

## DIARREIA EPIDÊMICA SUÍNA (PED), ENFERMIDADE EXÓTICA NO BRASIL MAS EMERGENTE NAS AMÉRICAS

Carlos Eduardo Real Pereira<sup>1</sup>

Talita Pilar Resende<sup>1</sup>

Fabio Augusto Vannucci<sup>2</sup>

Roberto Maurício Carvalho Guedes<sup>3</sup>

### RESUMO

Surto recentes da Diarreia Epidêmica Suína (PED, em inglês) têm sido descritos em diversos países, sobretudo na China e Estados Unidos, e tem provocado significativo impacto econômico à suinocultura mundial. Como a doença se disseminou também pela América do Sul, afetando Peru, Colômbia e Equador, o conhecimento sobre a enfermidade é de extrema relevância para manutenção do status livre da doença no Brasil. A PED é causada por vírus da família Coronaviridae, caracterizando-se por diarreia líquida profusa e vômitos, de intensidade variável, sendo mais graves em leitões neonatos. A RT-PCR tem sido a técnica de diagnóstico mais empregada, mas a sorologia e a imuno-histoquímica também podem ser utilizadas. A vacina comercial disponível nos Estados Unidos é considerada de alto custo e efetividade intermediária e, por isso, protocolos rígidos de biossegurança são fundamentais para dificultar a entrada do agente no rebanho. Estudos recentes têm se intensificado no sentido de elucidar a epidemiologia da doença, uma vez que a via de disseminação viral entre rebanhos ainda não se encontra totalmente estabelecida e o impacto econômico causado pela alta mortalidade, sobretudo de animais lactentes, compromete sensivelmente a produção de carne suína nos países afetados.

**Palavras-chave:** coronavirus suíno, diarreia neonatal, PEDv.

## PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA (PED), EXOTIC DISEASE IN BRAZIL BUT EMERGING IN THE AMERICAS

### ABSTRACT

Recent outbreaks of Porcine Epidemic Diarrhea (PED) has been described in several countries, mainly in China and the United States, and it has causing significant economic impact to the swine industry worldwide. As the virus spread also in South America, affecting Peru, Colombia and Ecuador, knowledge about the disease is extremely important to maintain the free status of the disease in Brazil. PED is caused by a virus from Coronaviridae family, and is characterized by profuse liquid diarrhea and vomit, varying in severity, being more severe in newborn piglets. The RT-PCR has been the most used diagnostic technique, but serology and immunohistochemistry can also be used. The commercial available vaccine is considered costly and with intermediate effectiveness, consequently complementary biosecurity rules are important to hinder the entry of the agent into the herd. Many studies have been conducted in order to elucidate the epidemiology of the disease, since the route of

<sup>1</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Correspondência: carlimreal@hotmail.com

<sup>2</sup> University of Minnesota, vannu008@umn.edu

<sup>3</sup> Docente da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. guedesufmg@gmail.com

viral spread among herds is not yet fully established and the economic impact due to high mortality, especially in young animals, significantly impairs the production of pork in affected countries.

**Key words:** neonatal diarrhea, PEDv, swine coronavirus.

## **DIARREA EPIDEMICA SUINA (PED), ENFERMEDAD EXOTICA EN BRASIL, PERO EMERGENTE EL LAS AMÉRICAS.**

### **RESUMEN**

Brotos recientes de la Diarrea Epidémica Suína (PED, en inglés) han sido descritos en diversos países, sobre todo en China y Estados Unidos, y ha provocado un significativo impacto económico a la suinocultura mundial. Como la enfermedad también se diseminó en América del Sur, afectando a Perú, Colombia y Ecuador, el conocimiento sobre la enfermedad es de extrema relevancia para el mantenimiento del estatus libre de la enfermedad en el Brasil. La PED es causada por el virus de la familia *Coronaviridae*, caracterizándose por diarrea líquida profusa y vómito, de intensidad variable, siendo más grave en lechones neonatos. La RT-PCR ha sido la técnica de diagnóstico más utilizada, pero la serología e inmunohistoquímica también pueden ser utilizadas. La vacuna comercial disponible en los Estados Unidos es considerada de alto costo y efectividad intermedia, por eso, protocolos rígidos de bioseguridad son fundamentales para dificultar la entrada del agente en el rebaño. Estudios recientes se han intensificado en el sentido de dilucidar la epidemiología de la enfermedad, una vez que la vía de diseminación viral entre rebaños aún no se encuentra completamente establecida y el impacto económico causado por la alta mortalidad, sobre todo de animales lactantes, compromete sensiblemente la producción de carne suína en los países afectados.

**Palabras-clave:** coronavirus suíno, diarrea neonatal, PEDv.

### **INTRODUÇÃO**

A diarreia epidêmica suína (PED, do inglês, *Porcine Epidemic Diarrhea*) é uma enfermidade de alta morbidade e mortalidade com quadro clínico agudo caracterizado por vômito, anorexia e diarreia líquida em suínos de todas as idades (1-3). Surtos recentes nos EUA, iniciados em abril de 2013, apontaram mortalidade aproximada de 90% em leitões lactentes de até dez dias de idade (4), acarretando grandes prejuízos econômicos à produção suinícola norte americana (5). O agravamento da enfermidade na Ásia, particularmente na China (6,7), e a disseminação da doença para países da América do Sul, como Perú, Colômbia e Equador, tem demonstrado a relevância do problema e o risco eminente de contaminação de rebanhos brasileiros.

Desta forma, o objetivo desta revisão é abordar aspectos atuais sobre epidemiologia, patologia, diagnóstico e controle da PED.

#### **Epidemiologia**

A PED foi primeiramente reproduzida em 1978 por Pensaert e Debouck (2), com isolado viral obtido a partir de leitões jovens envolvidos em surtos na Bélgica, então

identificado como um vírus envelopado pertencente à família Coronaviridae, gênero alphacoronavírus. Pertencem também a esta família dois outros vírus patogênicos para suínos; o vírus da gastroenterite transmissível (TGEv) e o coronavírus respiratório suíno (PRCv), ambos do mesmo gênero alphacoronavirus. Uma quarta espécie de coronavírus patogênica para suínos, o vírus da encefalomielite hemaglutinante (HEv), pertencente a um diferente grupo, os betacoronavírus (8). Tanto TGEv quanto HEv já foram diagnosticados na Argentina (9), mas ainda não foram relatados no Brasil. Recentemente um novo gênero de coronavírus suíno foi relatado na China (10), Coreia do Sul (11) e EUA (12), e classificado como deltacoronavirus. Assim como o vírus da PED e o TGE, a infecção por este vírus está relacionada com diarreia em animais jovens e adultos, entretanto, quando comparado aos alphacoronavirus, os quadros clínicos são mais brandos, com menor índice de mortalidade.

O genoma do PEDv é composto por fita simples de RNA, característica que confere maior possibilidade de ocorrência natural de mutações (13). Algumas proteínas virais assumem papel fundamental na patogênese. A proteína *S* (do inglês *spike*) atua no processo de fusão entre o vírus e a célula do hospedeiro, além de ser imunogênica. A proteína *M* (membrana) exerce uma função estrutural da partícula viral e é alvo de anticorpos neutralizantes do hospedeiro (14). Pesquisas mais recente têm atribuído grande importância às proteínas ORF3, *N* (nucleoproteína) e *E* (envelope) na virulência desse agente (14,15). As inter-relações e as funções das proteínas do vírus da PED são ainda pouco conhecidas (16).

O primeiro surto de PED que se tem relato ocorreu na Inglaterra em 1971, com sinais clínicos semelhantes à infecção pelo vírus da TGE, caracterizado por diarreia, vômitos e inapetência. Entretanto, deve ser registrado que os animais acometidos eram preferencialmente das fases de creche, recria e animais adultos, não acometendo neonatos (1,2).

Surtos semelhantes se sucederam em diversos países da Europa, até que, em 1977, na Bélgica, houve relato de surto com sinais clínicos semelhantes, embora mais graves e, acometendo animais de todas as faixas etárias, com taxa de mortalidade em torno de 50% dos animais jovens. Perante a ocorrência de resultados negativos para TGEv em sorologia e imunofluorescência indireta de animais acometidos, recorreu-se a microscopia eletrônica para investigação da etiologia. Por meio desta técnica, concluíram tratar-se de um coronavírus (2), sendo proposta a denominação “Diarreia Epidêmica Suína” à entidade nosológica (1).

Além da Europa, granjas asiáticas também foram acometidas no final dos anos 80 e início dos anos 90 (13). Surtos graves recentes ocorreram principalmente na China (6,7,17), Tailândia (18) e Coreia do Sul (19). Países das Américas também foram infectados nos últimos anos, com surtos que se iniciaram nos Estados Unidos em abril de 2013 (4) e países vizinhos como México (20) e Canadá (21), e vem se propagando em “efeito cascata” para países da América Central, como República Dominicana (22), e da América do Sul, Colômbia (23) e Peru (23) (figura 1). A doença ainda não foi diagnosticada no Brasil e o Ministério da Agricultura tem adotado medidas para evitar a entrada da doença no país (24). A entrada do PED vírus no Brasil poderia resultar em rápida disseminação entre rebanhos e elevadas perdas econômicas uma vez que o vírus permanece viável por período longo em condições ambientais amenas, particularmente no inverno. Além disso, vulnerabilidade em aspectos de biossegurança continua sendo um fator limitante em algumas regiões pólo da produção de suínos, principalmente com relação ao trânsito de pessoas e animais (vazio sanitário de visitantes, uso de mesmo veículo para transporte de animais de diferentes propriedades, por exemplo), o que poderia facilitar a disseminação do agente.

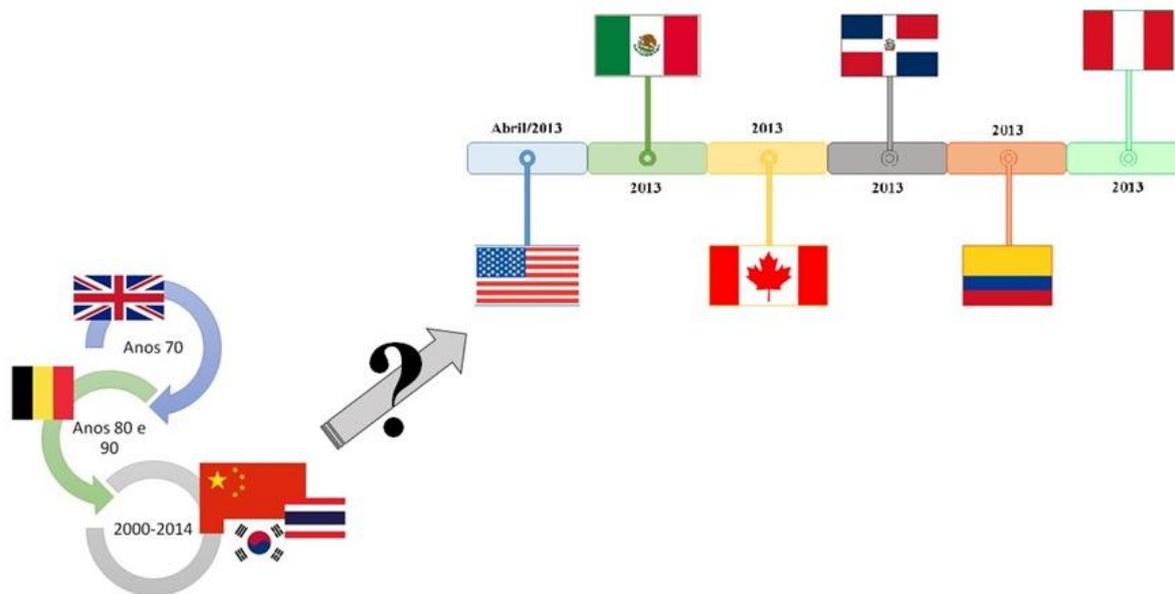


Figura 1. Linha do tempo da disseminação do PEDv desde o primeiro surto de diarreia e sua identificação como agente etiológico em 1977, na Inglaterra. Em seguida foi carregada até a Bélgica (anos 80 e 90), Posteriormente para países asiáticos, que é a provável fonte para disseminação do vírus nos países das Américas. Inicialmente nos Estados Unidos (Abril de 2013), a partir daí, ainda em 2013, houve o relato de surtos nos países vizinhos e em países da América do Sul (México, Canadá, República Dominicana, Colômbia e Peru).

Os primeiros casos de PED nos Estados Unidos ocorreram em quatro granjas distantes centenas de quilômetros umas das outras, sem nenhuma relação de funcionários, ração, caminhões, genética dos animais ou veterinários e em um período de poucos dias. Além disso, manejo, higiene e biossegurança eram considerados excelentes pelos veterinários responsáveis por estes rebanhos (4). Apesar da origem da contaminação permanecer indeterminada, duas cepas virais circulantes na América do Norte apresentaram 99,5% e 99,6% de homologia com a cepa chinesa de PEDv, denominada AH2012, sugerindo fortemente ter sido esta a origem do vírus. Análise genética revelou, entretanto, que houve mudança genômica nas cepas americanas que pode ter proporcionado aumento da patogenicidade do vírus norte americano (25).

Além disso, há especulações em torno de uma possível introdução do vírus nos EUA a partir de plasma suíno desidratado, utilizado para nutrição de suínos, proveniente da China. Entretanto, não foi possível reproduzir experimentalmente a doença clínica em animais susceptíveis, utilizando deste material suspeito (26). Nesse mesmo estudo, foi demonstrado que as condições de processamento desse tipo de produto seriam eficazes para a inativação viral.

A transmissão viral ocorre por rota oro-fecal. As manifestações clínicas ocorrem normalmente entre quatro a cinco dias após a entrada de animais infectados em rebanhos livres (2,4). Animais infectados eliminam o vírus nas fezes por sete a nove dias, entretanto, pesquisas recentes têm demonstrado eliminação viral por períodos de até 42 dias após infecção experimental (27). A dose infectante do vírus utilizada em inoculações experimentais é variável: de 6,8 a 9,0 log<sub>10</sub> GE (*genomic equivalents*) (3) ou 3,96 a 7,57 log<sub>10</sub> GE (28). A quantidade de partículas virais eliminadas nas fezes de animais infectados chega a 10,9 log<sub>10</sub> GE (3). Tem sido reportada a presença de vírus viável em fezes de suínos por 14 a 28 dias, 28 dias em ração úmida e menos de duas semanas em ração seca, todos a temperatura ambiente.

A dose infectante mínima ainda não foi definida, mas estudos preliminares têm demonstrado infecciosidade por testes de bioensaio mesmo utilizando amostras diluídas ao ponto de negatividade à qRT-PCR (diluições ao redor de  $10^{-8}$ ) (Prof. Sagar Goyal, University of Minnesota, informação pessoal, 2014).

Outras formas que permitem a disseminação do agente por longas distâncias são caminhões e quaisquer outros fômites mal higienizados. Segundo Lowe et al. (29), veículos de transporte utilizados por mais de uma propriedade podem ser fontes de disseminação do vírus, de modo que o controle desse fômite deve ser considerado como ferramenta para limitar a contaminação de rebanhos livres após a detecção do agente em um determinado país. Pesquisa recente (28) indicou que partículas virais oriundas de rebanhos naturalmente infectados e com animais clinicamente doentes, mantêm-se viáveis quando transportadas por correntes de ar, podendo ser esta, outra via de disseminação do vírus entre granjas geograficamente próximas.

A rápida disseminação viral fez com que países tomassem medidas rígidas de biossegurança para evitar a entrada do vírus (países livres) ou diminuir sua disseminação e impacto (países positivos). Por conseguinte, diminuição de novos casos tem sido observada, particularmente nos Estados Unidos (30). Entretanto, como a dificuldade de controle eficaz para o PEDv limita as estratégias de erradicação, a PED continua a ser uma doença presente e relevante na indústria suinícola internacional, sendo necessário continua fiscalização e atenção com a doença.

## Patologia

O único hospedeiro susceptível ao PEDv são os suínos. Estudos experimentais em leitões neonatos revelam que os primeiros sinais clínicos ocorrem com aproximadamente um dia após inoculação (31), todavia, a campo, os primeiros sinais são observados em poucos dias (4). O vírus replica no citoplasma das células epiteliais das vilosidades do intestino delgado, provocando degeneração e necrose do revestimento intestinal e induz à apoptose. Em consequência, há redução da altura das vilosidades (32) e lesões das microvilosidades, confirmadas por meio de estudos ultraestruturais (33), diminuindo, por conseguinte, a capacidade absorptiva do hospedeiro. Algumas porções do intestino grosso também podem ser acometidas, com poucas consequências clínicas e patológicas. O vômito frequente e a diarreia profusa líquida induzem desidratação e desequilíbrio hidroeletrólítico acentuados (13).

Como já mencionado, o vírus causa quadros agudos de vômito, anorexia e diarreia líquida em suínos de todas as idades, e elevada mortalidade de leitões até 10 dias de idade (2). A intensidade dos sinais clínicos irá variar de acordo com a cepa infectante, a idade dos animais e o status imunológico do rebanho (14,34). Quanto mais velhos os animais, menos intensos são os sinais clínicos. A taxa de mortalidade frequentemente situa-se entre 30 e 50%, mas chega a 100% em rebanhos primo infectados (6,35,36). Leitões neonatos morrem dois a três dias após início da diarreia, devido a intensa desidratação (4). Leitões desmamados geralmente não morrem, mas apresentam impacto no ganho de peso. Em condições experimentais, leitões de quatro semanas de idade inoculados com PEDv não ganham peso por 7 a 10 dias após infecção (1). A diminuição do ganho de peso esperado pode persistir por um período de 35 dias. Consequentemente, sistemas *wean-to-finish* podem apresentar atraso de uma a duas semanas na idade de abate. Matrizes afetadas podem apresentar agalaxia (13). A temperatura retal permanece inalterada durante a doença.

Não há distinção entre as lesões causadas por TGEv ou PEDv. Em ambas, macroscopicamente, ocorre o adelgaçamento da parede do intestino delgado e presença de conteúdo líquido e amarelado em sua luz. Leite coagulado pode ser observado no lúmen gástrico (4) (figura 2A). Microscopicamente são identificadas degeneração e necrose das

células do epitélio intestinal, bem como seu achatamento, devido à tentativa de reparo da superfície das vilosidades. Atrofia das vilosidades (figura 2B) e presença de células sinciciais com vários núcleos também são observadas (4,31). A ocorrência de sinais clínicos inespecíficos, e pelo fato das lesões serem indistinguíveis da TGE, fazem-se necessários exames complementares para a precisa identificação do agente (37).

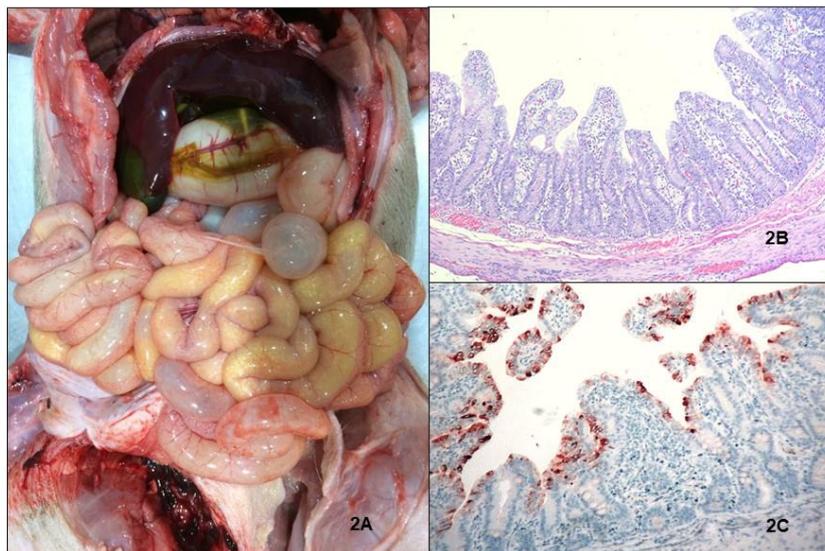


Figura 2. Suíno de maternidade. Infecção pelo vírus da PED. 1A: Macroscopia apresentando dilatação com adelgaçamento da parede do intestino delgado e presença de conteúdo fluído no lúmen intestinal (Imagem cedida gentilmente pelo Dr. Fabio A. Vannucci, Assistant Professor da University of Minnesota). 1B: Microscopia, atrofia severa e difusa das vilosidades intestinais (HE, 100X). 1C: Imunohistoquímica, Imunomarcção positiva, principalmente nos enterócitos apicais das vilosidades (AEC, 100X).

### Diagnóstico

Muitas técnicas têm sido utilizadas para detecção direta ou indireta do vírus, incluindo técnicas imunológicas, moleculares, ultraestruturais e sorológicas (14). Para o diagnóstico direto, técnicas moleculares como a RT-PCR têm boa sensibilidade e não necessitam do óbito do animal, visto que podem ser utilizadas amostras de fezes. Kim e Chae (31) assinalam por meio de estudo comparativo entre técnicas diretas de diagnóstico do PEDv que os testes moleculares (RT-PCR) são mais sensíveis e capazes de detectar o agente por maior período de tempo, quando comparados a imunohistoquímica (figura 2C) e a hibridização *in situ*. Esse fato deve ser atribuído a esfoliação precoce do epitélio intestinal e ao curso agudo da doença, acarretando em resultados falso-negativos (38). Desta forma, é muito importante a seleção de leitões em fase inicial da doença para coleta e envio de amostras para diagnóstico. Alternativamente, foi padronizada a técnica de PCR em tempo real para quantificação da carga viral nas amostras, sendo consideradas positivas as aquelas com o Ct<35 (39).

Além das técnicas já citadas, outras alternativas são a utilização de ELISA de captura para detecção de antígenos virais em amostras de fezes (40) e a imunofluorescência direta, apesar desta última possuir sensibilidade inferior à RT-PCR. Isolamento viral não é utilizado

rotineiramente para diagnóstico, devido ao cultivo fastidioso do agente (6). A taxa de sucesso no isolamento viral tem sido de 5 a 10% das tentativas realizadas (41).

Atualmente, encontram-se disponíveis ensaios indiretos visando à detecção de anticorpos, dentre eles a imunofluorescência indireta, ELISA e ELISA de bloqueio (42). A soroconversão se dá em aproximadamente duas semanas após a infecção, com os anticorpos podendo persistir na circulação por até um ano (14), tornando aplicáveis as técnicas sorológicas. Entretanto, a duração da imunidade humoral ainda é controversa. Os testes moleculares e imunológicos estão disponíveis comercialmente e sua disponibilidade nos laboratórios brasileiros necessita apenas da padronização das técnicas.

## Controle

Práticas de manejo e de biossegurança são as melhores formas de prevenir a entrada do vírus no rebanho. Vale salientar que impedir a entrada de agentes virais em sistemas de produção é muito mais desafiador do que agentes bacterianos, requerendo condições muito mais restritivas.

Apesar da rota de entrada do vírus nos EUA ainda permanecer desconhecida, a disseminação dentro e entre rebanhos norte americanos parece estar relacionada à contaminação de caminhões utilizados para transporte dos animais (29). Considerando esta hipótese, Thomas et al. (43) avaliaram métodos de inativação viral em superfícies metálicas (similar à superfície dos caminhões) e concluíram que o vírus é inativado a 71° C por 10 minutos ou a 20° por sete dias, condições estas distantes da realidade de limpeza e desinfecção de caminhões no Brasil.

O tratamento com antimicrobianos não tem qualquer efeito sobre o vírus, sendo utilizado para combater infecções secundárias que possam acometer o animal debilitado pela PED. A diarreia aguda leva a desidratação, portanto fornecer água *ad libitum* se faz necessário para a recuperação dos animais acometidos. Outra possibilidade é o tratamento com fator de crescimento epidérmico que estimula a proliferação das células do revestimento intestinal, possibilitando a recuperação tecidual e aumento da capacidade absorptiva do intestino dos animais acometidos (44). Esta alternativa, porém, tem custo elevado.

Com a disseminação da infecção, matrizes gestantes desenvolvem imunidade e fornecem a proteção via colostro que irá durar de acordo com os títulos dos anticorpos maternos. Sendo a IgA a principal responsável pela proteção passiva do leitão lactente, por sua capacidade de neutralização do vírus e por ser mais resistente do que outras imunoglobulinas à ação de enzimas proteolíticas do trato gastro intestinal (45).

A utilização de vacina ainda é motivo de questionamento. Há grande diferença genômica entre as cepas atenuadas utilizadas, o que resulta em grande diferença na eficácia nas diferentes vacinas. De uma forma geral, é realizada a atenuação das estirpes virais por sucessivas passagens *in vitro* (na ordem de 100 passagens) e são fornecidas por via oral às porcas gestantes (46). A excreção viral permanece, na maioria das vezes, inalterada ou com discreta diminuição, e os sinais clínicos e lesões são mais discretos, melhorando os índices zootécnicos. Entretanto, a eficácia está diretamente relacionada à concentração de vírus na dose inoculada, bem como à resposta imunológica da porca ao imunógeno (47). Apesar de utilizarem cepas atenuadas, estes autores verificaram a produção de anticorpos em títulos protetores associado à ausência de diarreia, o que pode ser suficiente para a eficácia da vacina.

Mesmo com vacinas eficazes comercialmente disponíveis, medidas de biossegurança devem ser tomadas para evitar que ocorram rearranjos genéticos entre cepas vacinais e selvagens, que podem gerar cepas ainda mais patogênicas, como demonstrado por Chen et al (48). Collin e colaboradores (49) produziram uma nova formulação vacinal a partir da inativação de cepa de campo norte americana, capaz de induzir a produção de altos títulos de

anticorpos em animais vacinados e experimentalmente inoculados. A utilização de vacinas inativadas mostra-se promissora, uma vez que impossibilita a reversão da patogenicidade do isolado e impede a mutação viral e formação de novas cepas patogênicas. Mais estudos devem ser realizados para comprovar a eficácia deste tipo de vacina a campo.

Outra técnica de controle, também utilizada em granjas infectadas pelo vírus da TGE, é a contaminação assistida das porcas em gestação pelo vírus, para que possam desenvolver imunidade, e assim, anticorpos maternos possam ser passados à leitegada pelo colostro e leite (13). Estabilização do rebanho e programas de erradicação da doença tem utilizado este protocolo, além do fechamento do rebanho e não introdução de material genético em um período de quatro a seis meses. A ideia geral é a indução de uma imunidade sólida no rebanho de reprodução associado a medidas de higiene e limpeza para minimizar a carga infectante em animais de produção, particularmente os mais jovens. Entretanto, efeitos adversos podem ocorrer com esse tratamento devido a heterogeneidade do estímulo imunogênico e, por conseguinte, diferença dos títulos de anticorpos lactogênicos entre as matrizes. Além disso, pode haver a disseminação de outros agentes, principalmente virais, nas granjas (14).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A PED é uma enfermidade que acarreta grande impacto econômico para o produtor e até mesmo para o país, que se traduz pela diminuição da oferta de carne suína e, conseqüente elevação do preço do quilo para o mercado consumidor. A falta de um completo entendimento das vias de contaminação utilizada pelo vírus somada às fragilidades do sistema de vigilância e biossegurança das granjas suínícolas brasileiras torna nossos sistemas de produção altamente susceptíveis aos impactos da doença. É necessário e desejável que todo o conhecimento a respeito dessa importante enfermidade seja compilado e compartilhado no sentido de aumentar o conhecimento sobre os protocolos de controle e erradicação, bem como os mecanismos de proteção de nossos rebanhos, perante o risco da entrada do PEDv em território brasileiro.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro. RMCG é bolsista de pesquisa da CNPq.

## REFERÊNCIAS

1. Chasey D, Cartwright SF. Virus-like particles associated with porcine epidemic diarrhoea. *Res Vet Sci.* 1978;25(2):255-6.
2. Pensaert MB, De Bouck P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Arch Virol.* 1978;58(3):243-7.
3. Jung K, Wang Q, Scheuer KA, Lu Z, Zhang Y, Saif LJ. Pathology of US porcine epidemic diarrhoea virus strain PC21A in gnotobiotic pigs. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(4):662.
4. Stevenson GW, Hoang H, Schwartz KJ, Burrough ER, Sun D, Madson D, et al. Emergence of porcine epidemic diarrhoea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *J Vet Diagn Invest.* 2013;25(5):649-54.

5. Paarlberg PL. Updated estimated economic welfare impacts of porcine epidemic diarrhea virus (PEDv). Street West Lafayette: Department of Agricultural Economics, Purdue University, 2014.
6. Pan Y, Tian X, Li W, Zhou Q, Wang D, Bi Y, et al. Isolation and characterization of a variant porcine epidemic diarrhea virus in China. *Virology*. 2012;9(1):195.
7. Yang DQ, Ge FF, Ju HB, Wang J, Liu J, Ning K, et al. Whole-genome analysis of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) from eastern China. *Arch Virol*. 2014;159(10):2777-85.
8. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, editors. Virus taxonomy [Internet]. Amsterdam: Elsevier; 2012 [cited 2015 Jun 21]. (Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses). Available from: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2012>
9. Quiroga MA, Cappuccio J, Piñeyro P, Basso W, Moré G, Kienast M, et al. Hemagglutinating encephalomyelitis coronavirus infection in pigs, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(3):484-6.
10. Woo PC, Lau SK, Lam CS, Lau CC, Tsang AK, Lau JH, et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J Virol*. 2012;86(7):3995-4008.
11. Lee S, Lee C. Complete genome characterization of Korean Porcine Deltacoronavirus Strain KOR/KNU14-04/2014. *Genome Announc*. 2014;2(6):e01191-14.
12. Wang L, Byrum B, Zhang Y. Detection and genetic characterization of deltacoronavirus in pigs, Ohio, USA, 2014. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(7):1227-30.
13. Saif LJ, Pensaert MB, Sestak K, Yeo S-G, Jung K. Coronaviruses. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW. Diseases of swine. 10th ed. Ames: Wiley-Blackwell; 2012. cap.35, p.501-524.
14. Song D, Park B. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes*. 2012;44(2):167-75.
15. Xu X, Zhang H, Zhang Q, Huang Y, Dong J, Liang Y, et al. Porcine epidemic diarrhea virus N protein prolongs S-phase cell cycle, induces endoplasmic reticulum stress, and up-regulates interleukin-8 expression. *Vet Microbiol*. 2013;164(3-4):212-21.
16. Meng F, Suo S, Zarlenga DS, Cong Y, Ma X, Zhao Q, et al. A phage-displayed peptide recognizing porcine aminopeptidase N is a potent small molecule inhibitor of PEDV entry. *Virology*. 2014;456-457:20-7.
17. Ge FF, Yang DQ, Ju HB, Wang J, Liu J, Liu PH, et al. Epidemiological survey of porcine epidemic diarrhea virus in swine farms in Shanghai, China. *Arch Virol*. 2013;158(11):2227-31.

18. Puranaveja S, Poolperm P, Lertwatcharasarakul P, Kesdaengsakonwut S, Boonsoongnern A, Urairong K, et al. Chinese-like strain of porcine epidemic diarrhea virus, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(7):1112-5.
19. Choi JC, Lee KK, Pi JH, Park SY, Song CS, Choi IS, et al. Comparative genome analysis and molecular epidemiology of the reemerging porcine epidemic diarrhea virus strains isolated in Korea. *Infect Genet Evol*. 2014;26:348-51.
20. World Organisation for Animal Health - OIE. Porcine epidemic diarrhea vírus, Mexico [Internet]. Paris: OIE; 2013 [cited 2015 May 15]. Available from: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=15288](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15288)
21. World Organisation for Animal Health - OIE. Porcine epidemic diarrhea, Canada [Internet]. Paris: OIE; 2014 [cited 2015 May 15]. Available from: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=15161](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15161)
22. World Organisation for Animal Health - OIE. Porcine epidemic diarrhea, Dominican Republic [Internet]. Paris: OIE; 2014 [cited 2015 May 15]. Available from: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=15422](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15422)
23. World Organisation for Animal Health - OIE. Porcine epidemic diarrhea, Colombia [Internet]. Paris: OIE; 2014 [cited 2015 May 15]. Available from: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=15389](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15389)
24. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Geller explica ações para evitar doença de suínos no Brasil [Internet]. Brasília: MAPA; 2014 [cited 2015 May 15]. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/noticias/2014/04/geller-explica-acoes-para-evitar-doenca-de-suinos-no-brasil>
25. Huang YW, Dickerman AW, Piñeyro P, Li L, Fang L, Kiehne R, et al. Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *MBio*. 2013;4(5):e00737-13.
26. Opriessnig T, Xiao CT, Gerber PF, Zhang J, Halbur PG. Porcine epidemic diarrhea virus RNA present in commercial spray-dried porcine plasma is not infectious to naive pigs. *PloS One*. 2014;9(8):e104766.
27. Crawford K, Lager K, Miller L, Opriessnig T, Gerber P, Hesse R. Evaluation of porcine epidemic diarrhea virus transmission and the immune response in growing pigs. *Vet Res*. 2015;46(1):49.
28. Alonso C, Goede DP, Morrison RB, Davies PR, Rovira A, Marthaler DG, et al. Evidence of infectivity of airborne porcine epidemic diarrhea virus and detection of airborne viral RNA at long distances from infected herds. *Vet Res*. 2014;45(1):73.

29. Lowe J, Gauger P, Harmon K, Zhang J, Connor J, Yeske P, et al. Role of transportation in spread of porcine epidemic diarrhea virus infection, United States. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(5):872-4.
30. United States Department of Agriculture - USDA [Internet]. Washington: USDA; 2014 [cited 2015 Jun 21]. Available from: <https://www.usda.gov/>
31. Kim O, Chae C. Experimental infection of piglets with a Korean Strain of Porcine Epidemic Diarrhoea Virus. *J Comp Pathol.* 2003;129(1):55-60.
32. Kim SY, Lee C. Porcine epidemic diarrhea virus induces caspase-independent apoptosis through activation of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Virology.* 2014;460-461:180-93.
33. Ducatelle R, Coussement W, Debouck P, Hoorens J. Pathology of experimental CV777 coronavirus enteritis in piglets. II. Electron microscopic study. *Vet Pathol.* 1982;19(1):57-66.
34. Sueyoshi M, Tsuda T, Yamazaki K, Yoshida K, Nakazawa M, Sato K, et al. An immunohistochemical investigation of porcine epidemic diarrhoea. *J Comp Pathol.* 1995;113(1):59-67.
35. Bi J, Zeng S, Xiao S, Chen H, Fang L. Complete genome sequence of porcine epidemic diarrhea virus strain AJ1102 isolated from a suckling piglet with acute diarrhea in China. *J Virol.* 2012;86(19):10910-1.
36. Li W, Li H, Liu Y, Pan Y, Deng F, Song Y, et al. New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(8):1350.
37. Pijpers A, Terpstra C, Verheijden JH. Porcine epidemic diarrhoea virus as a cause of persistent diarrhoea in a herd of breeding and finishing pigs. *Vet Rec.* 1993;132(6):129-31.
38. Kim O, Chae C, Kweon CH. Monoclonal antibody-based immunohistochemical detection of porcine epidemic diarrhea virus antigen in formalin-fixed, paraffin-embedded intestinal tissues. *J Vet Diagn Invest.* 1999;11(5):458-62.
39. Kim SH, Kim IJ, Pyo HM, Tark DS, Song JY, Hyun BH. Multiplex real-time RT-PCR for the simultaneous detection and quantification of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus. *J Virol Methods.* 2007;146(1-2):172-7.
40. Wang Y, Gao X, Yao Y, Zhang Y, Lv C, Sun Z, et al. The dynamics of Chinese variant porcine epidemic diarrhea virus production in Vero cells and intestines of 2-day old piglets. *Virus Res.* 2015;208:82-8.
41. Yoon KD. The emergence of porcine epidemic diarrhea in US swine: surprises on the road to prevention and control. In: *Proceedings of the 23rd Congress International Pig Veterinary Society (IPVS); 2014; Cancun, Mexico. Cancun: IPVS; 2014. v.1, p.64-6.*

42. Carvajal A, Lanza I, Diego R, Rubio P, Cámenes P. Evaluation of a blocking ELISA using monoclonal antibodies for the detection of porcine epidemic diarrhea virus and its antibodies. *J Vet Diagn Invest.* 1995;7(1):60-4.
43. Thomas PR, Karriker LA, Ramirez A, Zhang J, Ellingson JS, Crawford KK, et al. Evaluation of time and temperature sufficient to inactivate porcine epidemic diarrhea virus in swine feces on metal surfaces. *J Swine Health Prod.* 2015;23(2):84.
44. Jung K, Kang BK, Kim JY, Shin KS, Lee CS, Song DS. Effects of epidermal growth factor on atrophic enteritis in piglets induced by experimental porcine epidemic diarrhoea virus. *Vet J.* 2008;177(2):231-5.
45. Offit PA, Clark J. Protection against rotavirus-induced gastroenteritis in a murine model by passively acquired gastrointestinal but not circulating antibodies. *J Virol.* 1985;54:58-64.
46. Song DS, Oh JS, Kang BK, Yang JS, Moon HJ, Yoo HS, et al. Oral efficacy of Vero cell attenuated porcine epidemic diarrhea virus DR13 strain. *Res Vet Sci.* 2007;82(1):134-40.
47. De Arriba ML, Carvajal A, Pozo J, Rubio P. Mucosal and systemic isotype-specific antibody responses and protection in conventional pigs exposed to virulent or attenuated porcine epidemic diarrhoea virus. *Vet Immunol Immunopathol.* 2002;85(1-2):85-97.
48. Chen J, Wang C, Shi H, Qiu H, Liu S, Chen X, et al. Molecular epidemiology of porcine epidemic diarrhea virus in China. *Arch Virol.* 2010;155(9):1471-6.
49. Collin EA, Anbalagan S, Okda F, Batman R, Nelson E, Hause BM. An inactivated vaccine made from a US field isolate of porcine epidemic disease virus is immunogenic in pigs as demonstrated by a dose-titration. *BMC Vet Res.* 2015;11(1):62.

**Recebido em: 22/04/2020**

**Aceito em: 20/12/2020**