipios distintos, pero a altitudes similares, así: i) granja 1 (G1): ubicada a una altitud de 1350 msnm; y, ii) granja 2 (G2): ubicada a 1600 msnm, es decir, las dos están en la altura conocida como trópico alto colombiano (entre 1000 y 2000 msnm). La distancia entre las granjas y el laboratorio de virología y biología molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia no superaba los 60 kilómetros; y entre ellas, la distancia era de 91.5 kilómetros.

2.3.3 Granjas seleccionadas

Las granjas fueron seleccionadas por conveniencia (teniendo en cuenta el deseo manifiesto por los propietarios y veterinarios de participar en el estudio). Las dos granjas manejaban un sistema productivo de ciclo completo con sistema de flujo continuo (G1) y en bandas (G2) y contaban con un inventario total de 150 madres cada una; el fin productivo de las dos granjas es la cría, levante y finalización de cerdos destinados al faenado para consumo humano. El factor diferencial entre granjas fue que G1 tiene un registro histórico de la ausencia de PRRSV por diagnóstico serológico (ELISA) mientras que la G2 tiene un registro histórico de presencia de PRRSV también por pruebas serológicas. Es importante señalar que en Colombia no se vacuna contra PRRSV.

2.3.4 Población evaluada

Tomando en cuenta el sistema productivo de ciclo completo la población a evaluar fue dividida en cuatro diferentes etapas, así: (i) cerdos en pre-destete (PD: menos de 21 días de vida), (ii) pre-ceba (PC: 7 - 10 semanas de edad), (iii) ceba (CC: 12 - 15 semanas de edad) y (iv) finalización (CF: 18 - 22 semanas de edad); lo anterior basados en estudios

previos del grupo de investigación (Mendoza, 2015) y lo recomendado por (Vilalta et al., 2018; 2019).

2.3.5 Muestreo y tipo de muestras colectadas

Se realizó un muestreo longitudinal estratificado con una periodicidad bimensual por seis meses, es decir tres muestreos por granja. En G1, el primer muestreo fue el 14/03/2022, el segundo muestreo ocurrió el 08/06/2022 y se finalizó el 23/08/2022. Por su parte, el muestreo en G2 fue: inició el 22/04/2022, segundo muestreo el 29/06/2022 y el tercer muestreo en 07/09/2022. Dentro de los periodos climáticos de Colombia, los dos primeros muestreos para cada granja ocurrieron durante el primer período de lluvias que tiene el país (marzo-junio); mientras que el tercer muestreo se hizo durante el denominado período seco (ausencia de lluvias, agosto - septiembre). Se determinó un mínimo de tiempo entre cada muestreo entre granjas de 15 días con el fin de prevenir la contaminación de patógenos de una a la otra, así mismo, los materiales fueron preparados para cada muestreo y ningún sobrante de material utilizado en una granja fue llevado a la otra. Es necesario aclarar que no se evaluaron los mismos cerdos en cada muestreo en cada granja, sino que se tomaron muestras de animales que se encontraban en la etapa de desarrollo planteada para el muestro.

- **Fluidos orales (FO):** En cada muestreo, se seleccionaron tres corrales de cada grupo a evaluar (PD, PC, CC y CF). Dentro de cada corral se ubicaron cinco cuerdas, para un total de 15 cuerdas por grupo. Las cuerdas se dejaban un mínimo de tiempo de 40 minutos (min) en el PD, y un mínimo de 25 min para los demás grupos. Luego de este período, se recuperó el FO de cada cuerda exprimiendo las cinco cuerdas dentro de una bolsa plástica sellable, que luego fueron cortadas en uno de sus extremos y el líquido fue re-empacado en tubos Falcon de 15 mL que contenían 3 mL de medio de transporte viral, fueron rotulados, y luego de ello, los tubos fueron puestos en refrigeración y transportados el mismo día al laboratorio. Se hicieron “pooles” de cinco cuerdas (correspondientes a las puestas en cada corral) obteniendo, en definitiva, tres muestras por grupo en cada muestreo. Como fueron tres muestreos bimensuales durante seis meses, el número total de cuerdas recuperadas fue de 45 por cada grupo que corresponde a nueve muestras finales por cada grupo evaluado.

En el laboratorio, los FO fueron centrifugados a 1600 xg durante 10 min, del total recuperado se tomaban 1.5 mL de sobrenadante en un tubo eppendorf para almacenarlo como original y de este se llevaban 200 µL a otro eppendorf para realizar la extracción de ácidos nucleicos. Las extracciones fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento.

- **Muestras de sueros:** Para la toma de sangre para recuperar suero, se seleccionaron cuatro corrales de cada una de las cuatro etapas de desarrollo. Las muestras de sangre fueron colectadas por venopunción de la vena cava en lechones y de la yugular en las demás etapas con agujas tipo Vacutainer® en tubos tapa amarilla de 7 mL que fueron puestos inmediatamente en refrigeración y fueron transportados el mismo día al laboratorio. En cada corral se seleccionaron, al azar, tres individuos, es decir que se obtuvieron 12 sueros por cada grupo. En el laboratorio, los tubos fueron centrifugados a 3500 xg durante 8 min para lograr la separación completa del suero; con estos se hicieron “pools” de cuatro sueros en un tubo eppendorf de 1.5 mL, tomando 300 µL de cada suero. Luego de esto, se tomaron 200 µL de cada “pool” para la extracción de ácidos nucleicos. Las extracciones fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento. Al final se obtuvieron un total de tres muestras por cada grupo que luego de los tres muestreos se convirtieron en un total de 36 muestras de sangre por grupo, es decir, nueve muestras por cada grupo en total.

- **Muestras ambientales:** Se colectaron muestras ambientales con gasas estériles, correspondientes a: superficie de glándula mamaria, piso de parideras, enriquecimiento ambiental de los corrales y comederos del sitio donde estaban los cerdos donde se colectaron los fluidos orales y las muestras de sangre. Todas estas muestras fueron tomadas con una gasa estéril humedecida con 1 mL de medio de transporte y, posteriormente, fue depositada en un tubo Falcon de 15 mL junto con 3 mL del mismo medio de transporte con el cual se humedeció. Las muestras fueron almacenadas en frío hasta su arribo al laboratorio. Allí, las gasas fueron oprimidas para extraer la mayor cantidad de contenido, posteriormente se centrifugaron a 1600 xg durante 10 min; del sobrenadante se tomaban 1.5 mL en un tubo eppendorf para almacenarlo como original y de este se llevaban 200 µL a otro eppendorf para realizar la extracción de ácidos nucleicos. Las muestras fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento. La descripción de cada muestra ambiental se encuentra a continuación:

• **Muestras de glándula mamaria:** Se tomaron muestras de seis cerdas en cada muestreo. Estas eran tomadas cuando los lechones se encontraban amamantándose, para ello, se tomó la gasa estéril, humedecida previamente con 1mL de medio de transporte viral, y con esta se masajó desde la base hasta la punta de cada pezón en sentido horario. Se utilizó una gasa por cerda. Posteriormente, se hicieron “pooles” de tres gasas, obteniendo dos muestras en cada muestreo que al final del experimento se convirtieron en un total de seis muestras.

• **Muestras de pisos de parideras:** En los corrales de donde se tomaron las muestras del punto anterior, se ubicaron los lechones que se encontraban durmiendo, del piso donde se encontraban y usando la gasa humedecida con el medio de transporte viral, esta se pasó tratando de tomar la humedad que dejaba en el piso la respiración de los cerdos. Se tomaron muestras de seis pisos en cada visita haciendo pooles de tres gasas para un total de dos muestras que se convirtieron en seis muestras al final del estudio.

• **Muestras de enriquecimiento ambiental de los corrales y comederos:** para estas muestras igualmente se trabajó con el sistema de gasas estériles. Con dos gasas por corral se tomaron muestras de los enriquecimientos ambientales y con otras dos se tomaron muestras de los comederos. En cada caso se colectaron seis gasas, por muestreo, haciendo “pooles” de tres para obtener dos muestras por visita, dos por enriquecimiento ambiental y dos por comederos, siendo un total de seis muestras al final del estudio por cada granja.

Todas las muestras ambientales fueron puestas en refrigeración y fueron transportadas al laboratorio el mismo día donde fueron centrifugadas a 1600 xg durante 10 min, de allí se almacenaron 2mL de sobrenadante y de estos, 200 µL para la extracción de ácidos nucleicos, los cuales fueron almacenados a -80°C hasta su procesamiento.

2.3.6 Virus evaluados

Los virus que se evaluaron en cada granja fueron: virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV), circovirus porcino tipo 2 (PCV2), circovirus porcino tipo 3 (PCV3), el virus de la influenza porcina (SIV) tipo A, Parvovirus porcino 2 (PPV2) y Parainfluenza porcina tipo 1 (PPIV-1).

2.3.7 Procedimientos de laboratorio

▪ Extracción de ácidos nucleicos

Para la extracción de ácidos nucleicos virales se empleó el kit High Pure Viral Nucleic Acid Kit® (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante. Cada extracción fue dividida en dos para detectar cada grupo de virus: ADN (PCV2, PCV3 y PPV2) o ARN (PRRSV, SIV y PPIV-1), la primera fue almacenada a -20°C y la segunda a -80°C hasta su procesamiento.

▪ Preparación de cDNA

Para la obtención del cDNA para la detección de los virus ARN se empleó el kit de transcripción inversa High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit® (Applied Biosystems– Thermo Fisher Scientific®), siguiendo las instrucciones del fabricante.

▪ Detección viral a través de PCR y qPCR

PCR A PUNTO FINAL: esta técnica se empleó para la detección molecular de SIV-A y PPV2 utilizando la enzima Taq Polimerasa Recombinante de Invitrogen® utilizando el siguiente protocolo: denaturación inicial a 94 °C durante 1 min, seguido por 38 ciclos cada uno con una denaturación a 94 °C durante 5 min, alineación a 57 °C durante 30 segundos (seg) y, extensión a 72 °C durante 1 min.

La obtención de los fragmentos genómicos para secuenciación de los virus de las muestras positivas se realizó utilizando el siguiente protocolo: denaturación inicial a 98°C durante 1 min, seguido por 35 ciclos, cada uno con una denaturación a 98°C durante 15 seg, alineación a 57°C durante 30 seg y, extensión a 72°C durante 40 seg, utilizando la enzima Q5 High-Fidelity DNA polymerase. Esto se realizó en el equipo Bio-Rad C-1000 Touch. Luego de la PCR, los amplicones fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5%.

qPCR: esta técnica se empleó para la detección molecular y la cuantificación de cargas de PRRSV, PCV2, PCV3, SIV-A y PPIV-1. Cada uno de estos agentes fue detectado utilizando primers y sondas específicas utilizadas y validadas en el laboratorio. El protocolo utilizado fue el siguiente: denaturación inicial a 95 °C durante 10 min, seguida de 42 ciclos con una denaturación a 95 °C por 15 seg, alineación a 60°C por 45 seg, extensión (detección de fluorescencia) a 72°C por 2 segundos a 530- 560 nm, y un ciclo final de 40°C por 30 seg.

Los primers y sondas utilizadas para cada uno de los agentes y algunas de sus características pueden encontrarse en la tabla anexo 1.

▪ **Genotipificación viral y análisis bioinformático**

Empleando primers para secuenciación, se intentó la secuenciación parcial de genomas virales: PRRSV (ORF-5); PCV2 (Cap), PCV3 (Cap), SIV-A (H1-H3-H5-N1-N2), PPV2 (VP2). Con esto se realizó genotipificación de los virus encontrados. Esta secuenciación se realizó empleando el método de Sanger en el Servicio de Secuenciación y Análisis Molecular – SsiGMoL de la Universidad Nacional de Colombia. Las secuencias obtenidas fueron curadas empleando el programa Bioedit® y se realizó filogenia empleando MEGA7® comparando las secuencias obtenidas con las reportadas en las bases de datos (GenBank) utilizando el método estadístico “Maximun Likelihood”, con el método de filogenia de “Bootstrap” con 1000 réplicas, el método de inferencia Tamura-3 y el análisis “Gamma Distributed With Invariant Sites (G+I)”. La modificación final del árbol se realizó utilizando el programa FigTree versión 1.4.4.

▪ **Variables climáticas**

Se tomaron datos mensuales durante los seis meses de duración del estudio en cada uno de los municipios en donde estaban las granjas. Las variables climáticas que pudieron ser recopiladas de las estaciones meteorológicas fueron: variación de temperatura en la zona geográfica y en la granja (mínima, máxima y promedio), pluviosidad y humedad. Estos datos fueron obtenidos de la estación meteorológica más próxima perteneciente al Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) de Colombia a través de la página web de la entidad. Se tomaron datos de hasta cuatro semanas previas a cada muestreo para posteriormente utilizarlos en el análisis estadístico.

▪ **Variables productivas**

Las variables productivas más importantes (ganancia de peso, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad por etapa) de los grupos seguidos durante seis meses fueron solicitadas a cada granja y fueron comparadas con parámetros de control y con la presencia de los virus en estudio. Para los análisis estadísticos de estas variables, se tomaban los datos de los dos meses anteriores a cada muestreo (tiempo que había entre muestreo y muestreo) y se realizó el promedio para cada una de ellas.

▪ **Análisis de resultados**

Con los resultados obtenidos se determinó el porcentaje de positividad de cada virus en cada granja, como también el porcentaje de positividad de cada una de las diferentes copresencias virales posibles. Aquí es importante aclarar que el termino rutinario empleado para la presencia simultánea de patógenos en un individuo es “coinfeción”. En el presente estudio, la mayoría de las muestras fueron de tipo ambiental (fluidos orales, pisos de parideras, glándula mamaria, enriquecimiento ambiental y comederos), excepto los sueros. Consideramos que el termino coinfección no es el apropiado ya que al encontrar los virus en el ambiente no es indicativo de que los cerdos estén infectados. Así, decidimos emplear el término “copresencia” a lo largo del texto excepto cuando se hable particularmente de sueros donde se empleará el termino coinfección.

Se establecieron diferencias entre los grupos evaluados tanto dentro de granja como entre granjas mediante estadística descriptiva. Igualmente, se analizó con estadística descriptiva el comportamiento de cada virus y copresencias a través del tiempo (evolución en el tiempo). Los análisis de asociación entre las variables climáticas y presencia de virus como también con las variables productivas se analizaron mediante correlación múltiple utilizando el método de Pearson con un nivel de significancia del 95%. Los análisis de resultados fueron asistidos por el analista estadígrafo del grupo de investigación y las gráficas fueron realizadas utilizando el programa Excel® para Windows 2010 y RStudio.

▪ **Aval de comité de ética**

El proyecto contó con el aval del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá (**Acta No. CB-FMVZ-UN-009-2022**). La ejecución de este proyecto está sustentada según lo expuesto en la resolución 8430 de 1993 “*Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud*”. La ley 84 de 1989 “*Por la cual se adopta el estatuto nacional de protección de los animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia*”, ley 576 del 2000 “*Por la cual se expide el Código de Ética para el ejercicio profesional de la medicina veterinaria, la medicina veterinaria y zootecnia y la zootecnia*”, y la ley 1774 de 2016 “*por medio de la cual se modifican el código civil, la ley 84 de 1989*”. Por último, el Código Penal, artículo 1 “*Los animales como seres sintientes no son cosas, recibirán especial protección contra el*

sufrimiento y el dolor, en especial, el causado directa o indirectamente por los humanos, por lo cual en la presente ley se tipifican como punibles algunas conductas relacionadas con el maltrato a los animales, y se establece un procedimiento sancionatorio de carácter policivo y judicial.

2.4 Resultados

2.4.1 Descripción general de los datos obtenidos en términos de muestras, variables productivas y climáticas.

- **Número de muestras colectadas de pendiendo de su origen.**

Durante los seis meses de muestreo en cada granja fueron tomadas 16 diferentes tipos de muestras con el fin de realizar un análisis poblacional de la circulación viral. Para ello, las muestras se clasificaron en dos grandes grupos: en primer lugar, las ambientales: ambiental piso de paridera (APP), ambiental glándula mamaria (AGM), fluido oral (FO), comederos (C), juguete (J) y en segundo lugar las individuales (suero). En total, durante cada muestreo, se recolectaban 34 muestras, por los tres muestreos en cada granja, se recolectaron 102 muestras y, por las dos granjas, 204 muestras. La relación pormenorizada de las muestras se encuentra en la tabla 1.

Tabla 1. Relación del tipo y número de muestras colectadas durante los tres muestreos (bimensuales) durante un periodo de seis meses en cada granja.

ID muestra*	Número de muestras por muestreo	Total (3 muestreos)	2 granjas
APP	2	6	12
AGM	2	6	12
SPD	3	9	18
SPC	3	9	18
SC	3	9	18
SF	3	9	18
FOPD	3	9	18
FOPC	3	9	18
FOC	3	9	18
FOF	3	9	18
PCC	1	3	6
PCJ	1	3	6
CC	1	3	6
CJ	1	3	6
FJ	1	3	6
FC	1	3	6
TOTAL	34	102	204

***APP**: ambiental, piso de paridera. **AGM**: ambiental, glándula mamaria. **SPD**: suero predestete. **SPC**: suero preceba. **SC**: suero ceba. **SF**: suero finalización. **FOPD**: fluido oral predestete. **FOPC**: fluido oral preceba. **FOC**: fluido oral ceba. **FOF**: fluido oral finalización. **PCC**: Preceba comedero. **PCJ**: preceba juguete. **CC**: ceba comedero. **CJ**: ceba juguete. **FC**: finalización comedero. **FJ**: finalización juguete.

▪ **Datos productivos.**

La tabla 2 muestra el promedio de los datos productivos de los dos meses previos a cada muestreo reportados para cada granja. Allí se evidencia que ambas granjas presentaron comportamientos diferentes. La G2 mostró mejores valores en las variables peso al destete (7.26 kg en promedio a los 21 días de vida) y peso a la ceba (121.6 kg en promedio a la semana 22 de vida), mientras que la G1, a pesar de tener el mismo tiempo de producción, tuvo valores inferiores para estas variables, relacionado con su conversión alimenticia (2.4). La G2 muestra una menor mortalidad en lactancia (10.7% en promedio) comparada con la G1 (12.56% en promedio), no obstante, en las etapas finales de la producción, la mortalidad es mayor en la G2 (3.6%) que en la G1 (2.83%) (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio de los parámetros productivos evaluados de los dos meses previos a los muestreos en cada granja estudiada.

Muestreo	PD* (Kg)		PC (Kg)		GDP (Kg)		CA		MRL (%)		MRC (%)	
	Media	SEM**	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
Granja 2 (G2)												
Uno	7.2	0.74	121.2	1.30	0.829	0.04	2.2	0.56	13.5	0.74	4.7	0.06
Dos	7.4	0.65	120.6	0.94	0.861	0.17	2.1	0.47	10.0	0.52	3.6	0.13
Tres	7.2	0.58	123.0	1.04	0.867	0.06	2.1	0.28	8.1	0.17	2.7	0.06
Granja 1 (G1)												
Uno	6.0	-	106.0	0.94	0.898	0.01	2.4	0.34	10.4	0.55	2.4	0.09
Dos	6.0	-	121.0	0.73	0.955	0.05	2.4	0.42	11.9	0.42	3.3	0.17
Tres	6.1	0.02	114.0	0.83	0.930	0.01	2.4	0.31	15.4	0.47	2.8	0.86

***PD**: Peso al destete. **PC**: Peso en ceba. **GDP**: Ganancia diaria de peso. **CA**: conversión alimenticia. **MRL**: Mortalidad en lactancia. **MRC**: Mortalidad en ceba. **SEM**: Error estándar de la media. Kg: kilogramos. %: porcentaje.

▪ Datos Climatológicos

Los datos promedio encontrados para cada variable climatológica evaluada se evidencia en la tabla 3, es importante destacar que los datos mostrados corresponden a valores promedio de los 10 días previos a la fecha de cada muestreo. Las dos granjas presentaban una diferencia de altitud de 300 m, la G1 se ubica a una altura de 1340 msn, mientras que la G2 a 1630 msnm. Es interesante notar que para todas las variables climáticas los resultados fueron mayores en la G1, así la temperatura media fue mayor por 9.44°C, la temperatura mínima por 7.53°C, la temperatura máxima por 11.3°C, la humedad relativa por 13.27% y la precipitación media total por 30 mm/cm³.

Tabla 3. Promedio de las variables climatológicas evaluadas. Estos datos corresponden a los valores reportados durante los diez días previos a cada muestreo en cada granja.

Muestreo	Tmed* (°C)		Tmin (°C)		Tmax (°C)		HRel (%)		TMP (mm)	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
G2										
Uno	13.9	4.36	10.2	3.51	15.4	3.28	76.1	0.11	168.8	13.49
Dos	12.9	5.58	11.8	3.95	16.8	2.85	76.8	0.04	137.3	15.63
Tres	13.9	4.85	10.4	3.25	16.4	2.96	75.5	0.18	48.0	14.68
G1										
Primera	22.0	3.47	18.0	2.95	28.0	3.65	99.6	0.02	278.4	16.39
Segunda	23.4	3.82	19.0	2.84	27.0	4.39	84.6	0.05	90.8	17.47
Tercera	23.6	3.97	18.0	2.93	27.0	3.99	84.0	0.10	75.0	16.45

***Tmed**: temperatura media. **Tmin**: temperatura mínima. **Tmax**: temperatura máxima. **Hrel**: humedad relativa.

TMP: precipitación media total, **°C**: grados centígrados. **%**: porcentaje, **mm**: milímetros.

2.4.2 Comportamiento de los virus estudiados de forma individual y en copresencias y coinfecciones por cada granja

▪ Detección de los virus en la población total evaluada en la granja 1 (G1)

Los diferentes agentes virales fueron evaluados para cada muestra tomada durante los tres muestreos. En ninguna muestra de G1 fue encontrado el PPIV-1. Para los otros virus, existieron diferencias en términos del número de muestras positivas para cada agente durante cada muestreo. La G1 fue siempre negativa a PRRSV, cumpliendo así los criterios de inclusión del estudio. La Figura 6 muestra las dinámicas de detección de cada agente durante cada muestreo y permite identificar dinámicas virales. Durante cada muestreo eran tomadas 34 muestras, la figura muestra el número de muestras positivas para cada agente. SIV-A mantuvo una positividad del 100% de las muestras durante los tres muestreos (34 / 34). PPV2, por su parte, mostró una positividad del 100% en el primer muestreo (34 / 34), pero disminuyó a medida que pasó el tiempo, así tuvo una positividad del 26.47% (9 / 34) en el segundo muestreo y terminó con una positividad de 17.64% (6 / 34) en el tercer muestreo. El PCV3 tuvo unas dinámicas distintas a las del PPV2, aumentando paulatinamente desde el primer muestreo con 8.8% (3 / 34), luego el 11% (4 / 34) y finalmente el 50% (17 / 34). PCV2 varió de acuerdo con el muestreo encontrándose en el 35.29% (12 / 34) para el primero siendo negativo en el segundo y alcanzando una positividad en el tercero de 44.11% (15 / 34).

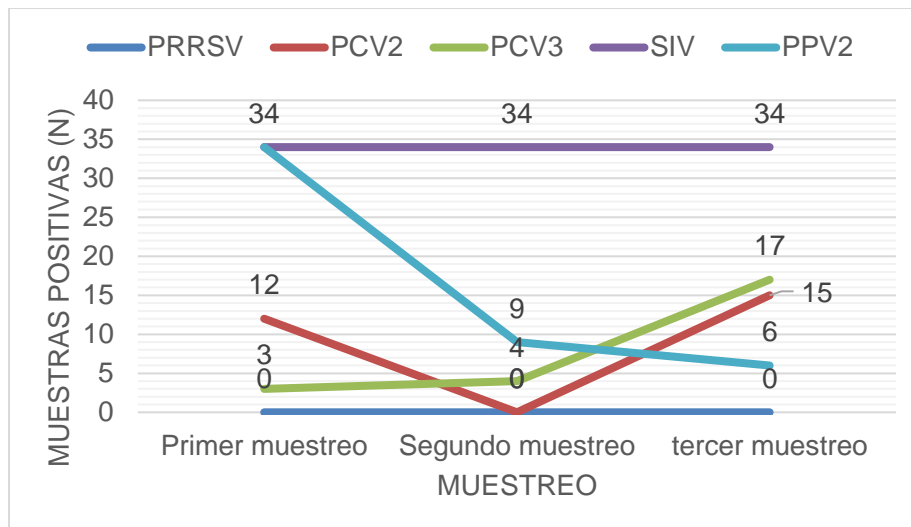


Figura 6. Dinámica de los virus evaluados en la granja 1 (G1). Se discrimina el número de muestras positivas a cada agente durante cada muestreo bimensual durante seis meses.

Con el fin de evaluar mejor las dinámicas de cada virus en relación con los demás durante cada muestro se realizó una discriminación del número total de muestras positivas a cada copresencia durante los tres muestreos (Figura 7). Así, en total la sumatoria de muestras para cada granja fue de 102 durante los tres muestreos. Se evidencia que existió una positividad a la copresencia de PPV2/SIV-A del 28.33% (34 / 102), seguida por PCV3/SIV-A con 12.74% (13 / 102); la copresencia triple más común fue PCV2/PPV2/SIV-A con 11.76% (12 / 102), mientras que la única cuádruple fue PCV2/PPV2/SIV-A con un 1.96% (2 / 102) de muestras positivas (Figura 7).

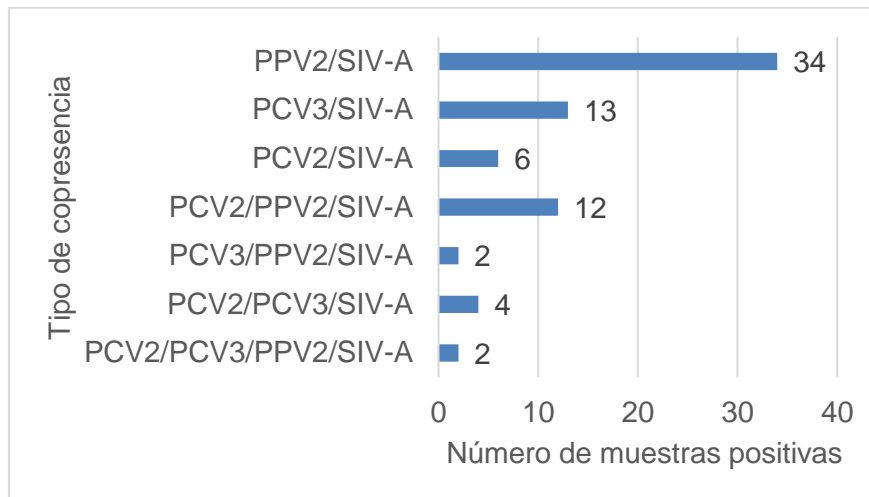


Figura 7. Sumatoria del número de muestras con copresencias virales durante los tres muestreos en la granja 1.

La discriminación del tipo de copresencias halladas durante los tres muestreos está plasmada en la Figura 8. La más común en el primer muestreo fue PPV2/SIV-A (59%; 20 / 34); 29% (10 / 34) para el segundo y 12% (4 / 34) para el tercero. Se evidencia, además, cómo varió el número de copresencias durante los tres muestreos, iniciando con cuatro, luego dos y terminando con seis copresencias diferentes en el último. Fueron más comunes las copresencias dobles (PPV2/SIV-A, PCV3/SIV-A y PCV2/SIV-A), seguidas por las triples (PCV2/PPV2/SIV-A y PCV2/PCV2/ SIV-A) y cuádruple (PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A).

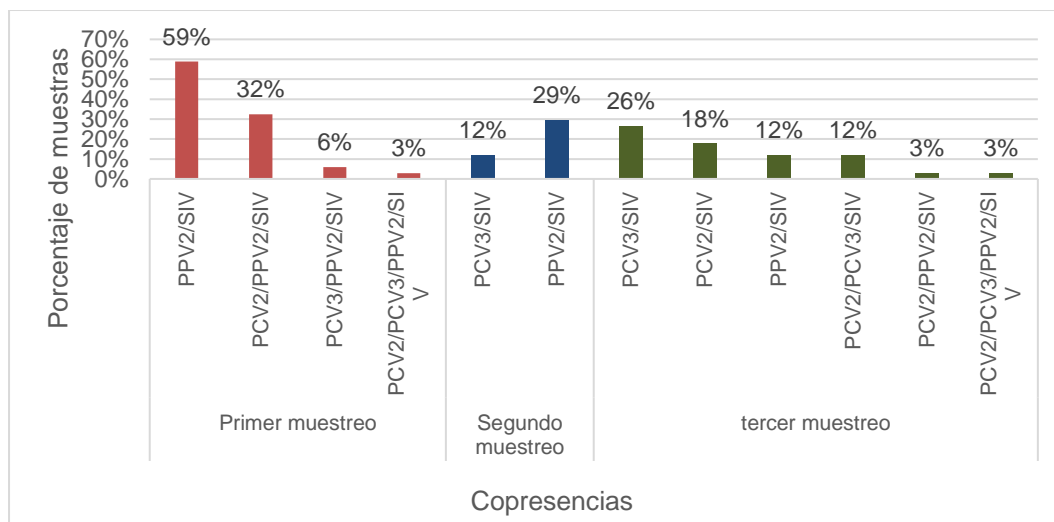


Figura 8. Porcentaje de muestras positivas a las diferentes copresencias encontradas con los virus evaluados (PRRSV, PCV2, PCV3, SIV y PPV2) en la G1 durante los tres muestreos.

Para poder conocer cuál era el tipo de muestra en la cual se podía hallar cada copresencia, los datos fueron discriminados en la Tabla 5.

Tabla 4. Frecuencia de las copresencias virales en la granja 1 en las diferentes etapas productivas evaluadas y dentro de estas dependiendo del tipo de muestra.

Muestreo	Etapa Productiva Tipo de Copresencia	PreDestete <21 días (10n)				PreCeba (8n)				Ceba (8n)				Finalización				TOTAL	
		APP*	AGM	SPD	FOPD	PCC	PCJ	FOPC	SPC	CC	CJ	FOC	SC	FC	FJ	FOF	SF		
Primero	PCV2/PPV2/SIV-A	1	1	2				1	1	1		1			2	1	11	34	
	PPV2/SIV-A		1		2	1	1	2	2		1	2	2	1	1	1	2		19
	PCV3/PPV2/SIV-A			1									1				2		2
	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A	1			1														2
Segundo	PCV3/SIV-A	2	2														4	34	
	SIV-A			3	3	1	1	3	3	1	1	3	1				20		
	PPV2/SIV-A											2	1	1	3	3	10		
Tercero	PCV2/PCV3/SIV-A	1		1			1	2						1			6	34	
	PCV3/SIV-A	1	2		3			1	2	1							10		
	SIV-A			1						1	1	2				1	6		
	PCV2/SIV-A			1							1				2	2	6		
	PCV2/PPV2/SIV-A											1		1			2		
	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A														1		1		
	PPV2/SIV-A					1			1		1						3		
TOTAL		6	6	9	9	3	3	9	9	3	3	9	9	3	3	9	9	102	

*APP: Ambiental piso de paridera. AGM: ambiental glándula mamaria. SPD: suero predestete. FOPD: fluido oral predestete. PCC: preceba comedero. PCJ: preceba juguete. FOPC: fluido oral preceba. SPC: suero preceba. CC: ceba comedero. CJ: ceba juguete. FOC: fluido oral ceba. SC: suero ceba. FC: finalización comedero. FJ: finalización juguete. FOF: fluido oral finalización. SF: suero finalización. Los colores muestran la diferencia que existe entre el número de muestras positivas a cada copresencia de acuerdo con el tipo de muestra y la etapa, así, cuanto más verde sea mayor número de muestras positivas hay.

Durante el primer muestreo, solamente dos copresencias (PCV2/PPV2/SIV-A y PPV2/SIV-A) tuvieron una distribución a lo largo de todas las etapas productivas, en ocasiones encontrándose en el mismo tipo de muestra tomada para cada etapa, como en el caso de AGM, FOPC, SPC, FOC, FOF y SF; sin embargo, fue PPV2 / SIV-A la que estuvo más presente sobre todo a partir de la preceba, mientras que en el predestete estuvieron presentes todas las copresencias. El segundo muestreo evidenció que las dinámicas cambiaron, pero es interesante notar cómo se distribuyeron los virus por cada etapa, así, en el PD, PCV3/SIV-A y SIV-A fueron los virus más comunes, mientras que en la finalización la copresencia más común fue PPV2/SIV-A. A medida que aumentó el número de copresencias así mismo disminuyó el número y tipo de muestras positivas a esta, sin embargo, la tabla muestra que las etapas en donde existió mayor cantidad de copresencias fue la ceba y la finalización, además, que no fue común encontrar en pareja al PCV3 con el PPV2, y que las muestras en donde más se encontraron fueron las de tipo ambiental, seguida por los sueros. En cuanto a estos últimos, las coinfecciones presentes variaron de acuerdo con el muestreo y la etapa. Así, durante el primer muestreo, en el PD las coinfecciones más comunes fueron PCV2/PPV2/SIV-A y PCV3/PPV2/SIV-A, a partir de aquí, una coinfección que se encontró de forma constante fue PPV2/SIV-A, mientras que PCV2/PPV2 SIV-A se repitió nuevamente en la preceba y la finalización y en la ceba se evidenció PCV3/PPV2/SIV-A.

▪ **Detección de los virus en la población total evaluada en la granja 2**

Los diferentes agentes virales fueron evaluados para cada muestra tomada durante los tres muestreos. En ninguna muestra de G2 fue encontrado el PPIV-1. Para los otros virus, hubo diferencias en términos del número de muestras positivas para cada agente durante cada muestreo. La G2 fue positiva a PRRSV, cumpliendo así los criterios de inclusión del estudio. La Figura 9 muestra las dinámicas de detección de cada agente durante cada muestreo y permite identificar dinámicas virales. Durante cada muestreo eran tomadas 34 muestras, la figura muestra el número de muestras positivas para cada agente. SIV-A mantuvo una positividad del 100% de las muestras durante los dos primeros muestreos (34/34), sin embargo, para el tercero tuvo una positividad del 85.29% (29 / 34). para el PPV2, se encontró que el número de muestras positivas aumentaba con el tiempo, así, pasó de una prevalencia del 8.82% (2 / 34) en el primer muestreo a una de 17.64% (6 / 34) en el segundo a una del 100% en el tercero. El PCV3 se mantuvo estable durante los

primeros dos muestreos con una positividad del 32.35% (11 / 34) y aumentó en el último a 44.11% (15 / 34). Por su parte el PCV2 mostró un aumento considerable entre el primer (5.88%) y segundo muestreo (55.88%), y se mantuvo casi estable hacia el tercer muestreo (58.82%)

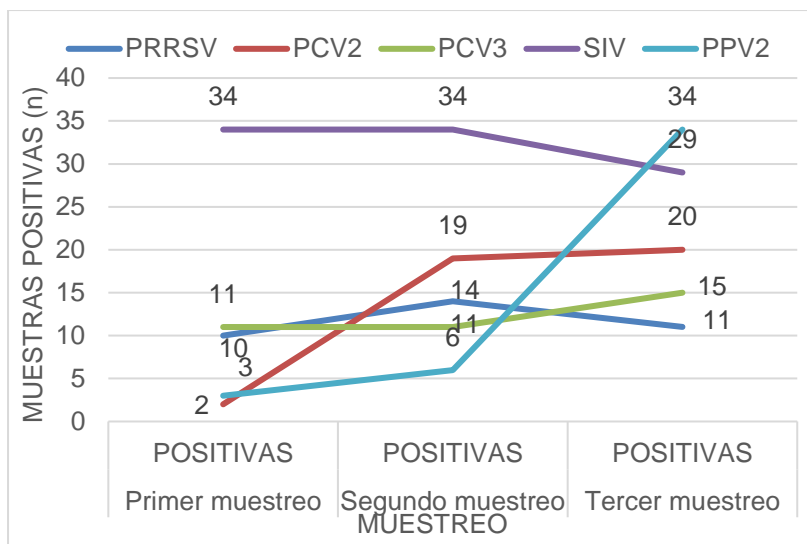


Figura 9. Dinámica de los virus evaluados en la granja 2 (G2). Se discrimina el número de muestras positivas a cada agente durante cada muestreo bimensual durante seis meses.

Con el fin de evaluar mejor las dinámicas de cada virus en relación con los demás durante cada muestro se realizó una discriminación del número total de muestras positivas a cada copresencia en la G2 durante los tres muestreos (Figura 10). Así, en total la sumatoria de muestras para la granja fue de 102 durante los tres muestreos. Se evidenció que hubo un número mayor de copresencias totales con respecto a la G1, llegando en la G2 a ser de 14 tipos de copresencias diferentes. La G2 fue positiva a PRRSV durante todos los muestreos. Hubo mayor número de copresencias triples (6 / 14) en donde PRRSV se encontró en 3 / 6 copresencias triples. El siguiente tipo de copresencia más común fue doble (4 / 14), seguido por las cuádruples (3 / 14) y una quintuple (1 / 14).

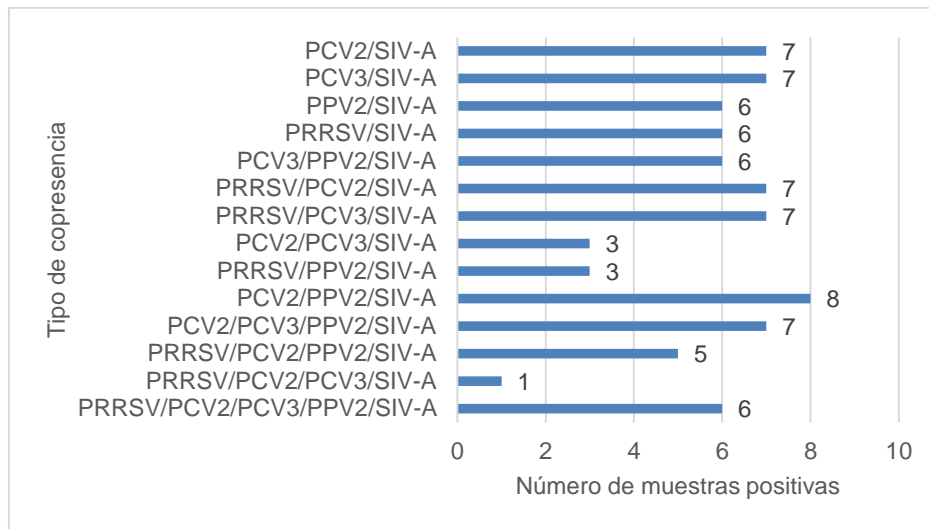


Figura 10. Sumatoria del número de muestras positivas a las copresencias de agentes virales encontradas durante los tres muestreos en la G2.

Con respecto al porcentaje de muestras positivas a las copresencias de agentes virales se evidencian diferencias con respecto al número de las copresencias en cada muestreo frente a la G1. La G2 muestra un mayor número de copresencias distribuidos en cada muestreo comparado con la G1. Es importante destacar que el aumento de muestras positivas a PRRSV en el segundo muestreo (Figura 9) corresponde con el aumento en el número de coinfecciones presentes en este muestreo debido a que se encontraron 12 diferentes copresencias (Figura 11).

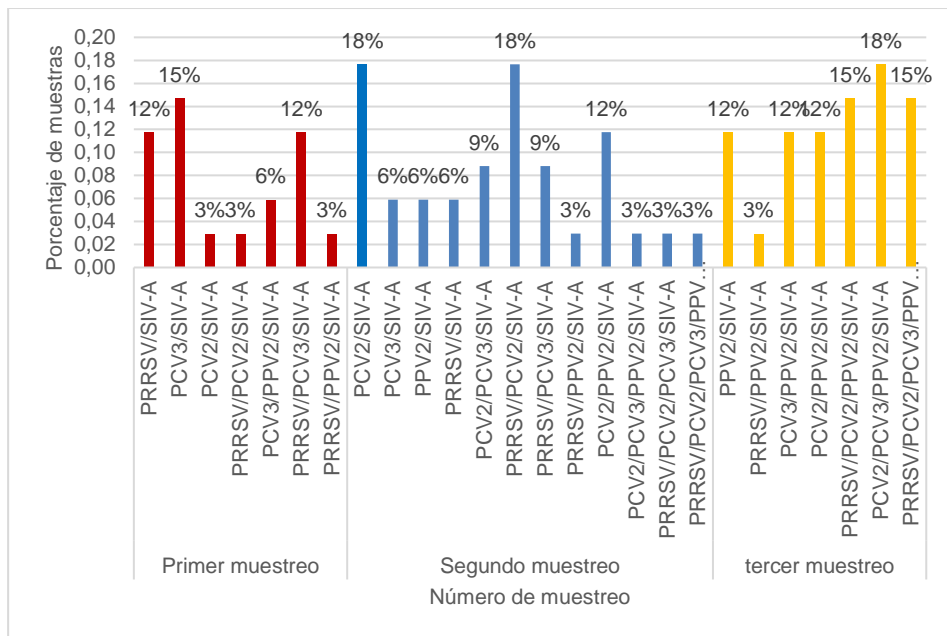


Figura 11. Porcentaje de muestras positivas a las copresencias de agentes virales para cada muestreo en la G2.

En el primer muestreo solo se encontraron copresencias dobles, principalmente PRRSV/SIV-A y PCV3/SIV-A, y triples PRRSV/PCV3/SIV-A, mientras que en el segundo muestreo se obtuvieron copresencias dobles (PV2/SIV-A), triples (PRRSV/PCV2/SIV-A), cuádruples (PRRSV/PCV2/PCV3/SIV-A y PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A) y quíntuple (PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A) (coincidiendo con el mayor número de muestras positivas a PRRSV) y para el tercer muestreo predominaron las copresencias triples, cuádruples y nuevamente se obtuvo una quíntuple.

Como se mencionó previamente, a medida que aumenta el tipo de copresencias en cada muestreo, así mismo disminuye la cantidad de muestras positivas debido a su distribución, sin embargo, se puede analizar que las copresencias de 4 o 5 virus son más comunes en la primera y última etapa productiva. Otro aspecto importante por destacar es que los tipos de muestras que presentaron mayor cantidad de positividad en las dos granjas, a lo largo de todas las visitas y etapas productivas fueron los sueros y los fluidos orales (Tabla 7). Es importante destacar que a pesar de que la G2 es positiva a un agente viral primario del CRP como el PRRSV, en dos de los tres muestreos el SIV-A se encontró solo, principalmente en muestras ambientales, pero también en suero. También, se denota que este es el único virus que está presente en todas las copresencias halladas,

correspondiente con su carácter endémico. Por otro lado, el otro virus que se encontró solo fue el PPV2 en el tercer muestreo, exclusivamente en muestras ambientales (Tabla 7).

Para el caso particular de los sueros, para el primer muestreo la coinfección de PRRSV/SIV-A estuvo presente desde el predestete hasta a ceba y cesó en la finalización, por su parte la monoinfección con SIV-A estuvo presente en todas las etapas productivas, inclusive en la finalización. En el segundo muestreo, los tipos de coinfecciones hallados variaron de acuerdo con las etapas productivas y se distribuyeron dentro de las mismas muestras, así en el predestete los cerdos presentaron coinfecciones con (PRRSV/PCV3/SIV-A, PRRSV/SIV-A y PCV2/PCV3/SIV-A), para la preceba fueron PCV3/SIV-A, PCV2/PCV3/SIV-A y PRRSV/PCV2/PCV3/SIV-A, para la ceba fueron PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A, PRRSV/PPV2/SIV-A y PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A; mientras que para finalización la más común fue PPV2/SIV-A seguida por PCV2/PPV2/SIV-A. En el caso del tercer muestreo las coinfecciones en el predestete fueron PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A; PCV3/PPV2/SIV-A y PCV2/PPV2/SIV-A; en la preceba PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A y PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A; en la ceba fueron PRRSV/PPV2/SIV-A, PCV3/PPV2/SIV-A y PCV2/PPV2/SIV-A; y en la finalización PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A, PCV3/PPV2/SIV-A y PPV2/SIV-A. Estos resultados ponen de manifiesto (y se relacionan con la Figura 9) que a medida que aumentó la presencia de PPV2 en las granjas también aumentó su presencia en las coinfecciones detectadas.

Tabla 5. Distribución del número de muestras positivas a diferentes copresencias de acuerdo con el tipo de muestra evaluada en la G2.

Muestreo	Etapa	PreDestete <21 días (10n)				PreCeba (8n)				Ceba (8n)				Finalización (8n)				Total
	Tipo de Copresencia	APP ¹	AGM	SPD	FOPD	PCC	PCJ	FOPC	SPC	CC	CJ	FOC	SC	FC	FJ	FOF	SF	
Primero	PRRSV/PCV3/SIV-A	2			1							1						4
	PRRSV/SIV-A			1		1			1				1					4
	PRRSV/PCV2/SIV-A							1										1
	PCV3/SIV-A				2							1	2					5
	PCV3/PPV2/SIV-A															2		2
	PCV2/SIV-A							1										1
	SIV-A		2	2			1	1	2	1				2	1	1		3
PRRSV/PPV2/SIV-A																1		1
Segundo	PRRSV/PCV2/SIV-A	1			1					1		2				1		6
	PRRSV/PCV3/SIV-A		1	1														2
	SIV-A	1	1		1			1						1				5
	PCV2/SIV-A				1	1	1	1				1			1			6
	PCV3/SIV-A								1		1				1			3
	PPV2/SIV-A															2		2
	PRRSV/SIV-A			1				1										2
	PCV2/PCV3/SIV-A			1					1							1		3
	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A												1					1
	PRRSV/PPV2/SIV-A												1					1
	PCV2/PPV2/SIV-A															1		1
	PRRSV/PCV2/PCV3/SIV-A									1								1
	PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A												1					1
Tercero	PRRSV/PCV2/PPV2/SIV-A	2			2										1			5
	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A		1	1				2	2						2	1		9
	PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A		1		1	1		1	1									5
	PRRSV/PPV2/SIV-A											1						1
	PCV3/PPV2/SIV-A			1								1				1		3
	PCV2/PPV2/SIV-A			1								1						2
	PPV2						1			1	1			1	1			5
PPV2/SIV-A												3				1	4	
TOTAL		6	6	9	9	3	3	9	9	3	3	9	9	3	3	9	9	102

*APP: Ambiental piso de paridera. AGM: ambiental glándula mamaria. SPD: suero predestete. FOPD: fluido oral predestete. PCC: preceba comedero. PCJ: preceba juguete. FOPC: fluido oral preceba. SPC: suero preceba. CC: ceba comedero. CJ: ceba juguete. FOC: fluido oral ceba. SC: suero ceba. FC: finalización comedero. FJ: finalización juguete. FOF: fluido oral finalización. SF: suero finalización. Los colores muestran la diferencia que existe entre el número de muestras positivas a cada copresencia de acuerdo con el tipo de muestra y la etapa, así, cuanto más verde sea mayor número de muestras positivas hay.

Las copresencias fueron las que se detectaron principalmente durante el estudio, no obstante, existieron virus que se encontraron solos en algunas muestras. Para la G1 del total de muestras tomadas durante los tres muestreos (102), para el segundo el 59% (60 / 102) fueron positivas únicamente a SIV-A y ese número se redujo a 26% (27 / 102) en el tercer muestreo. Por su parte, en la G2 (positiva a PRRSV) el SIV-A fue positivo en monopresencia en el 46% (47 / 102) de las muestras del primer muestreo, pero disminuyó al 6% (6 / 102) para el segundo, mientras que en el tercero solamente se encontró en monopresencia el PPV2 en el 15% (15 / 102) (Figura 12).

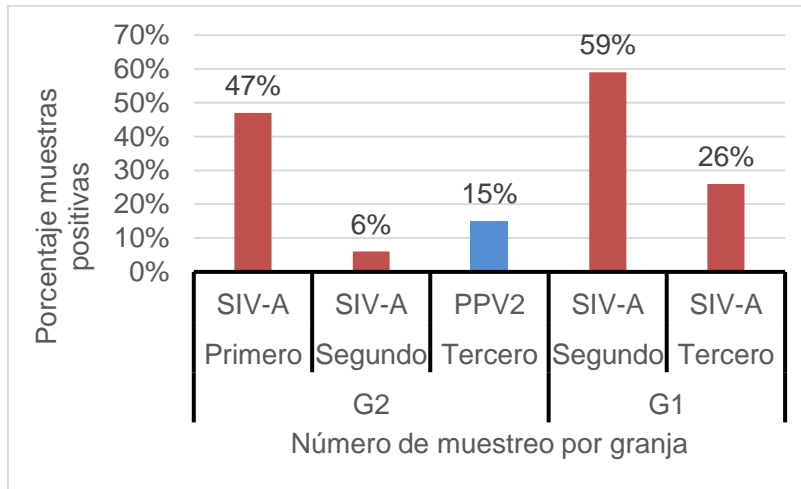


Figura 12. Porcentaje de muestra positivas a un único virus durante los tres muestreos en las dos granjas.

- **Análisis de datos de las dos granjas en conjunto**

- **Cargas virales.**

La tabla 4 muestra los valores de Cycle Threshold (CT) promedio encontrados para cada uno de los agentes virales evaluados mediante qPCR que fueron positivas en cada muestreo, teniendo como punto de corte de positividad para todos un $CT \leq 37$. Como puede notarse, el promedio de CT de las muestras evaluadas a lo largo del estudio está cerca de este valor, indicando cargas virales bajas, lo que impidió tener muestras con concentraciones de ADN suficiente para ser secuenciadas. Así, solamente se obtuvieron dos secuencias de PPV2 (en la G1 en las etapas de ceba y finalización en el primer muestreo). En las dos granjas, las mayores cargas virales durante los tres muestreos correspondieron a PPV2 y estos variaron de acuerdo con el muestreo; así, en G1 las mayores cargas virales se encontraron en el primer muestreo (CT= 29.47) y fueron disminuyendo entre el segundo (CT= 31.67) y tercero (CT= 33.83). Por su parte, en la G2 en el primer muestreo fue de (CT= 31.33), en el segundo (CT= 30.67) y en el tercero (CT= 26.24).

Tabla 6. Promedio de CT encontrado para cada agente durante cada muestreo y por cada granja.

Muestreo	PRRSV CT		PCV2 CT		PCV3 CT		PPV2 CT	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
G2								
Uno	35.71	0.13	36.00	0.50	34.27	0.45	31.33	2.07
Dos	37.00	-	35.13	0.32	36.44	0.55	30.67	1.45
Tres	37.00	-	33.69	0.48	36.09	0.42	26.24	0.71
G1								
Uno	-	-	35.37	0.25	34.82	0.49	29.47	0.67
Dos	-	-	-	-	32.39	0.88	31.67	0.52
Tres	-	-	35.81	0.44	33.79	0.95	33.83	0.54

2.4.3 Análisis de correlaciones entre las variables.

- **Correlación inicial de variables climáticas y presencia de virus.**

El primer análisis de los datos meteorológicos de las granjas fue realizado utilizando datos de hasta cuatro semanas previas a las fechas de los muestreos. A partir de allí, se realizaron análisis de correlación entre la presencia de los agentes virales y el promedio de cada valor climatológico para poder explicar en hasta qué días previos a los muestreos, los datos climatológicos guardaban relación con la presencia de los virus. Así, se pudo determinar que los datos de los 5 y 10 días (d5 y d10, respectivamente) previos al muestreo estuvieron fuertemente relacionados con la presencia de los virus en granjas tecnificadas del trópico alto colombiano (Figura 13). El gráfico de calor muestra cómo se relacionaron los promedios de cada característica climatológica con la presencia, en general, de los agentes virales en las dos granjas tecnificadas del trópico alto colombiano, cuanto más rojo sea mayor correlación positiva guardan las variables. A partir de este análisis se determinó que, al no existir diferencias estadísticamente significativas entre los días 5 y 10, se decidió trabajar los análisis posteriores con los datos promedio de los 10 días previos a los muestreos debido a su posible mayor influencia en el desarrollo de la infección viral.

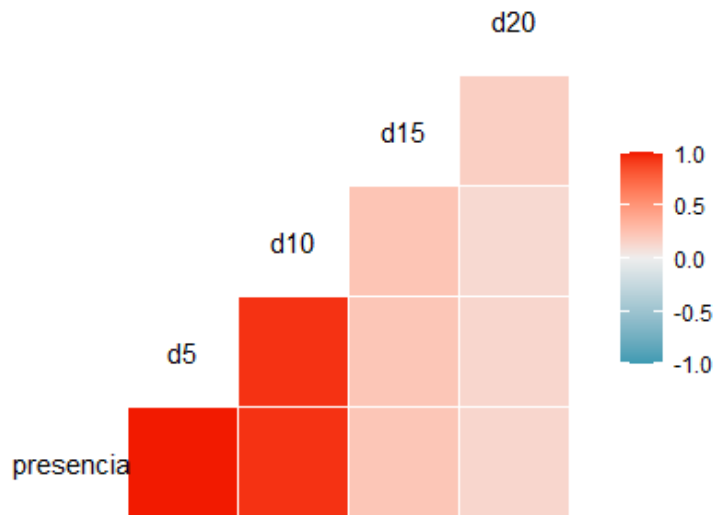


Figura 13. Mapa de calor indicando la correlación entre los promedios de los datos climatológicos días previos a las fechas de los muestreos, con la presencia de los agentes virales evaluados.

▪ **Correlación entre todas las variables por granja.**

Por otro lado, el primer análisis de las correlaciones entre las diferentes variables (climáticas, productivas y presencia de agentes virales) se muestra en la Figura 14. Allí se aprecia la distribución de las variables y permite identificar cómo se correlacionaron, para ello es necesario analizar la direccionalidad de la flecha y su magnitud (hacia la derecha es la G1, hacia la izquierda la G2 y cuanto más larga sea la flecha mayor correlación guarda con las demás variables). La direccionalidad de las variables representadas muestra las dos granjas completamente distintas, influenciadas cada una con un grupo de variables. Como puede evidenciarse, la G1 estuvo principalmente influenciada por las variables climáticas (Tmed, Tmin y Tmax) las cuales estuvieron correlacionadas fuertemente con la CA y la GDP. Así mismo, el agente viral más importante en esta granja fue el SIV-A, este último afecta estadísticamente las etapas de predestete y preceba, junto con la GDP, lo cual indicaría que las variables climáticas influyen en el comportamiento de SIV-A y que este afecta la GDP de los animales principalmente en las primeras etapas del ciclo productivo.

Por su parte, la G2 presentó correlaciones distintas a G1. Allí se encontró que los virus como PRRSV y PCV2, estuvieron principalmente asociados con las fases de la preceba y predestete. Esto podría indicar la influencia de un agente como PRRSV en la manifestación de PCV2 y, tal vez, PCV3. Se aprecia, además, una correlación negativa entre el PPRV2 y el PCV3 (la direccionalidad de las flechas entre ambos virus es contraria), lo cual podría indicar que la presencia de uno de ellos afecta negativamente al otro. Debido a que algunas variables climáticas no tuvieron direccionalidad hacia la G2 (temperaturas y Hrel) es probable pensar que estos virus no estuvieron influenciados por estas variables o que, en el caso del presente estudio, influyeron más sobre el SIV-A, pero que sí influyó la precipitación total mensual.

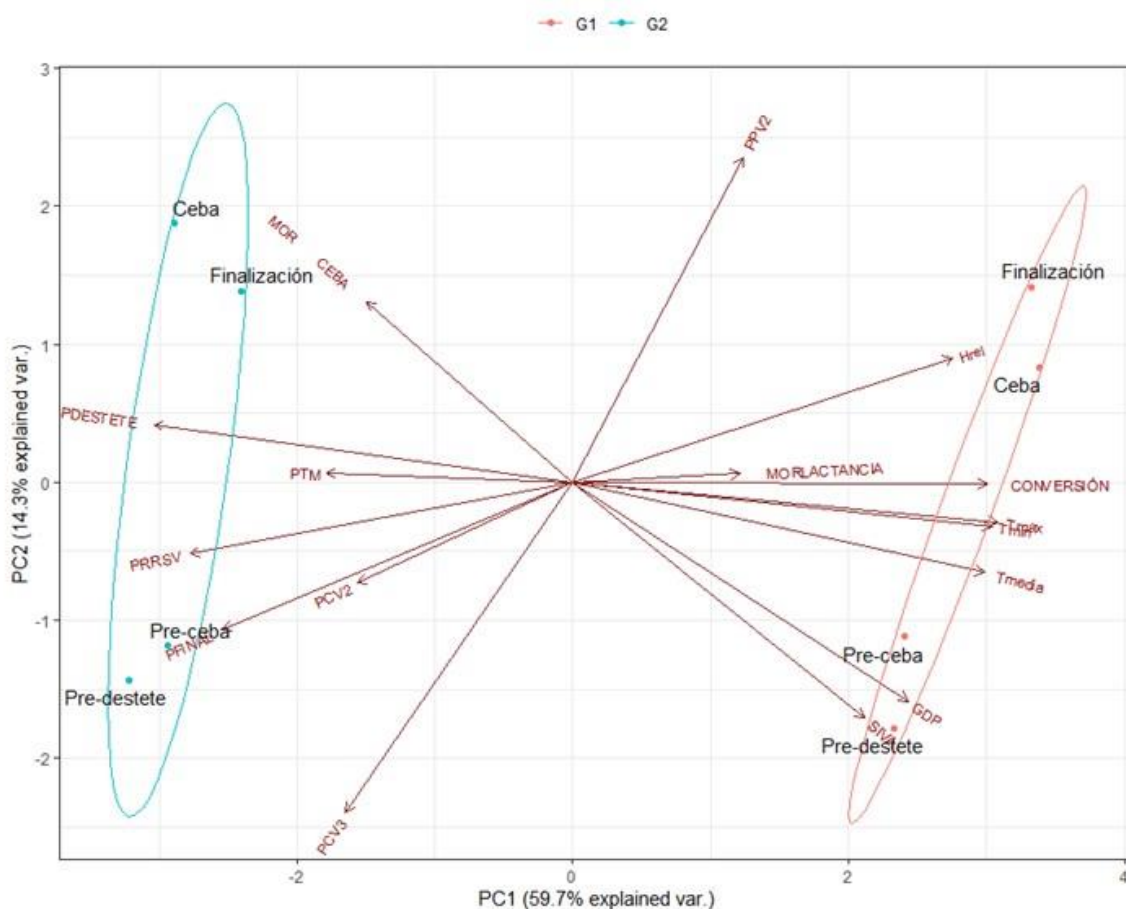


Figura 14. Análisis de correlación entre variables las climáticas y productivas con la presencia de agentes virales encontrados en cada una de las granjas estudiadas.

▪ **Correlación entre variables en conjunto para las dos granjas.**

Luego, se realizó un análisis de correlación en conjunto para las dos granjas analizando todas las variables (virus, variables productivas y climáticas). Así, se encontró que agentes como SIV-A y PRRSV, debido a las diferencias encontradas en sus dinámicas entre las dos granjas, no estaban correlacionados con las variables evaluadas. Además, el PCV2 muestra una pequeña correlación linear con las variables, sin embargo, debido a que estas no son cercanas siquiera a 0.1 no se evidencia coloración (Figura 15).

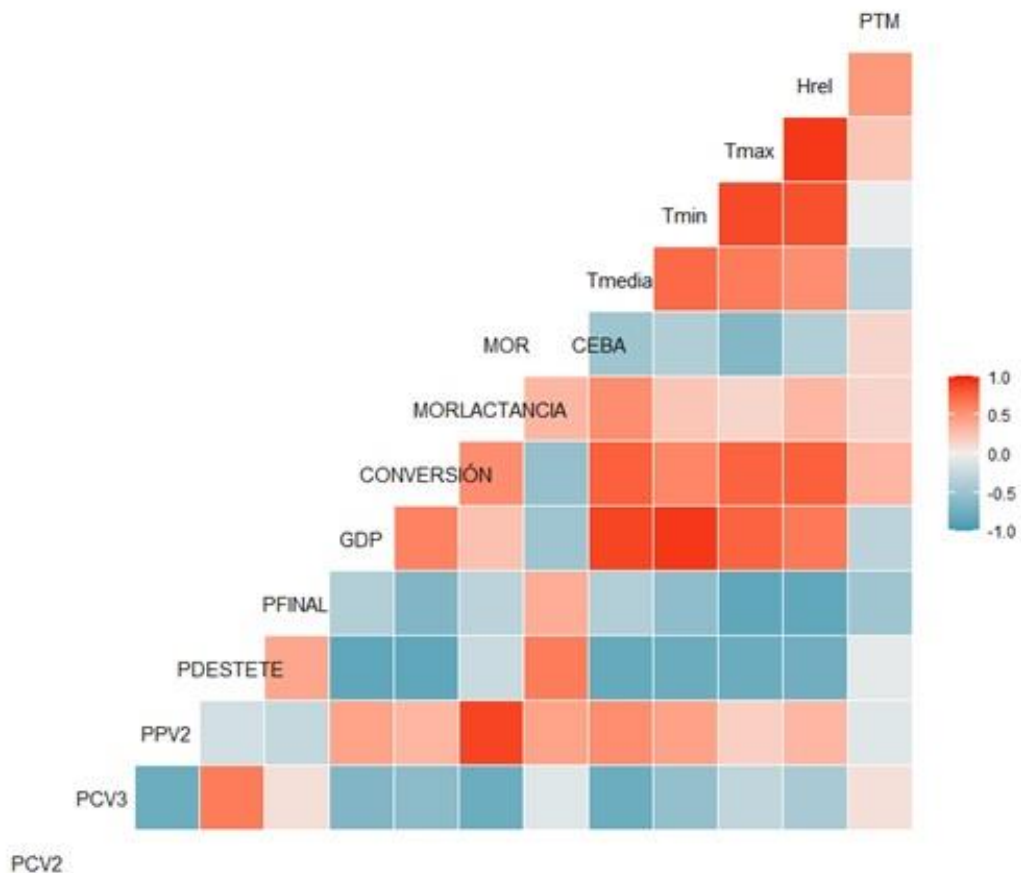


Figura 15. Mapa de calor indicando la correlación entre todas las variables analizadas (agentes virales, datos productivos y climatológicos) en las dos granjas.

La presencia de PCV3 se correlacionó negativamente en diferentes grados con múltiples variables, así, la presencia del agente estuvo relacionada negativamente con la presencia del PPV2 lo cual podría indicar que ambos agentes son antagonistas (corroborado por la Figura 14 y previamente ilustrado en los análisis descriptivos). Por otro lado, es interesante

notar que la presencia del PCV3 influyó negativamente sobre la GDP, sin embargo, disminuyó el valor de la conversión alimenticia y eso podría relacionarse con las relaciones directas y positivas encontradas con el peso al destete y el peso final. Estadísticamente, PCV3 mostró una correlación negativa con las mortalidades analizadas, es decir, el virus no las aumentó. Por último, la disminución de la temperatura y el aumento de la precipitación total mensual, estuvieron relacionadas estadísticamente con un aumento en la presencia de PCV3 en ambas granjas.

Por su parte, con respecto al PPV2 se determinaron correlaciones diferentes a las encontradas al PCV3, lo cual es de esperarse debido a la correlación negativa que existe entre ambos virus. El PPV2 disminuyó los pesos al destete y el peso final lo cual está relacionado con un aumento en los valores de la conversión alimenticia. Con respecto a las variables climáticas, se encontró un comportamiento diferente con respecto al PCV3, encontrándose que el incremento de la temperatura y la disminución en la precipitación mensual total aumentaron la presencia de PPV2 en las dos granjas.

El peso al destete influyó de forma positiva en el peso en la finalización y contó con una relación negativa con a GDP lo cual indicaría que, a pesar de que el peso al destete sea bajo, las ganancias diarias de peso después son suficientes para lograr los índices de peso deseados al final del ciclo productivo, esto está correlacionado con la conversión alimenticia encontrada. Con respecto a las mortalidades, se denotó que a menor peso al destete aumentó la mortalidad en la lactancia, sin embargo, hubo una correlación positiva entre los pesos con la mortalidad en la ceba.

Las variables climáticas mostraron correlaciones negativas con respecto a los pesos, eso significa que el aumento de la temperatura disminuyó el peso al destete y el peso en la ceba. Sin embargo, mostraron correlaciones positivas con la ganancia de peso y la conversión alimenticia. Las mortalidades mostraron comportamientos diferentes entre sí. Para la mortalidad en la lactancia, cuanto mayor sea la temperatura, la humedad y la precipitación esta fue mayor. Sin embargo, con respecto a la mortalidad en la ceba, esta aumentó cuando la temperatura y la humedad disminuyeron o cuando la precipitación mensual total aumentó. Estas correlaciones podrían explicar en parte el comportamiento dinámico de los virus, pero ponen de manifiesto que deben existir otros factores que deben tenerse en cuenta como influenciadores de cambios en el desempeño productivo de la granja.

▪ **Correlaciones entre agentes virales y etapas productivas.**

La Figura 16 muestra la correlación entre la presencia de los agentes virales con las etapas productivas analizadas en las dos granjas, cuanto más cercanos se encuentren las variables mayor correlación guardan entre sí. Se denota una distribución de las variables entre los cuatro cuadrantes, sin embargo, se evidenció que las fases de ceba y predestete estuvieron fuertemente influenciadas por un grupo de virus como el SIV-A, PRRSV y PCV3. Además, la ceba también estuvo influenciada fuertemente por el PPV2 (y también la preceba, aunque en menor proporción) y, poco por el PCV2 (como se mostró en la Figura 14, estuvo principalmente asociado a las fases inferiores del ciclo productivo). Estos datos corroboran los resultados obtenidos en la estadística descriptiva por cuanto las etapas con mayor afectación y número de muestras positivas correspondieron al predestete y a la ceba.

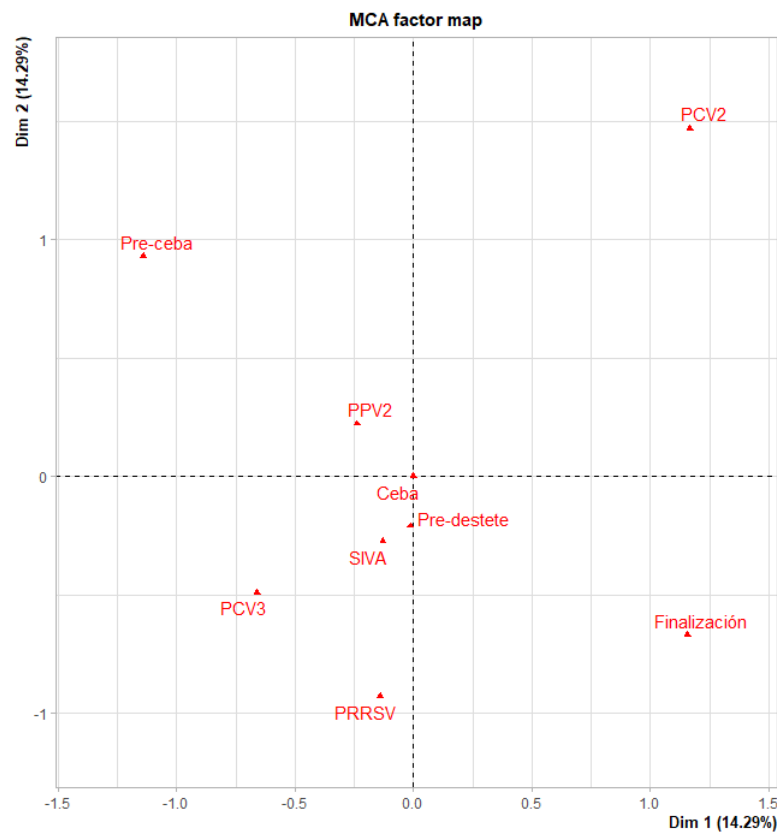


Figura 16. Correlación entre las etapas productivas evaluadas en las dos granjas y la presencia de los virus estudiados.

- **Correlación entre agentes virales/etapa productiva/muestreo en las dos granjas.**

Con el fin de determinar las dinámicas de correlación entre las variables evaluadas se proyectaron múltiples gráficos aluviales. La Figura 17 muestra un compendio general de las dos granjas en donde se aprecian comportamientos diferentes entre los diferentes tipos de virus de acuerdo con la etapa productiva y la fecha del muestreo. El grosor de las líneas que fluyen entre los parámetros evaluados (muestreo / virus / etapa productiva) indica el número de muestras positivas.

Como puede apreciarse SIV-A estuvo distribuido de manera similar entre los tres muestreos y entre las etapas productivas evaluadas en las dos granjas (Figura 18). Por su parte, para PRRSV como solo estuvo presente en una granja, el grosor es menor, sin embargo, se encontró principalmente en el segundo muestreo (Figura 19) y en las etapas de preceba, predestete y ceba, pero menos en la finalización (Figura 18).

De forma interesante, PPV2 fue detectado principalmente en el primer y tercer muestreo y en las etapas de ceba y finalización en contraste con las de predestete y preceba de forma consistente en las dos granjas, el grosor de la línea evidencia que fue el virus más frecuente, comparando con PCV2 y PCV3. Como se ha notado, la presencia del PCV3 guardó una relación negativa con el PPV2, así, PCV3 estuvo menos presente en el primer y segundo muestreo y en las etapas de ceba y finalización que fue cuando el PPV2 estuvo más presente. El PCV2 fue detectado principalmente durante la preceba y la finalización y durante el tercer muestreo. Por último, las dos granjas mostraron que en el tercer muestreo existió una mayor cantidad de muestras positivas a todos los virus evaluados corroborando los resultados previos de la estadística descriptiva.

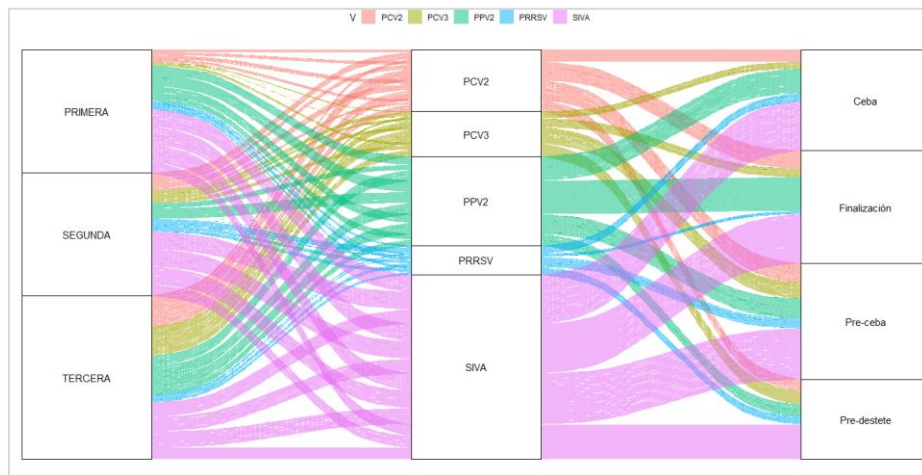


Figura 17. Gráfico aluvial donde se muestra la dinámica de muestras positivas a los diferentes virus de acuerdo con el muestreo y la etapa productiva evaluada en las dos granjas.

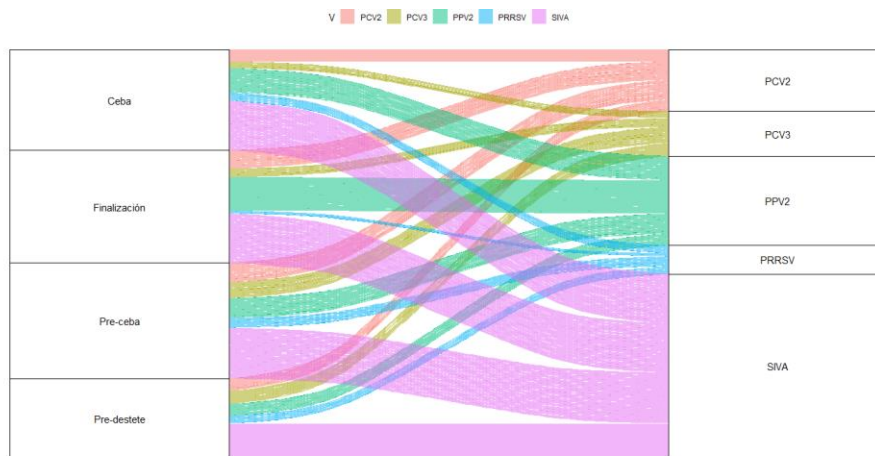


Figura 18. Gráfico aluvial que muestra la dinámica de detección de virus de acuerdo con la etapa productiva en las dos granjas.

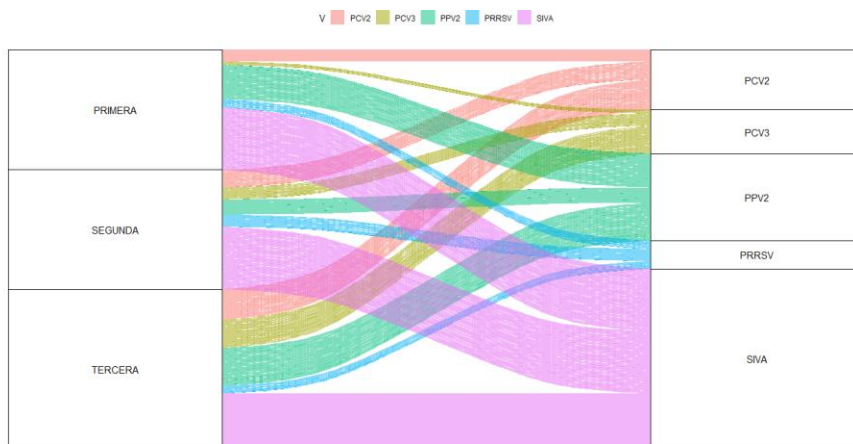


Figura 19. Gráfico aluvial que muestra las dinámicas de detección de agentes virales de acuerdo con cada muestreo en las dos granjas.

- **Correlación entre agentes virales/etapa productiva/visita por cada granja**

Para realizar un análisis más detallado de los comportamientos por cada una de las granjas, la Figura 17 fue desglosada para mostrar datos individuales por granja. Las dinámicas para la G1 están contenidas en las Figuras 20, 21 y 22. La Figura 20 muestra las dinámicas de positividad de los virus de acuerdo con la etapa productiva y el número de muestreo, por su parte, la Figura 21 muestra las dinámicas de los virus de acuerdo con el muestreo y la Figura 22 las dinámicas de acuerdo con la etapa productiva. Se muestra la distribución de SIV-A de forma constante durante los tres muestreos (Figura 21) y a lo largo de todo el ciclo productivo (Figura 22). La dinámica de los otros virus fue diferente (el grosor de la línea indicando mayor número de muestras positivas) así, el PPV2 fue encontrado principalmente en el primer muestreo (Figura 21) y durante la ceba y la finalización (Figura 22) concordando con los resultados antagónicos frente al PCV3 (Figura 14). Mientras que, para el PCV2 su detección se dio principalmente en el primer y tercer muestreo (Figura 21) y en el predestete y la preceba (Figura 22).

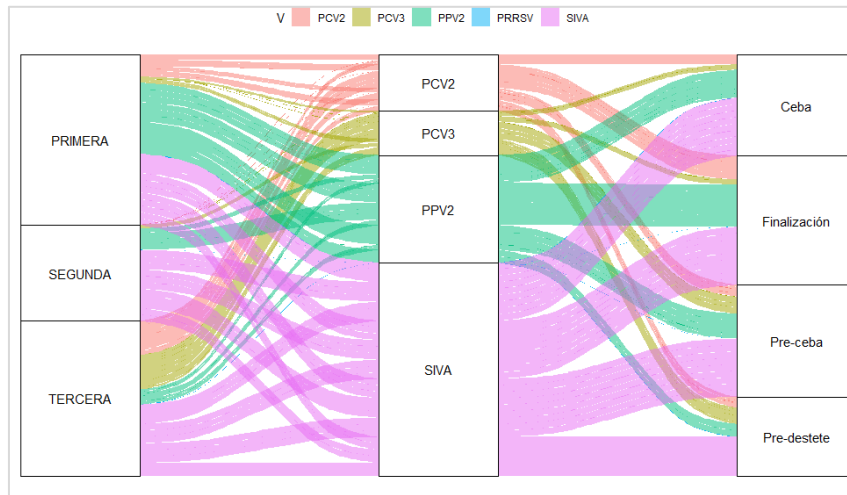


Figura 20. Gráfico aluvial que muestra las dinámicas de distribución de muestras positivas para cada virus de acuerdo con el muestreo y la etapa productiva en la granja 1 (G1).

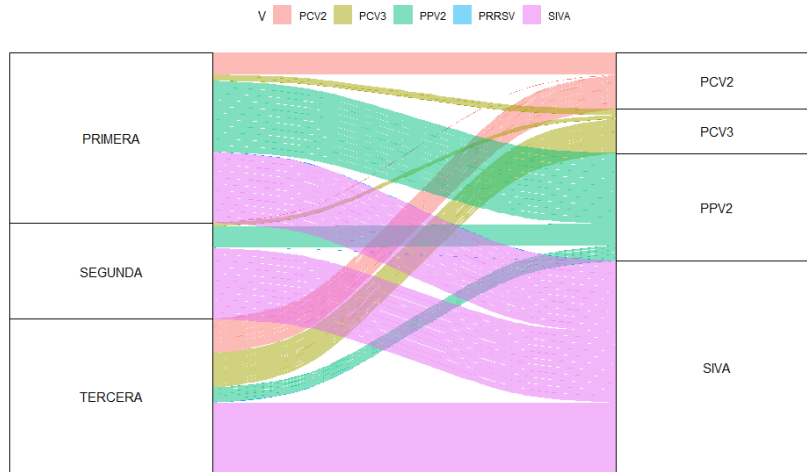


Figura 21. Gráfico aluvial que muestra la dinámica de distribución de muestras positivas de acuerdo con el muestreo en la G1.

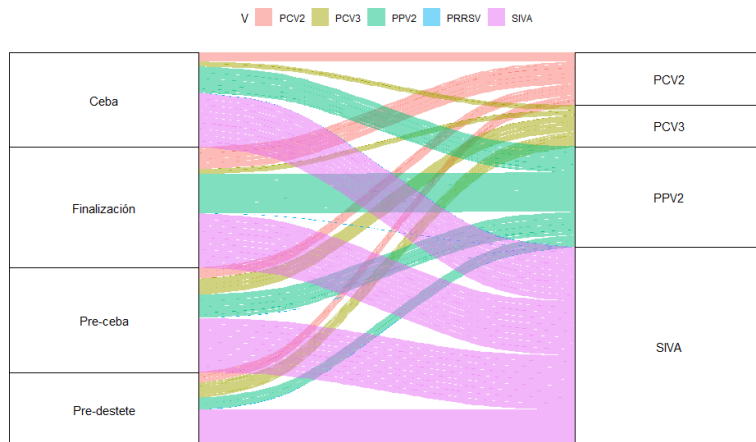


Figura 22. Gráfico aluvial que muestra la dinámica de la distribución de muestras positivas de acuerdo con la etapa productiva en la G1.

La Figura 23 muestra el gráfico aluvial que permite identificar las dinámicas de los agentes virales evaluados de acuerdo con el número de muestro y la etapa productiva para G2, mientras que las Figuras 24 y 25 muestran las dinámicas encontradas de acuerdo con el muestreo y con la etapa productiva, respectivamente. Las dinámicas encontradas para la G2 mostraron un comportamiento similar a la G1 para el SIV-A y el PPV2, no obstante, la presencia de PRRSV, a pesar de ser constante durante los 3 muestreos, difirió entre las etapas productivas, demostrando una mayor presencia en la preceba, el predestete y la ceba (Figura 25), pero no tanto en la finalización. Por su parte el PCV3 mostró una distribución mayor en la preceba junto con el PCV2 y PRRSV (Figura 25).

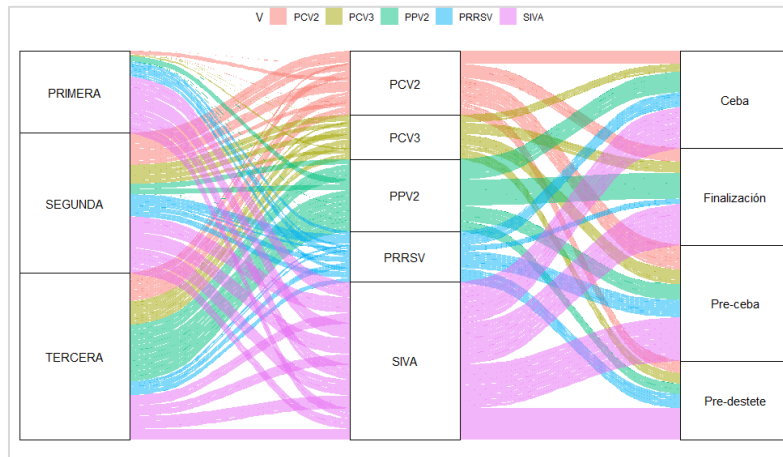


Figura 23. Gráfico aluvial que muestra la distribución de muestras positivas a cada agente de acuerdo con el muestreo y la etapa productiva en la G2.

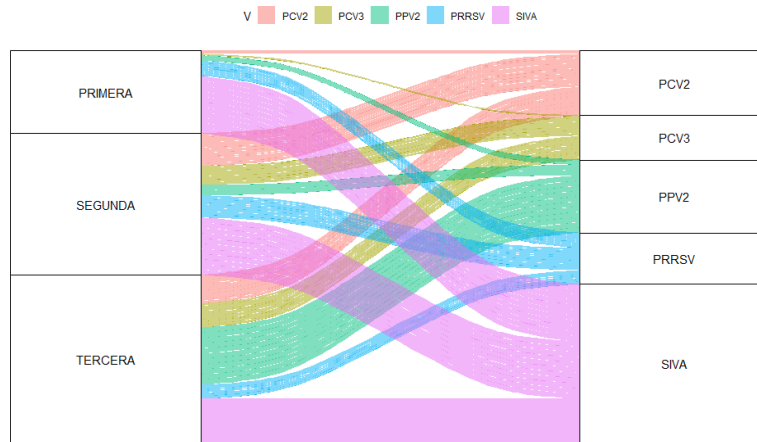


Figura 24. Gráfico aluvial que muestra la distribución del número de muestras positivas a cada agente de acuerdo con el muestreo en la G2.

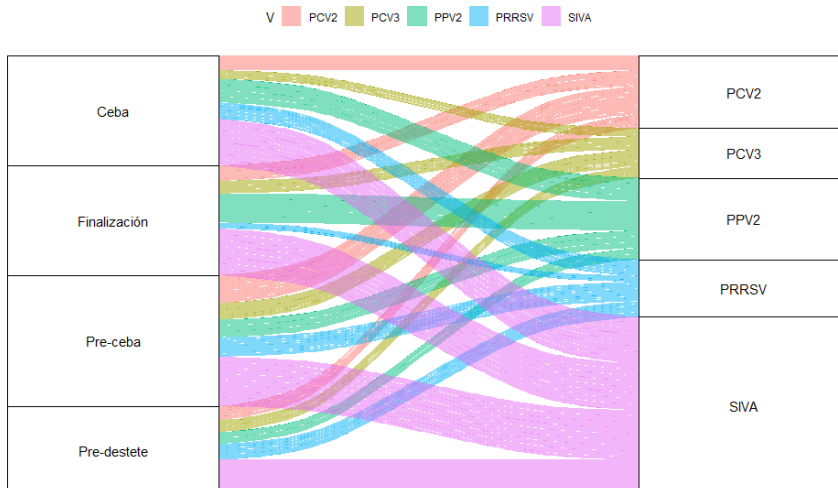


Figura 25. Gráfico aluvial que muestra la distribución del número de muestras positivas a cada agente de acuerdo con la etapa productiva en la G2

▪ Análisis filogenético

Se hizo secuenciación de dos cepas de PPV2 provenientes de G1 demuestras de suero (ceba y finalización); estas fueron denominadas PPV2-VP2/Col/Cundinamarca/SCC/2023 y PPV2-VP2/Col/Cundinamarca/SCF/2023 y por qPCR presentaron CT de 26.3 y 26, respectivamente. Para el análisis filogenético se emplearon las secuencias completas del gen que codifica para la proteína VP2 y estas fueron comparadas con 90 secuencias reportadas en el GenBank. El árbol filogenético mostró una división clara del PPV2 en dos clados que se evidencian en la Figura 26 por diferencias entre los colores, así, el color azul corresponde al clado 2, dominado principalmente por muestras provenientes de Europa. Por otro lado, en color verde se encuentran las secuencias del clado 1, en donde se ubican secuencias colombianas detectadas en estudios previos y depositadas en el GenBank. En este mismo clado, se ubicaron las encontradas en el presente estudio (PPV2-VP2/Col/Cundinamarca/SCC/2023 y PPV2-VP2/Col/Cundinamarca/SCF/2023). Es importante destacar que estas dos secuencias se encuentran estrechamente relacionadas con secuencias de genoma completo previamente reportadas por el grupo de investigación, pero están ubicadas en una rama diferente a las demás secuencias colombianas de los departamentos de Antioquia y Cundinamarca.

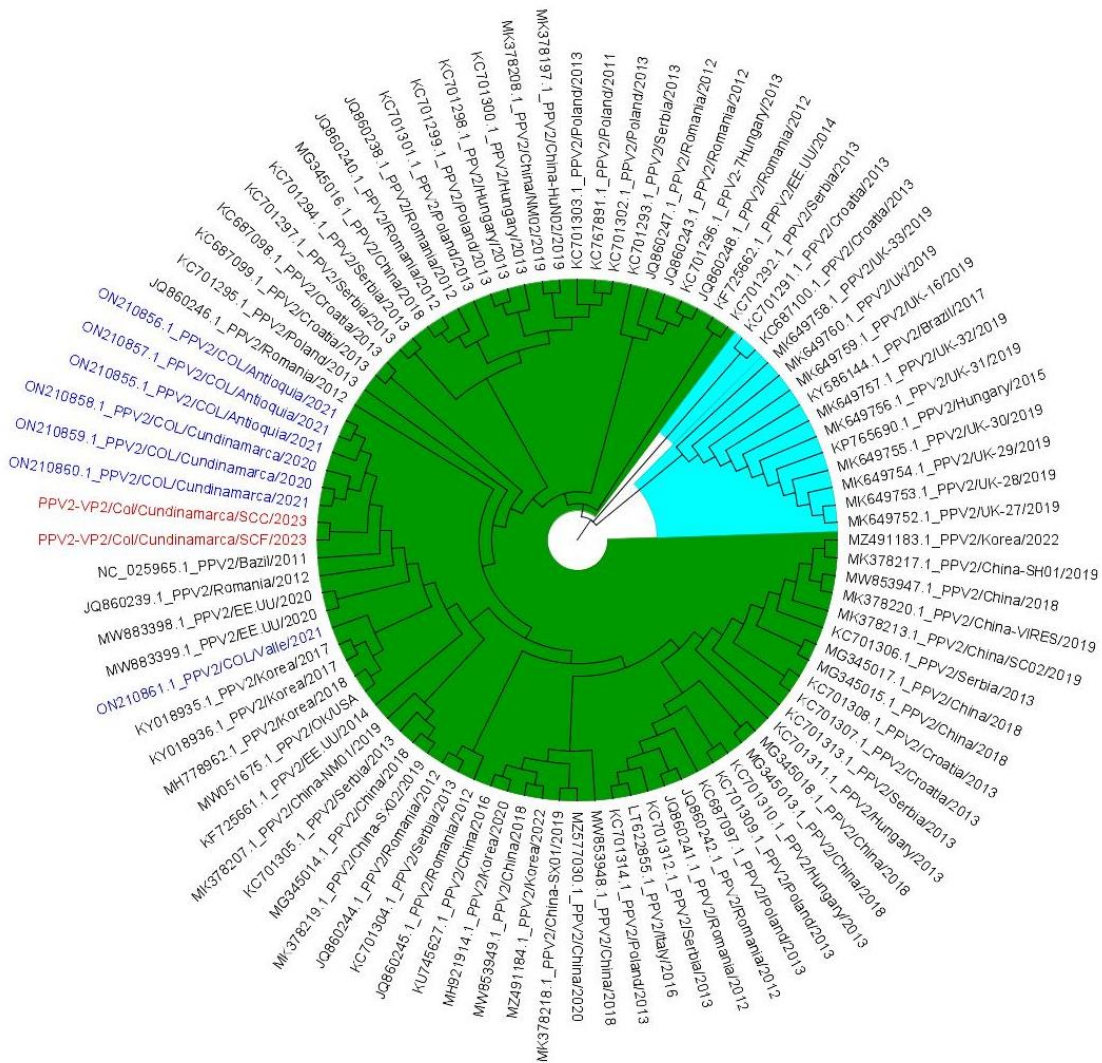


Figura 26. Árbol filogenético donde se ubican dos secuencias de PPV2-VP2 encontradas en el presente estudio (color rojo) y comparadas con 90 secuencias de todo el mundo y reportadas en el GenBank incluyendo siete secuencias de Colombia reportadas previamente. El árbol fue construido en el programa MEGA7 utilizando el método estadístico “Maximun Likelihood”, con el método de filogenia de “Bootstrap” con 1000 réplicas, utilizando el método de inferencia Tamura-3, con el análisis “Gamma Distributed With Invariant Sites (G+I)”. El árbol fue luego modificado en sus colores y forma en el programa FigTree versión 1.4.4. la escala del árbol fue calculada en 0.01.

2.5 Discusión

Los agentes virales buscados en el presente estudio han sido analizados en múltiples ocasiones por diversos grupos de investigación del país con el fin de conocer sus

dinámicas al interior de las granjas, sin embargo, este es el primer estudio donde se evalúan tantos virus y con tanta diversidad de muestras; principalmente de tipo ambiental, cubriendo todo el ciclo productivo en granjas tecnificadas y teniendo en cuenta particularidades climáticas y geográficas propias del trópico alto.

Estudios previos realizados para la detección de PRRSV en el país han abarcado principalmente su detección serológica, así, (Cruz et al., 2006) determinaron en animales destinados al sacrificio para consumo humano que la prevalencia promedio de PRRSV en 14 departamentos evaluados fue del 4.3%, los autores hacen hincapié en la disminución de la prevalencia comparado con un reporte previo de (Árbelaez et al., 1997 citado por Cruz et al., 2006) en donde se calculó en un 5.2% para 17 departamentos, con una mayor tasa en aquellos departamentos de frontera con Venezuela (llegando a tener prevalencias cercanas al 24%), relacionándolo principalmente por la alta tasa de movilidad de los animales debido al contrabando en la zona de frontera (Cruz et al., 2006). Sin embargo, un análisis serológico y molecular más reciente realizado en el país (Mendoza Niño, 2015), detectó específicamente para granjas del departamento del Valle del Cauca, uno de los principales productores de cerdos en el país y con características climáticas diferentes (altitud inferior a 1000 msnm), una prevalencia general del 21.43%, principalmente en la etapa de ceba. La autora encontró, además, que estos resultados varían de acuerdo con la etapa productiva evaluada y con la fecha de la toma de la muestra, los factores asociados a este comportamiento que determinaron los investigadores fueron la movilización de animales entre sitios (maternidad, preceba y ceba) y la capacidad de seroconversión de los animales debido a que se encontraron diferencias entre resultados positivos a ELISA y a qRT-PCR para cerdos en las diferentes etapas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que para PRRSV, el porcentaje de positividad al interior de una granja seropositiva y no vacunada llegó hasta un 41% y que varió a lo largo del tiempo. Esto presenta concordancia con los resultados de Mendoza-Niño, además, la etapa en la cual el virus se detectó de forma más común fue en la preceba hasta la ceba; otros estudios han caracterizado a estas etapas como el momento en el cual PRRSV circula en mayor proporción asociado principalmente a la disminución de la protección maternal derivada del calostro a partir de la semana 8 de vida (López-Soria et al., 2010; Papatsiros et al., 2022)

Nuestro estudio muestra la presencia de genoma de PRRSV en sueros indicando estados de viremia en las diferentes etapas productivas de acuerdo con el mes del muestreo (Tabla 8) detectándose desde el predestete hasta la ceba y que las muestras más comunes para encontrarlo fueron FO y ambientales. Su presencia en este tipo de muestras podría indicar la recirculación viral del agente y su constante diseminación al interior de la piara. Esto a su vez, podría estar relacionado con incorrectas medidas de manejo y bioseguridad como el ingreso compartido a múltiples sitios de la granja, el uso compartido de equipos y utensilios, así como la movilización de cerdos al interior de la granja. También se puede asociar con la presencia y cantidad de agentes virales presentes simultáneamente en una misma granja, tal como se encontró a lo largo de todas las etapas productivas en la G2 (Ramírez et al., 2012).

Además, otros estudios han determinado que la diseminación del PRRSV dentro de las granjas se da bajo dos diferentes patrones: el primero en el cual el 90 % de los lechones destetados se infectan hacia las 8.5 semanas de edad y el segundo donde, entre el 20 - 40%, son infectados entre las 10 - 12 semanas de edad (Evans et al., 2008). Por otra parte, en un estudio en Países Bajos en 10 granjas, se encontró que los grupos con edades entre 9 a 16 semanas presentaron mayor probabilidad de infección, indicando que estos grupos son los más adecuados para la detección de la circulación de PRRSV a través de RT-PCR y no únicamente por serología (Duijnhof et al., 2011). Esa predisposición por edad, también puede estar asociada con el hecho de que los macrófagos alveolares de los cerdos jóvenes son, al parecer, más susceptibles a la infección que los de los cerdos adultos; esto podría explicar por qué en este estudio en la G2 encontramos una mayor distribución de muestras positivas en las etapas de predestete y preceba comparada con las etapas de ceba y finalización (Espinoza & Velásquez, 2021; Kvisgaard et al., 2017; Stadejek et al., 2017). Un resultado adicional es que, en las granjas, la presencia de un agente primario del CRP como lo es PRRSV, está relacionado con una diversificación en el número de copresencias de múltiples agentes virales, tal como lo demuestra la diferencia entre las granjas en este estudio (Figura 10 y 11).

A pesar de que en este estudio no se obtuvieron secuencias para PRRSV, los estudios previos del país muestran la circulación de cepas americanas, dentro de las cuales podría esperarse que estén incluidos los virus presentes en esta investigación. En este sentido, vale la pena recordar que los tipos de muestras más comunes para la detección viral y

posterior secuenciación de PRRSV en Colombia han sido los lavados broncoalveolares y el pulmón, sobre todo en la fase aguda de la enfermedad. Mendoza-Niño, (2015), demostró una identidad mayor al 93% entre las secuencias de nt de los virus detectados en el Valle del Cauca. En ese mismo sentido, (Castro, 2015), demostró que todos los aislamientos de ese estudio (provenientes de diversos departamentos colombianos) correspondieron al genotipo americano; al igual que un estudio reciente donde se evaluaron 18 muestras de suero provenientes de cerdos de Antioquia y Valle del Cauca, demostrando que corresponden al genotipo americano con una identidad entre las cepas de campo entre 82.7% - 99.8%.

Las cargas virales bajas para PRRSV detectadas en nuestro estudio se pueden explicar por diversos factores como (i) disminución en la carga viral debido a una respuesta inmune humoral efectiva, (ii) una baja presencia viral en muestras ambientales debido a la labilidad del virus por sus características estructurales y físicas (envuelto, ssARN) y (iii) degradación (disminución de la carga) durante el transporte de los FO, aunque el tiempo de transporte nunca fue superior a cuatro horas como ya se ha recomendado en otros estudios (Castro, 2015).

En relación con SIV-A, el primer aislamiento en Colombia fue hecho por (Ramírez-Nieto et al., 2012), quienes, determinaron que el virus varió en las granjas después del brote pandémico del 2009, encontrando secuencias relacionadas con el virus “clásico” y otras con el “pandémico”. Este resultado fue corroborado por los trabajos de (Karlsson et al., 2013; Mancipe et al., 2014; Flórez et al., 2018; Osorio-Zambrano et al., 2022), quienes determinaron que, a partir del brote pandémico del 2009, el virus más prevalente en las granjas nacionales es el SIV-A pH1N1. En relación con nuestro estudio, si bien no pudimos secuenciar muestras positivas, es probable que los virus estén relacionados filogenéticamente con el virus pandémico H1N1. Estudios a nivel mundial recogidos por (Baudon et al., 2017) demuestran que los virus de influenza más prevalentes se relacionan con las cepas H1 y H3. Además, que las prevalencias oscilan entre granjas de 0 - 100%, siendo este último, un resultado comparable con los reportados en este estudio para las dos granjas. Con respecto a los factores de riesgo, se reporta que la densidad de los lotes y el tamaño de las pjaras, así como las medidas de manejo, bioseguridad y el alojamiento son factores de riesgo asociados a su presentación (Baudon et al., 2017; Nurhayati et al., 2020). Un estudio en Brasil (Schmidt et al., 2016) demostró el mismo comportamiento que encontramos en el presente estudio. Ellos encontraron circulación de SIV-A H1N1

pandémico y H1N2 relacionándolos con la presencia de brotes respiratorios y la manifestación del CRP, principalmente con agentes bacterianos. La figura 14 muestra la correlación que encontramos entre SIV-A y factores climáticos en G1, principalmente en las fases de predestete y la preceba; sin embargo, no se evaluaron otros factores de riesgo como la desinfección, la diseminación por parte de los trabajadores o algunas otras prácticas que podrían estar relacionadas con la presencia endémica del virus en las dos piaras. Los resultados mostrados aquí demuestran que es importante tener en cuenta las variables climáticas y el personal en el contexto del CRP para conocer cómo influyen en el desarrollo de la enfermedad.

Estudios previos han demostrado que factores climáticos como variaciones de temperatura y humedad, así como la concentración de amonio en los corrales son capaces de inducir enfermedad respiratoria en cerdos en la finalización en ausencia de agentes virales o bacterianos relacionados con el CRP (Pessoa et al., 2022). A pesar de que aquí fueron incluidos, exceptuando la concentración de amonio, los resultados muestran que los factores climáticos afectan la presencia principalmente de los virus de PCV3 y PPV2 en las granjas ubicadas en el trópico alto colombiano. Esto exige que en próximas investigaciones se sigan incluyendo los factores ambientales debido a que su presencia afecta las dinámicas de circulación viral y, por ende, la presentación de la enfermedad respiratoria (Segalés et al., 2012; Vangroenweghe & Thas, 2021)

Un aspecto importante para tener en cuenta en el contexto colombiano es la ausencia de vacunación contra SIV-A, una práctica que es común en otros países y que ha demostrado que disminuye la transmisión entre animales, la sintomatología clínica y las lesiones pulmonares. Los cerdos criados en el contexto nacional deben hacer frente al SIV-A con anticuerpos adquiridos a través del calostro los cuales, se ha demostrado, van disminuyendo hasta la semana 6 de vida, y posteriormente, a través de la inmunidad humoral y celular adquirida luego de la infección natural. Se ha demostrado también que la respuesta humoral de los cerdos frente al virus durante la infección es menor cuando aún existen anticuerpos calostrales. La respuesta inmune humoral no evita la diseminación viral pero sí disminuye la manifestación de sintomatología clínica (Gale et al., 2020; Piñeyro, 2012; Romagosa et al., 2011). En el contexto del estudio, es importante tener en cuenta cómo podrían los demás agentes virales presentes en las dos granjas influir en esa respuesta inmune humoral y celular desencadenada frente a SIV-A, la cual se hipotetiza

debe estar sucediendo debido a que el virus se encontraba de forma endémica durante los seis meses de muestreo.

Un estudio de secuenciación de genoma completo demostró el mantenimiento del SIV-A en las granjas durante todo el ciclo productivo a pesar de que en algunas el virus no circulaba en todas las etapas. Los autores proponen que el virus permanece al interior de la granja con amplia distribución y es necesario el análisis de subpoblaciones porcinas para entender la diversidad y las dinámicas de circulación (Diaz et al., 2017). Estos resultados son similares a los demostrados en este estudio, en donde a pesar de que en la mayoría de los muestreos la presencia del SIV-A fue del 100% en las dos granjas, si existió una disminución para el tercer muestreo en la G2.

Específicamente, cuando (Mancipe et al., 2014) analizaron la influencia del virus SIV-H1N1p en el contexto del complejo respiratorio porcino en producciones colombianas, correlacionándolo con agentes como PRRSV, PCV2, App y Myh, encontraron que, en las granjas positivas al virus de influenza, era más probable la presencia de PCV2 en cerdas de reemplazo y en multíparas. Sin embargo, se reducía el riesgo de presentación de PRRSV en todas las granjas y en cualquiera de las dos edades (Mancipe et al., 2014). Con respecto a la interacción de PCV2 y SIV-A, se ha demostrado que los cerdos de tres semanas son más susceptibles a la infección por SIV-A que los cerdos de 16 semanas en granjas positivas a PCV2, pero, ambas etapas son más susceptibles a la infección por SIV-A en granjas positivas que en granjas negativas a PCV2; no obstante, la infección por SIV-A no aumenta la replicación del PCV2 (Lagan Tregaskis et al., 2021; Ouyang, Zhang, et al., 2019; Wei et al., 2010).

Cuando en este estudio se realizaron los análisis de correlación entre los virus de acuerdo con las etapas productivas (Figura 16) se encontró que SIV-A, PCV3 y PRRSV estaban relacionados entre sí y con las etapas de pre-destete y ceba; por lo tanto, para el contexto de las granjas evaluadas, es más probable que estos virus se encuentren en estas etapas, contrastando con los resultados previos de (Mancipe et al., 2014), sobre todo para PRRSV. Los resultados encontrados aquí confirman que los cerdos pueden infectarse con SIV-A desde las primeras etapas de vida y que este puede mantenerse circulando durante todas las etapas productivas y que puede variar entre grupos de una misma granja. Resulta necesario entender cómo en el contexto de las copresencias virales, estos agentes se

mantienen en una especie de simbiosis que les permitan mantenerse, pero sin desencadenar enfermedad clínica grave.

La posible explicación de este resultado puede estar dada por la respuesta inmune. Al acontecer una infección primaria por SIV-A en el epitelio alveolar, este desencadena reacciones de liberación de citoquinas proinflamatorias y quimiotácticas que llevan al reclutamiento de células fagocíticas como los PAM y otras células, las que son el sitio de replicación del PCV3, PCV2 y PRRSV. El reclutamiento de esas células infectadas puede ser mayor en estas etapas productivas debido a una mayor replicación viral. Los resultados de otras investigaciones han demostrado que SIV-A es capaz de infectar de forma abortiva a los macrófagos, lo cual podría generar una competencia con los demás agentes virales evitando su replicación efectiva y, por ende, la manifestación clínica de la enfermedad, sin embargo, esta hipótesis debe seguir siendo evaluada analizando si esa capacidad de infección celular está marcada por la virulencia de los demás agentes y el intervalo entre infecciones sobre todo en estudios *in vivo* (Crisci et al., 2019; Maisonnasse et al., 2016; Saade et al., 2020). A pesar de que no se realizó una caracterización de la población enferma durante los muestreos, los cerdos que manifestaron síntomas respiratorios como tos, estornudos y secreción nasal bilateral pertenecían principalmente a los grupos de la ceba y la finalización.

El análisis de correlación entre las variables por cada granja (Figura 14) mostró que existe una asociación entre el PRRSV y PCV2, principalmente en el predestete y la preceba, siendo estos resultados similares a los encontrados por (Ticó et al., 2013; López-Soria et al., 2010; Ma et al., 2021). Un aspecto importante a tener en cuenta cuando se vacuna contra PCV2 en granjas PRRSV - positivas, es que a pesar de que existe una buena respuesta inmunológica humoral gracias a la inducción de anticuerpos vacunales contra PCV2, la infección previa con PRRSV altera las respuestas inmunes de tipo celular. Las más afectadas son donde participan los LT CD4+ y CD8+; esto es muy importante, sobre todo en las primeras semanas de vida del lechón, en donde pueden ocurrir cambios en la inducción de proteínas que ayudan al proceso de maduración y diferenciación linfocitaria en el timo, lo cual desencadenaría posteriormente el mal funcionamiento del sistema inmunológico frente a otros agentes patogénicos (Canelli et al., 2016).

(Cecere et al., 2012) además demostraron, *in vitro*, que en células dendríticas coinfectadas con PCV2a y PRRSV genotipo II existía un fuerte efecto inmunomodulador de la respuesta

inmune a través de una inmunosupresión vía linfocitos T_{reg}. Esto es importante porque en la G2, donde se encontraron los dos agentes anteriormente mencionados, hubo un incremento en la diversidad de coinfecciones y copresencias en las muestras evaluadas, principalmente en las primeras etapas de vida de los cerdos. Aunque se debe tener en cuenta que el efecto de PCV2 (cargas virales bajas) seguramente no fue impactante como producto de la vacunación rutinaria implementada, corroborando la información de (Canelli et al., 2016); sin embargo, se puede hipotetizar que esa falla en el desarrollo de una respuesta inmune celular adecuada es lo que lleve a esa multiplicidad de virus encontrados en la granja positiva a PRRSV. Los estudios además han demostrado que la coinfección PCV2/PRRSV lleva a un aumento en la replicación y de la actividad inflamatoria (Saade et al., 2020)

Los estudios sobre la respuesta humoral inducida por la vacunación contra PCV2 reconocen que existe una protección suficiente para mantener controlada la infección sistémica pero que esta inmunidad humoral no es esterilizante, lo cual explicaría, además, la circulación viral del PCV2 a lo largo de todas las etapas productivas encontradas en las dos granjas, que adicionalmente podría favorecer su evolución (Figueras-Gourgues et al., 2019; Pleguezuelos et al., 2022; Vargas-Bermúdez et al., 2018). Con respecto a esto último, algunos estudios apuntan a que PCV2 aumenta en las etapas de ceba y finalización debido a una pérdida de la inmunidad materna y vacunal (Grau-Roma et al., 2009; Larochelle et al., 2003). No obstante, esto no ocurrió de la misma manera para las dos granjas evaluadas; en la G1, el PCV2 se mantuvo estable desde el predestete hasta la ceba y solo aumentó en la finalización, es decir, en cerdos mayores de 18 semanas; mientras que en la G2 el mayor número de muestras positivas se encontró en la preceba y se mantuvo más bajo en las demás etapas, lo cual podría estar influenciado por la presencia de PRRSV y los demás virus encontrados (Kim et al., 2022).

Por otro lado, se ha demostrado que el SIV-A puede afectar la respuesta inmune humoral frente a PCV2. Así, (Sun et al., 2021) en un estudio en ratones pudo determinar que una primoinfección por SIV-A afecta negativamente la respuesta inmune humoral frente a la vacuna contra PCV2 y aumenta su replicación. Sin embargo, existió una diferencia con respecto al tipo de vacuna, en donde la vacuna inactivada mostró mejor desempeño en comparación con la vacuna a subunidades. Es importante mencionar también, que los investigadores relacionaron la polarización de macrófagos que genera el SIV-A durante la infección con esta modulación a nivel de respuesta humoral frente a las vacunas.

Con respecto a los efectos que sobre la vacunación contra PCV2 ejerce el PCV3, (Woźniak et al., 2019), determinaron que la circulación de este último no afecta la eficacia vacunal contra el primero, y que, además, una alta viremia de PCV2 en granjas sin vacunar no está relacionada con un aumento en el nivel de infección del PCV3. Todo esto puede explicar en parte por qué, a pesar de que se encontró PCV3, PPV2, SIV-A y PRRSV, considerados algunos con efecto inmunomodulador, la vacunación contra PCV2 fue efectiva (CT promedios para G2 de 34.94, y 35.59 en la G1). Con respecto a los genotipos circulantes de PCV2 en el país, debido a que no se logró secuenciar, no se conocieron a ciencia cierta cuáles eran los genotipos encontrados en estas granjas. Los cebadores utilizados para la qPCR en este estudio, detectan simultáneamente los genotipos b y d, por lo cual se sospecha que los virus circulantes hacen parte de alguno de estos dos genotipos (seguramente el PCV2d). Un estudio retrospectivo demostró la circulación predominante en el país, incluyendo el departamento de Cundinamarca, del genotipo PCV2d, con una identidad de 99.1 - 99.6% entre cepas (Vargas-Bermúdez et al., 2022). Es interesante notar que, en Colombia, hasta la primera década del siglo XXI, el genotipo dominante en el país era el PCV2a, pero a partir de allí, cambió por PCV2b y PCV2d (Almarío-Leiva et al., 2020; Rincón et al., 2014). Estos resultados están en concordancia con los previos reportes en Estados Unidos, China, Corea y algunos países europeos, en los cuales PCV2a, PCV2b y PCV2d son los de mayor circulación, encontrándose además coinfección en cerdos con manifestaciones clínicas asociadas al síndrome sistémico (Guo et al., 2019; Guo et al., 2020; Lv et al., 2020; Saporiti et al., 2020; Xiao et al., 2016; Kim et al., 2018)

El PCV3 se asoció también en las dos granjas con una disminución en la GDP, además, con un mejor desempeño en términos de conversión alimenticia lo cual llevó a una correlación positiva con el peso final. Se ha demostrado que altas cargas virales están relacionadas con exacerbación de sintomatología clínica en cerdos posdetete y, por ende, en alteraciones del comportamiento productivo en los adultos (Alomar et al., 2021). Por lo anterior y debido a que las cargas virales para PCV3 encontradas en este estudio fueron bajas, se hipotetiza que estas no son suficientes para causar enfermedad o afectar negativamente en términos productivos a las granjas evaluadas; por tanto, al igual que con PCV2, la concentración de PCV3 tisular o virémico es importante para desencadenar enfermedad grave (Kedkovid et al., 2018).

En adición, (Temeeyasen et al., 2021) demostraron que a pesar de que la infección por PCV3 sea subclínica se pueden generar respuestas inflamatorias de tipo multisistémico y que, además, la viremia puede prolongarse hasta 42 dpi con una eliminación constante a través de las secreciones nasales y de forma transitoria a través de las heces, y también con una fuerte respuesta humoral principalmente mediada por la IgG sin afectar las poblaciones de LT. Sin embargo, aún queda la duda de cómo actúa este agente en correlación con los demás, en este estudio los cerdos estaban aparentemente sanos, es decir, sin sintomatología clínica aparente hasta la etapa de la ceba, en donde la sintomatología respiratoria fue calculada en un aproximado del 10%. Esto quiere decir que existen más factores que afectan el desarrollo de la enfermedad sistémica, se podría hipotetizar que resultaría necesario un aumento de las cargas de uno o más virus como PRRSV, SIV-A, PPV2 para disrumpir el sistema inmunológico y permitir el incremento sustancial del PCV3. También, factores ambientales como la disminución de la temperatura, al menos, en el contexto del trópico alto colombiano. Otros factores que pueden afectar las dinámicas virales y que deben evaluarse con mayor profundidad en estos estudios son los protocolos de desinfección para este u otros agentes y el análisis de transporte de los animales entre sitios productivos dentro de una misma granja (Lara et al., 2022; Temeeyasen et al., 2021).

A pesar de que los análisis no muestren una correlación entre PCV2 y PCV3 en las muestras tomadas en el país, recientemente (Vargas-Bermúdez et al., 2022) demostraron la amplia circulación de estos agentes, principalmente en seis departamentos dentro de los cuales se encuentra Cundinamarca. Así, determinaron que las dinámicas virales han variado en los últimos años; entre 2015 - 2016, la prevalencia del PCV2 (9.13%) era mayor a la del PCV3 (1.9%), sin embargo, para 2018 - 2019, el PCV3 fue encontrado en una prevalencia del 43.5% en muestras de sueros y en 52.6% en muestras de tejidos de fetos abortados y nacidos muertos; mientras que PCV2 fue encontrado el en 11% en muestras de suero y en ninguna muestra de tejido (departamentos de Atlántico y Cundinamarca). Además, es interesante notar que solamente se encontró coinfección en el 6.4% de las muestras evaluadas. Estos resultados concuerdan con los encontrados en este estudio, en donde la prevalencia de la copresencia para los dos agentes fue del 5.88% en la G1 (principalmente en muestras ambientales) y de 2.94% en la G2 (principalmente en sueros del predestete y la preceba), además, los análisis de correlación muestran que los dos circovirus no se encuentran correlacionados. Con respecto a esto, la diferencia en términos

de muestras en las cuales se encontraron los circovirus reveló que en la granja PRRSV-positiva fue en donde se encontraron los circovirus en viremia, lo cual podría estar favorecido por la presencia de este último virus (Figura 25).

Estos resultados colombianos en términos de coinfección PCV2/PCV3 difieren de los reportados en países como República Dominicana, en donde el rango de la detección de esta coinfección en cerdos con enfermedad digestiva fue de 38.09% (Gainor et al., 2023). Las variaciones en términos de etapas y muestras para la detección de PCV3 se han reportado en otros países, así (Klaumann et al., 2019) demostraron, a través de un estudio de tipo longitudinal en cuatro granjas españolas, que el PCV3 puede mantenerse desde el destete hasta la finalización (semana 23) en los cerdos y que su comportamiento varía entre granjas. Estos resultados son importantes debido a que demuestran, junto con los resultados de nuestro estudio, la distribución más o menos homogénea que presenta el PCV3 en las etapas productivas de las granjas evaluadas, inclusive, en la G1 existe una mayor distribución en las primeras dos etapas, mientras que en la G2 es mayor en la preceba (Figuras 22 y 25). Un estudio en Colombia demostró la asociación entre el PCV3 con fallas reproductivas en campo, interesantemente los lechones provenientes de la cerda infectada con una carga viral de aproximadamente 10^3 , nacieron débiles y presentaron sintomatología respiratoria y fueron positivos a PCV3 en el tejido pulmonar y ganglios mesentéricos con mayores cargas comparados con los otros tejidos muestreados, poniendo de manifiesto que este agente puede transmitirse de forma vertical y desencadenar enfermedad respiratoria desde el predestete, los autores también demostraron que las cargas virales van disminuyendo hacia la sexta semana de vida (Vargas-Bermúdez et al., 2021).

Los análisis de correlación mostraron que no hubo una relación lineal positiva entre el PCV2 y el PPV2 (Figuras 14, 15 y 16) a pesar de que se encontraron en copresencia en muestras de suero de varias etapas principalmente el predestete, la ceba y finalización pero nunca solo los dos, sino con los demás agentes virales (Tabla 7 y 8). Estos resultados están en concordancia con los mostrados por (Milek et al., 2020), quienes determinaron, en granjas polacas, muestreando animales entre 3 a 21 semanas, que la viremia del PCV2 no aumentaba en presencia del PPV2, como si por el PPV1 y PPV7, todo esto, a pesar de que el PPV2 fue uno de los patógenos con mayor detección en las muestras de suero generales (26.6%) y del 30.2% en sueros positivos a PCV2. Sin embargo, los resultados

previos son discordantes con los reportados por (Lagan Tregaskis et al., 2021; Novosel et al., 2018; Opriessnig et al., 2014), los cuales sugirieron una asociación positiva de los dos agentes en el tejido pulmonar como causantes de PCVAD.

Es probable que los agentes necesiten a otros para poder generar viremia y poder salir del tejido pulmonar y diseminarse. Para otros tipos de parvovirus como el PPV1, se ha reportado que la promoción de la replicación puede estar dada por un aumento del infiltrado monocítico en el tejido pulmonar y, por ende, un aumento en el número de células que puede infectar el PCV2, además, que existe un aumento en el TNF- α cuando la infección era concurrente a cuando cada virus infectaba por separado (Kim et al., 2006; Opriessnig & Halbur, 2012). Además, un estudio que evaluó la eficacia vacunal frente a PCV2 en el contexto de una coinfección con PPV2 demostró que este último no afectaba la respuesta inmune humoral frente a PCV2 (Opriessnig, Karuppanan, Halbur, et al., 2020).

Un estudio en China va en concordancia con los resultados demostrados previamente, en donde los parvovirus más prevalentes fueron el PPV2 (30.53%) y PPV3 (29.77%), los que tuvieron el mayor porcentaje de coinfección con el PCV2 (9.66% para PPV2 y 8.51% para PPV3) (J. Li et al., 2021), estos resultados se comparan con los encontrados en nuestro estudio, en donde la copresencia de PCV2/PPV2/SIV-A estuvo en el 11.76% para la G1 y de 7.84% para la G2 (Figuras 8 y 11). Con respecto a la distribución de muestras y etapas productivas, esta copresencia estuvo distribuida tanto en muestras de suero (coinfección) como en muestras ambientales lo largo de todo el ciclo productivo (Tablas 7 y 8). En relación con esto, (Kim et al., 2022) demostró en Corea que la circulación de los diferentes parvovirus es un evento común en las granjas, además, el virus de mayor circulación fue el PPV2 con un 32.6% de las muestras positivas asociado principalmente a la etapa de engorde y finalización, además, y en relación con lo encontrado aquí, existió una mayor prevalencia del PCV2 y PPV2 cuando los cerdos eran PRRSV - positivos, lo cual indica la importancia de este virus para favorecer la aparición de otros agentes virales en los porcinos. Esto se demuestra en este estudio en donde se ve un aumento en el número de coinfecciones y copresencias virales en la granja positiva a PRRSV (G2). Estos resultados son corroborados por (Kim et al., 2022) quienes determinaron que las prevalencias de los PPV, especialmente del PPV2 aumentaba en los tejidos pulmonares infectados por PRRSV sin importar si este también tenía coinfección por PCV2.

Un estudio en Serbia demuestra la posibilidad de que el PPV2 circule como agente único, encontrándose esta monoinfección en el 21.7% de los cerdos silvestres muestreados (Nišavić et al., 2021). Este resultado fue mayor al encontrado en nuestro estudio, en donde el porcentaje de monopresencia de PPV2 fue del 4.9%, únicamente en la G2 y principalmente en muestras ambientales. Un estudio analizando el perfil serológico contra el PPV2 demostró que los anticuerpos frente al virus disminuyen hasta los 14 días de vida y empiezan a aumentar a partir del día 23 cuando los síntomas respiratorios también se presentan, además, el mayor nivel de viremia se encontró cerca al día 60 de vida y a partir de allí empieza a disminuir debido a un aumento en los anticuerpos (Cságola et al., 2016). No obstante, estos resultados contradicen a lo reportado en este estudio, en donde la mayor cantidad de muestras PPV2 - positivas se encontró en las etapas de ceba y finalización y no tanto en las etapas de preceba y predestete, lo cual si está correlacionado con lo reportado por (Nelsen et al., 2021), quienes determinaron que a pesar de que el PPV2 se encuentre distribuido por toda la piara, la edad de mayor prevalencia fue a partir de las 8 semanas de vida; además, que a medida que aumenta la edad el CT es menor, es decir, existe un aumento en la carga viral. Además, a través de hibridación *in situ* demostró su replicación en células compatibles con macrófagos y linfocitos T.

En este mismo sentido (Lagan Tregaskis et al., 2021), demuestran que a pesar de que el PPV2 puede detectarse desde el predestete, el pico de prevalencia se encuentra en cerdos mayores a 10 semanas de vida, resultados similares a los reportados en nuestro estudio, lo cual demuestra la posibilidad de mantenimiento viral en las granjas. También, (Mišek et al., 2019) demostraron que la mayor prevalencia de parvovirus en granjas polacas era para el PPV2, utilizando principalmente FO como muestra, y que el virus tenía la capacidad de mantenerse desde el posdestete hasta la finalización en donde alcanzaba su máximo nivel de replicación y de viremia. Este bajo nivel de prevalencia en las primeras etapas de vida puede estar dado a que no se transmiten de forma vertical o que los lechones adquieren protección por inmunidad pasiva y esta se pueda mantener durante algunas semanas (Lagan Tregaskis et al., 2021). Esto último lleva a proponer que sería muy importante analizar las dinámicas de anticuerpos frente a los demás agentes y cómo estos afectan la respuesta inmunológica de los lechones.

Aquí se encontró que la presencia de PPV2 aumenta las mortalidades en la granja, disminuye los pesos al destete y en la finalización y aumenta los valores de CA. Aspectos

importantes para tener en cuenta debido a que este es el primer reporte relacionado con el efecto del PPV2 sobre los parámetros productivos en el país y están en concordancia con los resultados de (Saekhow et al., 2014; Saekhow & Ikeda, 2015), quienes determinaron que la presencia del PPV2 estaba correlacionada con la disminución en el rango de crecimiento de los cerdos jóvenes. Además de ello, se determinó una correlación negativa entre la presencia del PPV2 y la del PCV3 en el contexto general de los análisis de las dos granjas, esto es importante porque demuestra que ambos agentes pueden influenciarse mutuamente afectando uno la presencia del otro.

El análisis filogenético de las secuencias de PPV2 encontradas en el estudio (Figura 26) las ubicó en el clado 1 junto con las secuencias colombianas reportadas hasta la fecha. Análisis previos han demostrado que el clado 1 es el de los aislamientos cronológicamente más recientes demostrando que el PPV2 es un virus en evolución constante; esto puede demostrarse en este estudio ya que las dos secuencias reportadas aquí provienen de un departamento (Cundinamarca) donde ya hay cepas registradas en el GenBank y presentan diferencias a nivel de la región que codifica para Cap, lo que eventualmente podrían tener un efecto en el tropismo e inmunogenicidad del virus (Lagan Tregaskis et al., 2021).

Un estudio que correlacionó la prevalencia de diferentes agentes bacterianos y virales relacionados con el CRP demostró que existían variaciones temporales y entre etapas para cada agente (Vangroenweghe & Thas, 2021). Estos resultados son similares a los reportados aquí, en donde los factores climáticos influyeron en la presentación de los virus de PPV2 y PCV3. No obstante, en su estudio (Vangroenweghe & Thas, 2021) determinaron que eran los valores climáticos de 10 semanas previas a los muestreos los cuales influían en las dinámicas virales, resultado diametralmente opuesto a lo reportado en este estudio, en donde los mayores valores para la correlación de las variables y la presencia viral fue determinada para los 10 días previos a los muestreos. Posibles acontecimientos que marquen esta diferencia pueden estar relacionados con que el estudio se realizó en Europa, en donde existen marcadas condiciones climáticas como las estaciones y que, además, el estudio fue realizado en un período de 5 años, mientras que en las condiciones tropicales de Colombia no se habla de estaciones climáticas y el estudio acaeció en un período de 6 meses.

Con respecto a las muestras colectadas para la detección de los agentes virales, las muestras de glándula mamaria se han demostrado que funcionan para determinar la

circulación de agentes virales entre la granja, sobre todo cuando se utilizan cerdas nodrizas para lechones que lo necesitan. Así, (Garrido-Mantilla et al., 2020) demostraron la transmisión de SIV-A y PRRSV a lechones negativos a través del contacto con la glándula mamaria de cerdas expuestas a lechones positivos a los dos virus. Por lo tanto, evaluar este tipo de prácticas al interior de una piara es una herramienta esencial para el análisis de la circulación viral; nuestro estudio demuestra que las muestras de glándula mamaria proporcionan información valiosa para determinar los virus presentes en esta primera etapa productiva. Esto es importante porque ya se ha demostrado que los lechones predestete son reservorios para granjas endémicamente positivas a PRRSV y SIV-A, esto se explica porque si bien los lechones nacen libres de SIV-A se contagian a través del contacto directo con cerdos infectados. Para el caso de PRRSV, los lechones pueden nacer virémicos debido a infecciones *in utero* o también por contacto directo con animales infectados, materiales contaminados o aerosoles (Garrido-Mantilla et al., 2020; Pileri & Mateu, 2016; Torremorell et al., 2012; Vilalta et al., 2018).

Además de eso, se ha demostrado que FO son una herramienta diagnóstica importante para la detección molecular de múltiples virus asociados a problemas respiratorios y gastrointestinales en cerdos, así como de la respuesta inmune a través de la detección de anticuerpos, sin embargo, estos resultados deben correlacionarse con la concentración de los agentes virales, debido a que si los valores de la PCR cuantitativa son altos (CT > 32), la capacidad de detección disminuye considerablemente (Almeida et al., 2018; Bjuström-Kraft et al., 2018; Castro, 2015; Lagan Tregaskis et al., 2021; Turlewicz-Podbielska et al., 2020; Vereecke et al., 2023).

Es importante destacar que los resultados mostrados en las investigaciones para los virus evaluados muestran su distribución general por todas las etapas productivas, comprobado además por los resultados de este estudio. Es decir, que ya no se puede hablar de la detección de un solo agente en las piaras nacionales e internacionales, sino que deben desarrollarse metodologías que favorezcan la detección molecular rápida de diversos agentes virales para un monitoreo efectivo y eficaz en las diferentes subpoblaciones de cerdos al interior de las granjas. En el estudio, además, todas las muestras fueron sometidas a la detección de PPIV-1, no obstante, no fue detectado en ninguna de las dos granjas evaluadas.

3. Conclusiones y recomendaciones

Se determinaron las dinámicas de diferentes agentes vírales asociados con el CRP en dos granjas porcinas nacionales tecnificadas en el trópico alto colombiano. La copresencia de los virus varió entre muestreos y muestras, no obstante, los virus parecen tener un comportamiento de mantenimiento al interior de la granja en todas las etapas productivas lo cual podría favorecer la presentación de enfermedad respiratoria bajo la influencia de otros factores externos. El virus con menos variación fue SIV-A, el cual se encontró de forma endémica en las dos granjas evaluadas.

Los métodos moleculares empleados permitieron la identificación de los diferentes agentes vírales en muestras tanto ambientales como de suero. Las copresencias variaron de acuerdo con el muestreo en las dos granjas, eso indica que un periodo de dos meses es más que suficiente para cambiar las dinámicas de presentación de los diferentes agentes vírales en las granjas. El número también varió de acuerdo con la granja, así la G1 presentó 12 tipos de copresencias durante los tres muestreos, y de ellas las más comunes fueron dobles: PPV2/SIV-A, PCV3/SIV-A, PCV2/SIV-A; mientras que las triples fueron PCV2/PPV2/SIV-A y PCV2/PCV3/SIV-A. Por su parte, la G2 presentó 26 copresencias diferentes a lo largo de los tres muestreos, marcado principalmente por copresencias dobles (4) y triples (6). Las dobles más comunes fueron PCV2/SIV-A, PCV3/SIV-A y PRRSV/SIV-A; por su parte, las triples fueron PRRSV/PCV2/SIV-A, PRRSV/PCV3/SIV-A y PCV2/PPV2/SIV-A. Además, también se encontró una copresencia quántuple en el 5.88% de las muestras. Es necesario poner de manifiesto que los análisis estadísticos muestran que existe una correlación negativa entre el PCV3 y PPV2, lo cual indicaría que en el contexto del trópico alto colombiano y de las demás copresencias, un virus afecta negativamente la presencia del otro.

A pesar de que no se evaluó la prevalencia de sintomatología clínica asociada al CRP, la presencia de un agente como PRRSV tiene un efecto en la presentación de copresencias vírales tendiendo a aumentarlas, tal como se evidenció en la G2. Se determinó además que a pesar de que las granjas estén ubicadas en un mismo departamento y en una misma región conocida como el trópico alto colombiano, los parámetros climáticos las afectan de forma diferente, no obstante, condiciones como la temperatura, humedad y precipitación tienen un efecto en la manifestación de agentes vírales como PCV3 y PPV2. Además, y

relacionado con los parámetros productivos muestran que mientras el PCV3 afecta el desempeño productivo de los cerdos en términos de GDP, el PPV2 está correlacionado con un aumento en las mortalidades del destete y de la finalización, así como con una disminución en los pesos al destete y la finalización, constituyendo el primer reporte generado en el país.

A pesar de que no se pudo establecer secuencias para la mayoría de los virus evaluados debido a los altos CT, se puede establecer, epidemiológicamente, que los virus encontrados corresponden a los mismos virus reportados previamente en el país. Para el PPV2, los análisis filogenéticos muestran que pertenecen al clado 1 y que las secuencias reportadas aquí se correlacionan con las secuencias previamente reportadas en el país. Sin embargo, existió una variación entre las secuencias reportadas a pesar de que provienen de una misma granja y un mismo muestreo, demostrando que este virus permanece en una constante evolución de su proteína Cap.

Es necesario seguir realizando análisis epidemiológicos de las poblaciones porcinas nacionales no solo en el contexto del trópico alto colombiano, sino en los que se conocen como trópico medio y trópico bajo debido a que ya se estableció que las dinámicas vírales cambian inclusive en granjas ubicadas en una misma región geográfica. Además, debido a la característica de mantenimiento de los virus a lo largo del sistema productivo, es necesario dejar de evaluar los virus como entidades no correlacionadas entre sí, con el fin de poder determinar cómo son sus dinámicas en las granjas nacionales, además, resulta necesario seguir incluyendo en los estudios de la detección de los agentes vírales factores externos como el clima, evaluados aquí, sino también correlacionar las medidas de manejo y bioseguridad en la granja, así como factores como la movilidad de los cerdos entre los sitios productivos e inclusive el papel de los trabajadores como posibles fómites.

El desarrollo de métodos moleculares para la detección de múltiples agentes vírales de una misma muestra de forma simultánea es necesario para mejorar los procesos de análisis de las dinámicas vírales, debido a que ahorra tiempo y costos operacionales, los cuales son importantes para la toma rápida de decisiones con el fin de controlar brotes de enfermedad de los diferentes agentes patogénicos.

Los análisis filogenéticos de las secuencias de los diferentes agentes vírales presentes en el país son necesarios debido a que deben conocerse las particularidades propias de los

virus circulantes con el fin de entender cómo en un contexto particular como el colombiano, estos agentes evolucionan y con ello, ser capaces de analizar las implicaciones particulares que puedan tener para la evolución de la enfermedad y poder prever, hasta cierto punto, las dinámicas de los virus.

Bibliografía

Almarío-Leiva, G., Suárez-Mesa, R., Uribe-García, F., & Rondón-Barragán, I. (2020). Detection and characterization of porcine circovirus type 2 (PCV2) circulating in pigs of the departments of Tolima and Huila, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 31(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17553>

Almeida, M. N., Zimmerman, J. J., Wang, C., & Linhares, D. C. L. (2018). Assessment of abattoir based monitoring of PRRSV using oral fluids. *Preventive Veterinary Medicine*, 158, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.08.002>

Alomar, J., Saporiti, V., Pérez, M., Gonçalves, D., Sibila, M., & Segalés, J. (2021). Multisystemic lymphoplasmacytic inflammation associated with PCV-3 in wasting pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2969–2974. <https://doi.org/10.1111/tbed.14260>

Assao, V. S., Santos, M. R., Pereira, C. E. R., Vannucci, F., & Silva-Júnior, A. (2021). Porcine circovirus 3 in North and South America: Epidemiology and genetic diversity. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2949–2956. <https://doi.org/10.1111/tbed.14238>

Baudon, E., Peyre, M., Peiris, M., & Cowling, B. J. (2017). Epidemiological features of influenza circulation in swine populations: A systematic review and meta-analysis. In *PLoS ONE* (Vol. 12, Issue 6). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179044>

Bjustrom-Kraft, J., Christopher-Hennings, J., Daly, R., Main, R., Torrison, J., Thurn, M., & Zimmerman DVM, J. (2018). The use of oral fluid diagnostics in swine medicine. *Journal of Swine Health and Production*, 26(5), 262–269. <http://www.aasv.org/shap.html>.

Brockmeier, S. L., Halbur, P. G., & Thacker, E. L. (2002). PORCINE RESPIRATORY DISEASE COMPLEX. In *Polymicrobial diseases*.

Canelli, E., Borghetti, P., Ferrari, L., De Angelis, E., Ferrarini, G., Catella, A., Ogno, G., & Martelli, P. (2016). Immune response to PCV2 vaccination in PRRSV viraemic piglets. *Veterinary Record*, 178(8), 193. <https://doi.org/10.1136/vr.103637>

Castro, N. (2015). Análisis filogenético de la región ORF5 del Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV) provenientes de granjas porcícolas Colombianas [Instituto de Biotecnología-IBUN]. Universidad Nacional de Colombia.

Cecere, T. E., Meng, X. J., Pelzer, K., Todd, S. M., Beach, N. M., Ni, Y. Y., & LeRoith, T. (2012). Co-infection of porcine dendritic cells with porcine circovirus type 2a (PCV2a) and genotype II porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) induces CD4+CD25+FoxP3+ T cells in vitro. *Veterinary Microbiology*, 160(1–2), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.040>

Crisci, E., Fraile, L., & Montoya, M. (2019). Cellular innate immunity against PRRSV and swine influenza viruses. In *Veterinary Sciences* (Vol. 6, Issue 1). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/VETSCI6010026>

Cruz, M., Mogollón, J., Rincón, M., Ruiz, S., & Lora, A. (2006). PREVALENCIA SEROLÓGICA DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRS) EN CERDOS DE EXPLOTACIONES EXTENSIVAS DE COLOMBIA. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 53(1), 33–41. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/17799>

Cságola, A., Zádori, Z., Mészáros, I., & Tuboly, T. (2016). Detection of Porcine Parvovirus 2 (Ungulate Tetraparvovirus 3) Specific Antibodies and Examination of the Serological Profile of an Infected Swine Herd. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151036>

Diaz, A., Marthaler, D., Culhane, M., Sreevatsan, S., Alkhamis, M., Torremorell, M., Schultz-Cherry, S., & Jude, S. (2017). Complete Genome Sequencing of Influenza A

Viruses within Swine Farrow-to-Wean Farms Reveals the Emergence, Persistence, and Subsidence of Diverse Viral Genotypes. 91, 745–762. <https://doi.org/10.1128/JVI>

Duinhof, T. F., van Schaik, G., van Esch, E. J. B., & Wellenberg, G. J. (2011). Detection of PRRSV circulation in herds without clinical signs of PRRS: Comparison of five age groups to assess the preferred age group and sample size. *Veterinary Microbiology*, 150(1–2), 180–184. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2011.01.001>

Espinoza, A. C., & Velásquez, M. R. (2021). Porcine reproductive and respiratory syndrome: A review of the etiological agent and its influence on the current behaviour of the disease. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 32(1). <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I1.19645>

Figueras-Gourgues, S., Fraile, L., Segalés, J., Hernández-Caravaca, I., López-Úbeda, R., García-Vázquez, F. A., Gomez-Duran, O., & Grosse-Liesner, B. (2019). Effect of Porcine circovirus 2 (PCV-2) maternally derived antibodies on performance and PCV-2 viremia in vaccinated piglets under field conditions. *Porcine Health Management*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0128-7>

Flórez R, J., Vera A, V., Lora M, Á., & Ramírez-Nieto, G. (2018). Evaluación molecular de la presencia del virus de influenza A en cerdos en plantas de beneficio en Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 23(S), 7013–7024. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1424>

Franzo, G., & Segalés, J. (2020). Porcine circovirus 2 genotypes, immunity and vaccines: Multiple genotypes but one single serotype. In *Pathogens* (Vol. 9, Issue 12, pp. 1–12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121049>

Gainor, K., Fortuna, Y. C., Alakkaparambil, A. S., González, W., Malik, Y. S., & Ghosh, S. (2023). Detection and Complete Genomic Analysis of Porcine circovirus 3 (PCV3) in Diarrheic Pigs from the Dominican Republic: First Report on PCV3 from the Caribbean Region. *Pathogens*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/pathogens12020250>

Gale, C., Velazquez, E., & Pattison, E. (2020). The impact of swine influenza and how to control it on farm. *Livestock*, 25(2), 105–110. <https://doi.org/10.12968/live.2020.25.2.105>

Garrido-Mantilla, J., Culhane, M. R., & Torremorell, M. (2020). Transmission of influenza A virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a novel nurse sow

model: A proof of concept. *Veterinary Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00765-1>

Grau-Roma, L., Hjulsager, C. K., Sibila, M., Kristensen, C. S., López-Soria, S., Enøe, C., Casal, J., Bøtner, A., Nofrarías, M., Bille-Hansen, V., Fraile, L., Baekbo, P., Segalés, J., & Larsen, L. E. (2009). Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary Microbiology*, 135(3–4), 272–282. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.007>

Gray, G., McCarthy, T., Capuano, A., Setterquist, S., Olsen, C., Alavanja, M., & Lynch, C. (2007). Swine workers and swine influenza virus infections. *Emerging Infectious Diseases*, 13(12), 1871–1878.

Guo, K., Xu, L., Wu, M., Hou, Y., Jiang, Y., Lv, J., Xu, P., Fan, Z., Zhang, R., Xing, F., & Zhang, Y. (2019). A host factor GPNMB restricts porcine circovirus type 2 (PCV2) replication and interacts with PCV2 ORF5 protein. *Frontiers in Microbiology*, 10(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03295>

Guo, Z., Ruan, H., Qiao, S., Deng, R., & Zhang, G. (2020). Co-infection status of porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) and porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in pigs with watery diarrhea in Henan province, central China: Co-infection of PCV2, PCV3 and PEDV. *Microbial Pathogenesis*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104047>

Karlsson, E. A., Ciuderis, K., Freiden, P. J., Seufzer, B., Jones, J. C., Johnson, J., Parra, R., Gongora, A., Cardenas, D., Barajas, D., Osorio, J. E., & Schultz-Cherry, S. (2013). Prevalence and characterization of influenza viruses in diverse species in Los Llanos, Colombia. *Emerging Microbes and Infections*, 2. <https://doi.org/10.1038/emi.2013.20>

Kedkovid, R., Woonwong, Y., Arunorat, J., Sirisereewan, C., Sangpratum, N., Lumyai, M., Kedsangsakonwut, S., Teankum, K., Jittimane, S., & Thanawongnuwech, R. (2018). Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). *Veterinary Microbiology*, 215, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.01.004>

Kim, J., Ha, Y., & Chae, C. (2006). Potentiation of Porcine Circovirus 2-induced Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by Porcine Parvovirus Is Associated with Excessive Production of Tumor Necrosis Factor- α . *Veterinary Pathology*, 43, 718–725.

Kim, S. C., Nazki, S., Kwon, S., Juhng, J. H., Mun, K. H., Jeon, D. Y., Jeong, C. G., Khatun, A., Kang, S. J., & Kim, W. II. (2018). The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea. *BMC Veterinary Research*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1614-x>

Kim, S. C., Kim, J. H., Kim, J. Y., Park, G. S., Jeong, C. G., & Kim, W. II. (2022). Prevalence of porcine parvovirus 1 through 7 (PPV1-PPV7) and co-factor association with PCV2 and PRRSV in Korea. *BMC Veterinary Research*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03236-1>

Klaumann, F., Correa-Fiz, F., Sibila, M., Núñez, J. I., & Segalés, J. (2019). Infection dynamics of porcine circovirus type 3 in longitudinally sampled pigs from four Spanish farms. *Veterinary Record*, 184(20), 619. <https://doi.org/10.1136/vr.105219>

Kumar, N., Sharma, S., Barua, S., Tripathi, B. N., & Rouse, B. T. (2018). Virological and Immunological Outcomes of Coinfections. <https://journals.asm.org/journal/cmvr>

Kvisgaard, L. K., Larsen, L. E., Hjulsager, C. K., Bøtner, A., Rathkjen, P. H., Heegaard, P. M. H., Bisgaard, N. P., Nielsen, J., & Hansen, M. S. (2017). Genetic and biological characterization of a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 2 (PRRSV-2) causing significant clinical disease in the field. *Veterinary Microbiology*, 211, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.10.001>

Lagan Tregaskis, P., Staines, A., Gordon, A., Sheridan, P., McMenemy, M., Duffy, C., Collins, P. J., Mooney, M. H., & Lemon, K. (2021). Co-infection status of novel parvovirus's (PPV2 to 4) with porcine circovirus 2 in porcine respiratory disease complex and porcine circovirus-associated disease from 1997 to 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 1979–1994. <https://doi.org/10.1111/tbed.13846>

Lara, A. C., Fernando, F. S., Takeuti, K. L., Bortolozzo, F. P., & De Barcellos, D. E. S. N. (2022). Efficacy of disinfectants to inactivate H1N1 influenza A virus isolated from pigs1. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 42. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6987>

Larochelle, R., Magar, R., & D'allaire, S. (2003). Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 67, 114–120.

Li, J., Xiao, Y., Qiu, M., Li, X., Li, S., Lin, H., Li, X., Zhu, J., Chen, N., & Jones, C. J. (2021). A Systematic Investigation Unveils High Coinfection Status of Porcine Parvovirus Types 1 through 7 in China from 2016 to 2020. 9(3), e01294–e01294. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

López-Soria, S., Maldonado, J., Riera, P., Nofrarías, M., Espinal, A., Valero, O., Blanchard, P., Jestin, A., Casal, J., Domingo, M., Artigas, C., & Segalés, J. (2010). Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transboundary and Emerging Diseases*, 57(3), 171–179. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01135.x>

Lv, J., Jiang, Y., Feng, Q., Fan, Z., Sun, Y., Xu, P., Hou, Y., Zhang, X., Fan, Y., Xu, X., Zhang, Y., & Guo, K. (2020). Porcine Circovirus Type 2 ORF5 Protein Induces Autophagy to Promote Viral Replication via the PERK-eIF2 α -ATF4 and mTOR-ERK1/2-AMPK Signaling Pathways in PK-15 Cells. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00320>

Ma, Z., Liu, M., Liu, Z., Meng, F., Wang, H., Cao, L., Li, Y., Jiao, Q., Han, Z., & Liu, S. (2021). Epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 and its coinfection rate in Shandong province in China from 2015 to 2018. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02718-4>

Maisonnette, P., Bouguyon, E., Piton, G., Ezquerro, A., Urien, C., Deloizy, C., Bourge, M., Leplat, J. J., Simon, G., Chevalier, C., Vincent-Naulleau, S., Crisci, E., Montoya, M., Schwartz-Cornil, I., & Bertho, N. (2016). The respiratory DC/macrophage network at steady-state and upon influenza infection in the swine biomedical model. *Mucosal Immunology*, 9(4), 835–849. <https://doi.org/10.1038/mi.2015.105>

Mancipe, L. F., Ramírez-Nieto, G., Vera, V., & Jaime, J. (2014). Association of swine influenza H1N1 pandemic virus (SIV-H1N1p) with porcine respiratory disease complex in sows from commercial pig farms in Colombia. *Virologica Sinica*, 29(4), 242–249. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3471-5>

Mendoza Niño, E. (2015). Detección y caracterización del virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino en tres granjas de producción intensiva para el establecimiento del control local de la enfermedad.

Milek, D., Woźniak, A., Guzowska, M., & Stadejek, T. (2019). Detection patterns of porcine parvovirus (PPV) and novel porcine parvoviruses 2 through 6 (PPV2–PPV6) in Polish swine farms. *Viruses*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/v11050474>

Nelsen, A., Lin, C. M., & Hause, B. M. (2021). Porcine Parvovirus 2 Is Predominantly Associated With Macrophages in Porcine Respiratory Disease Complex. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.726884>

Nišavić, J., Milić, N., Radalj, A., Krnjaić, D., Milićević, D., Knežević, A., Radojičić, M., Obrenović, S., Ćosić, M., Tešović, B., Benković, D., & Živulj, A. (2021). Genetic Analysis and Distribution of Porcine Parvoviruses Detected in the Organs of Wild Boars in Serbia. *Acta Veterinaria*, 71(1), 32–46. <https://doi.org/10.2478/acve-2021-0003>

Novosel, D., Cadar, D., Tuboly, T., Jungic, A., Stadejek, T., Ait-Ali, T., & Cságola, A. (2018). Investigating porcine parvoviruses genogroup 2 infection using in situ polymerase chain reaction. *BMC Veterinary Research*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1487-z>

Nurhayati, Wibawa, H., Mahawan, T., Zenal, F. C., Schoonman, L., Pfeiffer, C. N., Stevenson, M., & Punyapornwithaya, V. (2020). Herd-Level Risk Factors for Swine Influenza (H1N1) Seropositivity in West Java and Banten Provinces of Indonesia (2016–2017). *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.544279>

Opriessnig, T., & Halbur, P. G. (2012). Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 20–32). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.09.014>

Opriessnig, T., Karuppanan, A. K., Halbur, P. G., Calvert, J. G., Nitzel, G. P., Matzinger, S. R., & Meng, X. J. (2020). Porcine circovirus type 2a or 2b based experimental vaccines provide protection against PCV2d/porcine parvovirus 2 co-challenge. *Vaccine*, 38(8), 1975–1981. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.01.013>

Osorio-Zambrano, W., Ospina-Jimenez, A., Alvarez-Muñoz, S., Gomez, A., & Ramirez-Nieto, G. C. (2022). Zooming in on the molecular characteristics of swine influenza virus

circulating in Colombia before and after the H1N1pdm09 virus. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 01–12. <https://doi.org/doi:10.3389/fvets.2022.983304>

Ouyang, T., Zhang, X., Liu, X., & Ren, L. (2019). Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/v11020185>

Papatsiros, V. G., Papakonstantinou, G., Meletis, E., Tsekouras, N., Maragkakis, G., Bitchava, D., & Kostoulas, P. (2022). Occurrence and Associated Risk Factors of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and Porcine Circovirus Type 2 Infections in Greece. *Viral Immunology*, 35(3), 200–211. <https://doi.org/10.1089/VIM.2021.0124>

Pessoa, J., Montoro, J. C., Nunes, T. P., Norton, T., McAloon, C., Manzanilla, E. G., & Boyle, L. (2022). Environmental Risk Factors Influence the Frequency of Coughing and Sneezing Episodes in Finisher Pigs on a Farm Free of Respiratory Disease. *Animals*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/ani12080982>

Pileri, E., & Mateu, E. (2016). Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. In *Veterinary Research* (Vol. 47, Issue 1, pp. 1–13). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0391-4>

Pirollo, M., Espinosa-Gongora, C., Bogaert, D., & Guardabassi, L. (2021). The porcine respiratory microbiome: recent insights and future challenges. *Animal Microbiome*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00070-4>

Piñeyro, P. (2012). Infección por virus de influenza en el cerdo: estudios seroepidemiológicos, anatomopatológicos e inmunohistoquímicos y de biología molecular [Doctorado en Ciencias Veterinarias]. Universidad Nacional de La Plata.

Pleguezuelos, P., Sibila, M., Cuadrado-Matías, R., López-Jiménez, R., Pérez, D., Huerta, E., Pérez, M., Correa-Fiz, F., Mancera-Gracia, J. C., Taylor, L. P., Borowski, S., Saunders, G., Segalés, J., López-Soria, S., & Balasch, M. (2022). Efficacy Studies of a Trivalent Vaccine Containing PCV-2a, PCV-2b Genotypes and *Mycoplasma hyopneumoniae* When Administered at 3 Days of Age and 3 Weeks Later against Porcine Circovirus 2 (PCV-2) Infection. *Vaccines*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/vaccines10081234>

Ramírez, M., Bauermann, F. v., Navarro, D., Rojas, M., Manchego, A., Nelson, E. A., Diel, D. G., & Rivera, H. (2019). Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) 1-7-4-type strains in Peru. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(3), 1107–1113. <https://doi.org/10.1111/tbed.13134>

Ramirez-Nieto, G. C., Rojas, C. A. D., Alfonso, V. J. V., Correa, J. J., & Galvis, J. D. M. (2012). First isolation and identification of H1N1 swine influenza viruses in Colombian pig farms. *Health*, 04(10), 983–990. <https://doi.org/10.4236/health.2012.430150>

Rincón, M., Consuelo Ramirez-Nieto, G., Vera, V. J., Correa, J. J., & Mogollón-Galvis, J. (2014). Detection and molecular characterization of porcine circovirus type 2 from piglets with Porcine Circovirus Associated Diseases in Colombia. *Virology Journal*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-143>

Romagosa, A., Allerson, M., Gramer, M., Joo, H., Deen, J., Detmer, S., & Torremorell, M. (2011). Vaccination of influenza a virus decreases transmission rates in pigs. *Veterinary Research*, 42(1). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-120>

Saade, G., Deblanc, C., Bougon, J., Marois-Créhan, C., Fablet, C., Auray, G., Belloc, C., Leblanc-Maridor, M., Gagnon, C. A., Zhu, J., Gottschalk, M., Summerfield, A., Simon, G., Bertho, N., & Meurens, F. (2020). Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. *Veterinary Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00807-8>

Saekhow, P., & Ikeda, H. (2015). Prevalence and genomic characterization of porcine parvoviruses detected in Chiangmai area of Thailand in 2011. *Microbiology and Immunology*, 59(2), 82–88. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12218>

Saekhow, P., Mawatari, T., & Ikeda, H. (2014). Coexistence of multiple strains of porcine parvovirus 2 in pig farms. *Microbiology and Immunology*, 58(7), 382–387. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12159>

Salvesen, H. A., & Whitelaw, C. B. A. (2021). Current and prospective control strategies of influenza A virus in swine. In *Porcine Health Management* (Vol. 7, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40813-021-00196-0>

Saporiti, V., Huerta, E., Correa-Fiz, F., Grosse Liesner, B., Duran, O., Segalés, J., & Sibila, M. (2020). Detection and genotyping of Porcine circovirus 2 (PCV-2) and detection of

Porcine circovirus 3 (PCV-3) in sera from fattening pigs of different European countries. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(6), 2521–2531. <https://doi.org/10.1111/tbed.13596>

Schmidt, C., Cibulski, S. P., Andrade, C. P., Teixeira, T. F., Varela, A. P. M., Scheffer, C. M., Franco, A. C., de Almeida, L. L., & Roehe, P. M. (2016). Swine Influenza Virus and Association with the Porcine Respiratory Disease Complex in Pig Farms in Southern Brazil. *Zoonoses and Public Health*, 63(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/zph.12223>

Segalés, J. (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. In *Virus Research* (Vol. 164, Issues 1–2, pp. 10–19). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.007>

Stadejek, T., Larsen, L. E., Podgórska, K., Bøtner, A., Botti, S., Dolka, I., Fabisiak, M., Heegaard, P. M. H., Hjulsager, C. K., Huć, T., Kvisgaard, L. K., Sapieryński, R., & Nielsen, J. (2017). Pathogenicity of three genetically diverse strains of PRRSV Type 1 in specific pathogen free pigs. *Veterinary Microbiology*, 209, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.05.011>

Sun, Y., Zhang, J., Liu, Z., Zhang, Y., & Huang, K. (2021). Swine Influenza Virus Infection Decreases the Protective Immune Responses of Subunit Vaccine Against Porcine Circovirus Type 2. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.807458>

Temeeyasen, G., Lierman, S., Arruda, B. L., Main, R., Vannucci, F., Gimenez-Lirola, L. G., & Piñeyro, P. E. (2021). Pathogenicity and immune response against porcine circovirus type 3 infection in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *Journal of General Virology*, 102(1). <https://doi.org/10.1099/JGV.0.001502>

Ticó, G., Segalés, J., & Martínez, J. (2013). The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. *Veterinary Microbiology*, 163(3–4), 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.001>

Torremorell, M., Allerson, M., Corzo, C., Diaz, A., & Gramer, M. (2012). Transmission of Influenza A Virus in Pigs. In *Transboundary and Emerging Diseases* (Vol. 59, Issue SUPPL. 1, pp. 68–84). <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01300.x>

Turlewicz-Podbielska, H., Włodarek, J., & Pomorska-Mól, M. (2020). Noninvasive strategies for surveillance of swine viral diseases: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(4), 503–512. <https://doi.org/10.1177/1040638720936616>

Vangroenweghe, F. A. C. J., & Thas, O. (2021). Seasonal variation in prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* and other respiratory pathogens in peri-weaned, post-weaned, and fattening pigs with clinical signs of respiratory diseases in Belgian and Dutch pig herds, using a tracheobronchial swab sampling technique, and their associations with local weather conditions. *Pathogens*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/pathogens10091202>

Vargas-Bermudez, D. S., Campos, F. S., Bonil, L., Mogollon, D., & Jaime, J. (2019). First detection of porcine circovirus type 3 in Colombia and the complete genome sequence demonstrates the circulation of PCV3a1 and PCV3a2. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 5(2), 182–188. <https://doi.org/10.1002/vms3.155>

Vargas-Bermudez, D. S., Díaz, A., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2018). Longitudinal comparison of the humoral immune response and viral load of Porcine Circovirus Type 2 in pigs with different vaccination schemes under field conditions. *F1000Research*, 7, 42. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13160.1>

Vargas-Bermudez, D. S., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2022). The Prevalence and Genetic Diversity of PCV3 and PCV2 in Colombia and PCV4 Survey during 2015–2016 and 2018–2019. *Pathogens*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/pathogens11060633>

Vargas-Bermúdez, D. S., Vargas-Pinto, M. A., Mogollón, J. D., & Jaime, J. (2021). Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02862-5>

Vereecke, N., Woźniak, A., Pauwels, M., Coppens, S., Nauwynck, H., Cybulski, P., Theuns, S., & Stadejek, T. (2023). Successful Whole Genome Nanopore Sequencing of Swine Influenza A Virus (swIAV) Directly from Oral Fluids Collected in Polish Pig Herds. *Viruses*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/v15020435>

Vilalta, C., Sanhueza, J., Alvarez, J., Murray, D., Torremorell, M., Corzo, C., & Morrison, R. (2018). Use of processing fluids and serum samples to characterize porcine reproductive

and respiratory syndrome virus dynamics in 3 day-old pigs. *Veterinary Microbiology*, 225, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.09.006>

Wei, H., Lenz, S., Van Alstine, W., Stevenson, G., Langohr, I., & Pogranichniy, R. (2010). Infection of Cesarean-Derived Colostrum-Deprived Pigs with Porcine Circovirus Type 2 and Swine Influenza Virus. *Comparative Medicine*, 60(1), 45–50.

Woźniak, A., Miłek, D., Baška, P., & Stadejek, T. (2019). Does porcine circovirus type 3 (PCV3) interfere with porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccine efficacy? *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(4), 1454–1461. <https://doi.org/10.1111/tbed.13221>

Xiao, C. T., Harmon, K. M., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2016). PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the U.S. during 2014–2016. *Veterinary Microbiology*, 197, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.11>.

A. Anexos

Tabla anexa 1. Secuencias de los cebadores utilizados en los diferentes análisis de laboratorio.

Virus	Secuencia cebador	Fuente
CEBADORES DETECCIÓN		
PRRSV (qPCR)	PF: 5´- PR: 5´- Sonda:	
SIV-A (PF)	PF: 5´-CTTCTAACCGAGGTCGAAACG-3´ PR: 5´-AGGGCATTGACAAAG/TCGTCTA-3´	Schmid <i>et al.</i> , 2016 https://doi.org/10.1111/zph.12223
PCV2 (qPCR)	PF: 5´- PR: 5´- Sonda:	
PCV3 (qPCR)	PF: 5´-AACGGTGGGGTCATATGTGTTG-3´ PR: 5´-AGACGACCCTTATGCGGAAA-3´ Sonda: fam-CTCACCCAGGACAAAGCCTCTCTTT	

PPV2 (PF)	PF: 5'-AGCTCTGCGACAAGTGGG-3' PR: 5'-GTCTACGGCCTGCAAGAA-3'	
PPIV-1 (PF)	PF: 5'-GACTCATCTACTAACGGNTAYGARA-3' PR: 5'-CACAAACATCTTGCTACTWATDATNGT-3'	Denés et al., 2021. https://doi.org/10.1111/tbed.13869
CEBADORES DE SECUENCIACIÓN		
PRRSV	PF: 5'- PR: 5'-	
SIV-A	H1-PF: 5'-CCAAGGTGAGAGGTCAAGCAG-3' H1-PR: 5'-GCATTGTATGTCCAAATATCCA-3' H3-PF: 5'-TATGCCTGGTTTTCGCTCAA-3' H3-PR: 5'-TTCGGGATTACAGTTTGTTG-3' H5-PF: 5'-GTGACGAATTCATCAATGTRCCG-3' H5-PR: 5'-CTCTGGTTTAGTGTGATGTYCAA-3' N1-PF: 5'-GGTTCCAAAGGAGACATTTTTG-3' N1-PR: 5'-CTATCCAAACACCATTGCCATA-3' N2-PF: 5'-TGCGATCCTGACAAGTGTTATC-3' N2-PR: 5'-CAGACACATCTGACACCAGGAT-3'	
PCV2	PF: 5'-CTTTTTTATCACTTCGTAATGGTTT-3' PR: 5'-AAATTTCTGACAAACGTTAC-3'	
PCV3	S1/PF: 5'-CACCGTGTGAGTGGATATAC-3' S1/PR: 5'-CAAACCCACCCTTAACAG-3' S2/PF: 5'-GTCGTCTTGGAGCCAAGTG-3' S2/PR: 5'-CGACCAAATCCGGGTAAGC-3' S3/PF: 5'-TGTTGTACCGGAGGAGTG-3' S3/PR: 5'-TGCCGGTAATACTAGCC-3' S4/PF: 5'-GAAGTTGCGGAGAAGATG-3' S4/PR: 5'-TCCAAGTCGACCCTTATG-3'	Palinski et al., 2017.

PPV2	S3-PF: 5´- S3-PR: 5´- S4-PF: 5´- S4-PR: 5´- S5-PF: 5´- S5-PR: 5´-	Cebadores diseñados por la doctora Diana Vargas. Grupo CI3V.
-------------	--	--

Tabla anexa 2. Secuencias utilizadas para el análisis filogenético del PPV2.

ON210861.1 PPV2/COL/Valle/2021*	MK378220.1 PPV2/China-VIRES/2019
ON210860.1 PPV2/COL/Cundinamarca/2021	MK378219.1 PPV2/China-SX02/2019
ON210859.1 PPV2/COL/Cundinamarca/2020	MK378218.1 PPV2/China-SX01/2019
ON210858.1 PPV2/COL/Cundinamarca/2020	MK378217.1 PPV2/China-SH01/2019
ON210857.1 PPV2/COL/Antioquia/2021	MK378213.1 PPV2/China/SC02/2019
ON210856.1 PPV2/COL/Antioquia/2021	MK378208.1 PPV2/China/NM02/2019
ON210855.1 PPV2/COL/Antioquia/2021	MK378207.1 PPV2/China-NM01/2019
NC 025965.1 PPV2/Bazil/2011	MK378197.1 PPV2/China-HuN02/2019
MZ577030.1 PPV2/China/2020	MH921914.1 PPV2/Korea/2020
MZ491184.1 PPV2/Korea/2022	MH778962.1 PPV2/Korea/2018
MZ491183.1 PPV2/Korea/2022	MG345018.1 PPV2/China/2018
MW883399.1 PPV2/EE.UU/2020	MG345017.1 PPV2/China/2018
MW883398.1 PPV2/EE.UU/2020	MG345016.1 PPV2/China/2018
MW853949.1 PPV2/China/2018	MG345015.1 PPV2/China/2018
MW853948.1 PPV2/China/2018	MG345014.1 PPV2/China/2018
MW853947.1 PPV2/China/2018	MG345013.1 PPV2/China/2018
MW051675.1 PPV2/OK/USA	LT622855.1 PPV2/Italy/2016
MK649760.1 PPV2/UK/2019	KY586144.1 PPV2/Brazil/2017
MK649759.1 PPV2/UK-16/2019	KY018936.1 PPV2/Korea/2017
MK649758.1 PPV2/UK-33/2019	KY018935.1 PPV2/Korea/2017
MK649757.1 PPV2/UK-32/2019	KU745627.1 PPV2/China/2016
MK649756.1 PPV2/UK-31/2019	KP765690.1 PPV2/Hungary/2015
MK649755.1 PPV2/UK-30/2019	KF725662.1 PPPV2/EE.UU/2014

MK649754.1 PPV2/UK-29/2019	KF725661.1 PPV2/EE.UU/2014
MK649753.1 PPV2/UK-28/2019	KC767891.1 PPV2/Poland/2011
MK649752.1 PPV2/UK-27/2019	KC701314.1 PPV2/Poland/2013
KC701296.1 PPV2-7Hungary/2013	KC701313.1 PPV2/Serbia/2013
KC701295.1 PPV2/Poland/2013	KC701312.1 PPV2/Serbia/2013
KC701294.1 PPV2/Serbia/2013	KC701311.1 PPV2/Hungary/2013
KC701293.1 PPV2/Serbia/2013	KC701310.1 PPV2/Hungary/2013
KC701292.1 PPV2/Serbia/2013	KC701309.1 PPV2/Poland/2013
KC701291.1 PPV2/Croatia/2013	KC701308.1 PPV2/Croatia/2013
KC687100.1 PPV2/Croatia/2013	KC701307.1 PPV2/Croatia/2013
KC687099.1 PPV2/Croatia/2013	KC701306.1 PPV2/Serbia/2013
KC687098.1 PPV2/Croatia/2013	KC701305.1 PPV2/Serbia/2013
KC687097.1 PPV2/Poland/2013	KC701304.1 PPV2/Serbia/2013
JQ860248.1 PPV2/Romania/2012	KC701303.1 PPV2/Poland/2013
JQ860247.1 PPV2/Romania/2012	KC701302.1 PPV2/Poland/2013
JQ860246.1 PPV2/Romania/2012	KC701301.1 PPV2/Poland/2013
JQ860245.1 PPV2/Romania/2012	KC701300.1 PPV2/Hungary/2013
JQ860244.1 PPV2/Romania/2012	KC701299.1 PPV2/Poland/2013
JQ860243.1 PPV2/Romania/2012	KC701298.1 PPV2/Hungary/2013
JQ860242.1 PPV2/Romania/2012	KC701297.1 PPV2/Serbia/2013
JQ860241.1 PPV2/Romania/2012	JQ860240.1 PPV2/Romania/2012
JQ860239.1 PPV2/Romania/2012	JQ860238.1 PPV2/Romania/2012

*Los nombres fueron modificados para poder realizar la estructura del árbol. Ninguna modificación fue realizada a los números de acceso del GenBank

Tabla anexa 3. Tabla de la distribución de las copresencias por cada etapa en la G1.

Muestreo	Etapa	Tipo de muestra	Copresencia	Muestreo	Etapa	Tipo de muestra	Copresencia	Muestreo	Etapa	Tipo de muestra	Copresencia
Primer muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PCV2/PPV2/SIV-A PPV2/SIV-A	Segundo muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PCV3/SIV-A	Tercer muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PCV2/PCV3/SIV-A PCV3/SIV-A
		AGM1-2				AGM1-2					
		SPD 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A			SPD 1-2-3	SIV-A			SPD 1-2-3	PCV2/PCV3/SIV-A SIV-A PCV2/SIV-A
		FOPD 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A			FOPD 1-2-3				FOPD 1-2-3	PCV3/SIV-A
	PreCeba	SPC 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A		PreCeba	SPC 1-2-3	SIV-A		PreCeba	SPC 1-2-3	PCV3/SIV-A PPV2/SIV-A
		FOPC 1-2-3				FOPC 1-2-3				PCV2/PCV3/SIV-A	
		PC PJ	PPV2/SIV-A			PC PJ				SIV-A	
	Ceba	SC 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A		Ceba	SC 1-2-3	PPV2/SIV-A SIV-A		Ceba	SC 1-2-3	SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A
		FOC 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A			FOC 1-2-3	SIV-A			FOC 1-2-3	PCV2/SIV-A SIV-A PPV2/SIV-A
		CC				CC	SIV-A			CC	SIV-A
		CJ	PPV2/SIV-A			CJ				CJ	
	Finalización	SF 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A		Finalización	SF 1-2-3	PPV2/SIV-A		Finalización	SF 1-2-3	SIV-A PCV2/SIV-A
		FOF 1-2-3				FOF 1-2-3				PCV2/SIV-A PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A	
		FC FJ	PPV2/SIV-A			FC FJ				PPV2/SIV-A	

Tabla anexa 4. Tabla de la distribución de las copresencias por cada etapa en la G2.

Muestreo	Etapas	Tipo de muestra	Copresencia	Muestreo	Etapas	Tipo de muestra	Copresencia	Muestreo	Etapas	Tipo de muestra	Copresencia
Primer muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PRRSV/PCV3/SIV-A SIV-A	Segundo muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PRRSV/PCV2/SIV-A PRRSV/PCV3/SIV-A SIV-A	Tercer muestreo	Pre destete (<21 días)	APP1-2	PRRSV/PCV2/PPV2/SIV-A
		AGM1-2				AGM1-2				PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A	
		SPD 1-2-3	PRRSV/SIV-A SIV-A			SPD 1-2-3	PRRSV/PCV3/SIV-A PRRSV/SIV-A PCV2/PCV3/SIV-A			SPD 1-2-3	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A
		FOPD 1-2-3	PRRSV/PCV3/SIV-A PCV3/SIV-A			FOPD 1-2-3	PRRSV/PCV2/SIV-A SIV-A PCV2/SIV-A			FOPD 1-2-3	PRRSV/PCV2/PPV2/SIV-A PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A
	PreCeba	SPC 1-2-3	PRRSV/SIV-A SIV-A		PreCeba	SPC 1-2-3	PCV3/SIV-A PCV2/PCV3/SIV-A PRRSV/PCV2/PCV3/SIV-A		PreCeba	SPC 1-2-3	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A
		FOPC 1-2-3	PRRSV/PCV2/SIV-A PCV2/SIV-A SIV-A			FOPC 1-2-3	SIV-A PCV2/SIV-A PRRSV/SIV-A			FOPC 1-2-3	
		PC	SIV-A			PC	PCV2/SIV-A			PC	PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A
		PJ	PRRSV/SIV-A			PJ	PCV2/SIV-A			PJ	PPV2
	Ceba	SC 1-2-3	PRRSV/SIV-A SIV-A		Ceba	SC 1-2-3	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PRRSV/PPV2/SIV-A PRRSV/PCV2/PCV3/PPV2/ SIV-A		Ceba	SC 1-2-3	PPV2/SIV-A
		FOC 1-2-3	PRRSV/PCV3/SIV-A PCV3/SIV-A			FOC 1-2-3	PRRSV/PCV2/SIV-A PCV2/SIV-A			FOC 1-2-3	PRRSV/PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A
		CC	PCV3/SIV-A SIV-A			CC	PRRSV/PCV2/SIV-A			CC	PPV2
		CJ				CJ	PCV3/SIV-A			CJ	
	Finalización	SF 1-2-3	SIV-A		Finalización	SF 1-2-3	PPV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A		Finalización	SF 1-2-3	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A PPV2/SIV-A
		FOF 1-2-3	PRRSV/PPV2/SIV-A PCV3/PPV2/SIV-A			FOF 1-2-3	PRRSV/PCV2/SIV-A PCV2/SIV-A PCV2/PPV2/SIV-A			FOF 1-2-3	PCV2/PCV3/PPV2/SIV-A PRRSV/PCV2/PPV2/SIV-A
		FC	SIV-A			FC	SIV-A			FC	PPV2
		FJ				FJ	PCV3/SIV-A			FJ	

